

AVANCES EN LA REPRODUCCIÓN Y MANTENIMIENTO DE PECES MARINOS ORNAMENTALES

Gloria Helena Ospina-Salazar
Marisol Santos-Acevedo
Johann López-Navarro
Diana Isabel Gómez-López
Javier E. Álvarez-Barrera
Javier Gómez-León



Santa Marta, mayo de 2011



Cerro Punta Betín, Santa Marta
D.T.C.H. PBX: (57) (5) 4328600
Fax: 4328694
www.invemar.org.co

Director General
Francisco Armando Arias Isaza

Subdirector
Coordinación de Investigaciones
Jesús Antonio Garay Tinoco

Subdirector
Recursos y Apoyo a la Investigación
Carlos Augusto Pinilla González

Coordinador Programa
Biodiversidad y Ecosistemas Marinos
David Alejandro Alonso Carvajal

Coordinadora Programa
Geociencias Marinas
Georgina Guzmán

Coordinador Programa
Valoración y Aprovechamiento
de Recursos Marinos
Mario Rueda Hernández

Coordinadora Programa
Calidad Ambiental Marina
Luisa Fernanda Espinosa

Coordinadora Programa
Investigación para la Gestión Marina
y Costera
Paula Cristina Sierra

Coordinador Servicios Científicos
Oscar David Solano Plazas

Santa Marta, 2011

Coordinación INVEMAR
Javier Gómez-León
Diana Isabel Gómez-López

Grupo de Investigación
Marisol Santos-Acevedo
Javier E. Álvarez-Barrera
Johann López-Navarro
Gloria Helena Ospina-Salazar
Lina María Sánchez-Cardozo
Andrés Felipe Melo
Heidy Pérez
Cindy Montero
Hilda María González
Paula Polanía
Álvaro Cabrera
Sofía Sepúlveda-Cárdenas

Auxiliares de Investigación
Miguel Sánchez
María Quintero

Esta publicación es producto de los proyectos: Iniciación al proceso de reproducción de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial, *Gramma loreto* e *Hippocampus reidi*, en condiciones de laboratorio (código 037-2007U1182-421-07) y "Evaluación del uso de dietas alimenticias y nutricionales de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial en diferentes estadios de desarrollo" (código 197-2008T6949-384-01), y fue preparada por el grupo INVEMAR-Bioprospección Marina y publicada por el INVEMAR con el apoyo financiero del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Langostinos del Llano, INCODER, Fundación Museo del Mar y el Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, a través del Banco de Proyectos de Inversión Nacional (BPIN).

Fotos de la cartilla tomadas por el personal del LABBIP-INVEMAR.

Diseño y diagramación
Franklin Restrepo Marín.

Impresión
MARQUILLAS S.A.

Edición general
Marisol Santos-Acevedo y Javier Gómez-León.

Derechos reservados conforme a la ley, los textos pueden ser reproducidos total o parcialmente citando la fuente.

Cítese como:

Gloria Helena Ospina-Salazar, Marisol Santos-Acevedo, Johann López-Navarro, Diana Isabel Gómez-López, Javier E. Álvarez-Barrera y Javier Gómez-León. 2011. Avances en la reproducción y mantenimiento de peces marinos ornamentales. Serie de Publicaciones Generales No. 46. Santa Marta, 100 pág. ISBN: 978-958-8448-37-4

Palabras Clave: Peces ornamentales, *Hippocampus reidi*, *Gramma loreto*, Reproducción, Mantenimiento, Alimento vivo, Microalgas, Artemia, Rotíferos, Diseño de sistemas de cultivo, Enfermedades.

Entidad de investigación y ejecutora
Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives De Andrés" – INVEMAR

Entidad del sector productivo
Langostinos del Llano LTDA.

Entidades colaboradoras
Instituto Colombiano de Desarrollo Rural – INCODER
Fundación Museo del Mar

Entidades financiadoras
Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial

PRESENTACIÓN

El término "ornamentales" es un término genérico que describe a los organismos mantenidos en acuario con propósitos de ornato, incluyendo peces, algas, corales, crustáceos, moluscos, equinodermos, así como las llamadas "rocas vivas". Colombia es reconocida por la diversidad biológica y la abundancia de recursos hídricos. Sin embargo, esta riqueza está amenazada por deterioro ambiental, sobreexplotación y prácticas productivas inapropiadas. Los peces marinos tropicales se encuentran entre los organismos más valorados en el comercio de animales ornamentales, pero la oferta, destinada principalmente a mercados externos, se basa en buena medida en la extracción directa del medio, proceso que afecta los ecosistemas y que no genera alternativas para la población humana.

Una de las perspectivas tecnológicas que viene adquiriendo gran importancia y que forma parte prioritaria de la política del sector pesquero, es la promoción y desarrollo de la acuicultura en general y de la maricultura en particular. En este contexto, la maricultura representa la forma más eficaz y sostenible de asegurar que haya suficiente proteína para alimentar a una población en aumento mientras que la actividad de cultivo ornamental se convierte en una alternativa ante la presión extractiva que se ejerce sobre especies que se concentran en la zona costera y que trae como consecuencia la disminución de la biodiversidad y la alteración y destrucción de los hábitat, impidiendo a mediano y largo plazo la sostenibilidad de los recursos biológicos. Lograr el cultivo de los peces marinos ornamentales persigue una gran causa conservacionista, y una alternativa económica ya que las prácticas de extracción y la carencia de información científica son amenaza de extinción de las especies de mayor interés.

Esta información se ha venido generando para el Caribe colombiano por parte del INVEMAR, a través de investigaciones listando las especies de peces de interés ornamental presentes en la región de Santa Marta de importancia potencial por su color, vistosidad, alimentación y comportamiento entre otros, con esta cartilla enfocada en la reproducción de dos especies de peces ornamentales caballito de mar (*Hippocampus reidi*) especie amenazada y en la lista de especies en peligro CITES en su apéndice II y el loreto o grama real (*Gramma loreto*).

En su ámbito de acción misional, INVEMAR, contribuye a la difusión del conocimiento en busca de alternativas sustentables compatibles con las prácticas locales y en armonía con nuestro ambiente biodiverso, fomentando el uso sostenible de los recursos. Confiamos que esta publicación facilite la conservación de dos recursos que se encuentran en estado crítico en nuestro medio natural.

Francisco Armando Arias Isaza
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y a los miembros de la alianza productiva: el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras – INVEMAR (Ministerio del Medio Ambiente y Desarrollo Territorial, a través del Banco de Proyectos de Inversión Nacional – BPIN), la empresa Langostinos del Llano Ltda., el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) y la Fundación Museo del Mar por financiar los proyectos: “Iniciación al proceso de reproducción de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial, *Gramma loreto* e *Hippocampus reidi*, en condiciones de laboratorio” y “Evaluación del uso de dietas alimenticias y nutricionales de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial en diferentes estadios de desarrollo”.

Al equipo de trabajo conformado por los investigadores: Javier Gómez-León, Marisol Santos-Acevedo, Gloria Helena Ospina-Salazar, Johann López-Navarro, Javier E. Álvarez-Barrera, Diana Isabel Gómez-López, Hilda María González, Paula Polanía, Álvaro Cabrera, Sofía Sepúlveda-Cárdenas y Andrea Bohórquez. A los tesisistas: Lina María Sánchez-Cardozo, Andrés Felipe Melo, Heidy Pérez y Cindy Montero. A los auxiliares de investigación: Miguel Sánchez, Miguel Martelo, María Quintero y Daniel Henao. Y a los estudiantes pasantes: Darío Cruz, Till Deuss y Vanessa Urrea.

Al Director General del INVEMAR Francisco Arias Isaza por sus valiosos aportes en la revisión de esta publicación. A los subdirectores Jesús Garay y Carlos Pinilla y Sandra Rincón asistente general de la dirección.

Al Grupo Logístico y Financiero del INVEMAR, especialmente a Jorge Correa, Fabián Samper, Mabellinis Osorio, José Dorian Gómez, Magda Abdala y Morela Rengifo por su apoyo y colaboración en los procesos relacionados con sus áreas.

Los autores agradecen a Ricardo Yunda y a Javier Medina la colaboración incondicional en los procesos y trámites con el MADR, a CENIACUA, especialmente a Mabel Mendoza por la capacitación en el cultivo de rotíferos y suministro de los mismos, a Fabián Cortez por su apoyo en temas estadísticos, a la Universidad del Magdalena, principalmente a Luz Adriana Velasco, y Luisa Villamil Díaz de la Universidad Jorge Tadeo Lozano por el suministro de cepas de microalgas, al CEINER, particularmente a Jaime Rojas, a Juan Pablo Caldas, Javier Giraldo y Viviana Suárez por su ayuda durante las salidas de campo, a María Consuelo Páez Muñoz por su colaboración en la organización y documentación de los proyectos, a Juan Carlos Narváez y Arturo Acero pioneros en el tema de peces ornamentales marinos en el INVEMAR y a Gabriel Navas por su apoyo en la formulación de los proyectos, guía y consejos en temas de acuariofilia, biología, óptica y otros.

A Mario Rueda Coordinador del Programa Valoración y Aprovechamiento de Recursos Marinos - VAR, por sus recomendaciones y apoyo permanente; a todo el personal de la Línea de Bioprospección Marina - BIM, especialmente a Ernesto Acosta, Carlos Puentes y Katerine Carreño por su apoyo en el LABBIP.

CONTENIDO

PRESENTACIÓN	3
AGRADECIMIENTOS	4
INTRODUCCIÓN	7
1. BIOLOGÍA Y PROBLEMÁTICA DE <i>H. reidi</i> Y <i>G. loreto</i>	11
1.1 <i>Hippocampus reidi</i>	11
1.1.1 Ubicación taxonómica	11
1.1.2 Descripción morfológica	12
1.1.3 Reproducción	12
1.1.4 Distribución	14
1.2 <i>Gramma loreto</i>	14
1.2.1 Ubicación taxonómica	14
1.2.2 Descripción morfológica	15
1.2.3 Reproducción	15
1.2.4 Distribución	16
1.3 Problemática de <i>H. reidi</i> y <i>G. loreto</i>	17
2. INSTALACIÓN E INFRAESTRUCTURA	19
2.1 Infraestructura: disposición general	19
2.2 Sistema y áreas necesarias para el cultivo	20
2.2.1 Sistema de recirculación	20
2.2.2 Sistema de almacenamiento de agua	22
2.2.3 Sistema de filtración	23
2.2.4 Sistemas complementarios	24
2.2.5 Sistema de aeración	25
2.3 Agua de mar	25
2.3.1 Agua de mar natural	27
2.3.2 Agua de mar artificial	28
2.4 Maduración del sistema	30
2.5 Monitoreo y mantenimiento de la calidad de agua	32
2.5.1 Oxígeno	32
2.5.2 Salinidad	32
2.5.3 pH	32
2.5.4 Temperatura	33
2.5.5 Nutrientes	33
3. PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	37
3.1 Cultivo de microalgas	37
3.1.1 Especies utilizadas en el LABBIP	38
3.1.1.1 <i>Isochrysis galbana</i>	38
3.1.1.2 <i>Nannochloropsis</i> sp.	38
3.1.2 Dinámica de crecimiento	38
3.1.3 Requerimientos particulares	39
3.1.4 Desinfección	41
3.1.5 Condiciones físicas y químicas particulares	42
3.1.6 Medios de cultivo	44
3.1.7 Inoculaciones y mantenimiento del cultivo	45
3.2 Cultivo de rotíferos	48

INTRODUCCIÓN

Durante años, la acuicultura en el mundo se ha utilizado principalmente como una opción para suplir las grandes demandas de alimento, sin embargo en la actualidad también es un punto de partida para disminuir los impactos ambientales sobre las poblaciones silvestres y un apoyo económico de pequeñas comunidades costeras y microempresas, que han venido posicionándose en el mercado mundial, abasteciendo la demanda de una gran variedad de especies de importancia comercial y ornamental (Koldewey y Martin-Smith, 2009), donde aproximadamente el 50% de la demanda mundial de peces ornamentales marinos proviene de Asia (Olivier, 2003) y el 60% de peces comerciales se origina en países desarrollados (Bartley, 2000). Los peces marinos tropicales se encuentran entre los recursos acuáticos naturales más cotizados en el comercio de animales. Según la FAO (2006), el comercio internacional de estos peces cultivados generó en el año 2000 cerca de 9 billones de dólares, de los cuales el 10% lo aportaron los peces marinos. Asia contribuyó con más del 50% de ese total, seguido por los países africanos. En Estados Unidos, los peces ornamentales cultivados se convirtieron en una industria importante, principalmente en el estado de la Florida, donde cerca de 178 productores generaron en 2003, 47 millones de dólares. Sólo la mitad de los países de Latinoamérica y del Caribe cultivan peces ornamentales, generando únicamente 4 millones de dólares en exportaciones.

Colombia es reconocida por la abundancia de recursos hídricos y por su diversidad biológica, sin embargo esta riqueza se ve amenazada por el deterioro ambiental, sobreexplotación y prácticas productivas inapropiadas. La oferta de peces marinos tropicales se basa en buena medida en la extracción directa del medio, proceso que afecta los ecosistemas y que no genera alternativas productivas para la población. La razón por la que sólo algunas especies de peces marinos tropicales han sido reproducidas en cautiverio se debe en gran parte a la dificultad de proveerles condiciones similares a las del ambiente, desconociéndose gran parte de la información clave sobre su biología y ecología. Otra razón es la falta de investigación en el campo de la acuicultura de peces marinos ornamentales; es una necesidad desarrollar procedimientos confiables y sostenibles de obtención de organismos vivos como una alternativa para suplir la demanda (Wabnitz *et al.*, 2003).

Durante años los caballitos de mar del género *Hippocampus*, han sido muy apetecidos en el mercado mundial, gracias a su valor medicinal en países orientales y como mascotas por su peculiar morfología y comportamiento (Vincent, 1995; Arcos-Pulido, 2008), lo que los ha posicionado como vulnerables en la lista roja de especies amenazadas (IUCN, 2008) y en la lista de especies en peligro CITES en su apéndice II (2008). Dentro de este género, la especie *Hippocampus reidi* se encuentra amenazada por la fuerte presión de pesca y el aumento del comercio en diferentes lugares del mundo que no alcanzan a satisfacer su demanda en el mercado (Hora y Joyeux, 2007; Olivotto *et al.*, 2008; Hora y Joyeux, 2009), siendo catalogada en Colombia como una especie vulnerable, con una rápida reducción en su tamaño poblacional (Acero *et al.*,

3.2.1 Especies utilizadas en el LABBIP	49
3.2.2 Dinámica de crecimiento	49
3.2.3 Requerimientos particulares	49
3.2.4 Desinfección	51
3.2.5 Condiciones físicas y químicas particulares	51
3.2.6 Inoculaciones y mantenimiento del cultivo	52
3.2.6.1 Determinación de la densidad del cultivo	52
3.2.6.2 Alimentación y enriquecimiento	53
3.2.6.3 Mantenimiento, limpieza y cosecha	55
3.3 Cultivo de artemia	55
3.3.1 Especies utilizadas en el LABBIP	57
3.3.2 Requerimientos particulares	58
3.3.3 Desinfección	59
3.3.4 Criterios de eclosión	60
3.3.5 Condiciones físicas y químicas de la eclosión	60
3.3.6 Producción de artemias	61
3.3.6.1 Eclosión y cosecha de nauplios	61
3.3.6.2 Alimentación y enriquecimiento	63
4. MANTENIMIENTO DE ORGANISMOS EN EL LABORATORIO	65
4.1 Sistemas	65
4.1.1 <i>Hippocampus reidi</i>	65
4.1.1.1 Crías	65
4.1.1.2 Juveniles	68
4.1.1.3 Adultos	68
4.1.2 <i>Gramma loreto</i>	69
4.1.2.1 Larvas	69
4.1.2.2 Juveniles y adultos	70
4.1.2.3 Reproductores	70
4.2 Reproducción, levante y mantenimiento de <i>Hippocampus reidi</i> en cautiverio	70
4.2.1 Reproducción	70
4.2.2 Levante de crías	72
4.2.3 Sexaje y marcación de juveniles	76
4.2.4 Mantenimiento de los organismos	77
4.3 Reproducción, levante y mantenimiento de <i>Gramma loreto</i> en cautiverio	78
4.3.1 Reproducción	78
4.3.2 Levante de larvas	80
4.3.3 Mantenimiento de los organismos	81
4.4 Enfermedades presentadas en laboratorio	82
4.4.1 <i>Hippocampus reidi</i>	82
4.4.1.1 Aire/gas y los problemas relacionados	82
4.4.1.2 Bacterias comedoras de piel	84
4.4.1.3 Exoftalmia	85
4.4.1.4 Parásitos	85
4.4.2 <i>Gramma loreto</i>	86
4.5 Aclimatación y cuarentena	87
CONSIDERACIÓN FINAL	90
BIBLIOGRAFÍA	92

2002). Uno de los cuellos de botella en el levante de caballitos de mar es la baja supervivencia de sus crías (Scaratt, 1995; Payne y Ripplingale, 2001), esto puede estar relacionado con muchos factores como el ambiente, la comida, el comportamiento alimentario, la intensidad de la luz y la densidad de cultivo (Woods, 2000; Chang y Southgate, 2001; Sheng *et al.*, 2006).

Otra especie de mayor interés económico en el mercado de ornamentales, es el loreto, grama real o royal gramma; *Gramma loreto*, cuyo hábitat son los arrecifes de coral de la región Caribe, se distribuye desde las costas de Florida hasta las de Venezuela, incluyendo Colombia. Se comercializa en casi toda América, incluyendo los países donde no habita y también tiene un mercado importante en Europa. Su adaptación al cautiverio y su vistosa coloración mitad amarillo y mitad morado, lo convierten en una de las especies más populares en el acuario marino de arrecife. Actualmente, existen criaderos en USA principalmente en la Florida, que lo cultivan con fines de comercialización, donde los precios al público por unidad van desde los US\$ 25 en adelante; este pez tiene tanta demanda, que Puerto Rico destinó en el 2004 una cuota de captura de 12.500 peces (Reglamento de Pesca de Puerto Rico, 2004). A pesar de conocerse el proceso reproductivo en el medio natural y en cautiverio (Pastor y Báez-Hidalgo, 2002), en Colombia ha habido poco interés en estudiar la biología reproductiva en ambos casos, sólo se sabe que son peces fáciles de mantener en acuario, pero reproducirlos requiere de un proceso investigativo riguroso.

En Colombia, no se encontraron trabajos sobre el cultivo de *Gramma loreto*; pero en cuanto a *Hippocampus reidi*, las primeras descripciones sobre la reproducción y cría se hicieron en el CEINER (1995), donde detallan el cortejo entre machos y hembras y explican el proceso de levante. Años más tarde (1999), el Acuario Mundo Marino a cargo de la Universidad Jorge Tadeo Lozano en Santa Marta, realizaron algunos estudios de reproducción de la especie en cautiverio (Villamizar y Domínguez, 1999; Villamizar, 2001). Además se adelantaron experimentos para el levante de juveniles; es así como Azula y León (2000) reportan nacimientos en cautiverio con un número de crías entre 150 a 630; León y Jáuregui (2001), realizan ensayos alimentarios en juveniles, obteniendo supervivencias únicamente durante la primera semana de vida. A partir del 2003, este proceso se consideró como “Proyecto Bandera” en el marco del Programa Nacional de Conservación *ex situ*, establecido por la Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios (ACOPAZOA). Más adelante, Giraldo y Polania (2005), lograron el levante de *H. reidi* en tres sistemas controlados, manejando una densidad de 3 caballitos.L⁻¹ y alcanzando una supervivencia de 6,6%. Hasta el momento los esfuerzos de investigación, indican que los juveniles son organismos que requieren control de la temperatura y pH durante sus primeras fases de desarrollo, que pueden ser alimentados con plancton cultivado y que esta especie presenta características de plasticidad que le confiere ventajas para su cultivo como especie de interés para la conservación y uso ornamental (Cabrera, 2010; Zuluaga-Arévalo, 2010). Finalmente desde hace cuatro años en el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR, se vienen adelantando estudios con el objetivo de avanzar en la tecnología para el cultivo de estas especies, en donde Melo (2010) concluyó que las mejores respuestas

en supervivencia y crecimiento de las crías al cabo de 30 días se presentaron a una salinidad de 27 y una temperatura de 26°C.

Esta cartilla recopila los protocolos necesarios para desarrollar la cría y levante de caballitos de mar y la obtención de larvas de loreto en cautiverio. La información que se presenta a continuación fue obtenida por el INVEMAR, en asocio con Langostinos del Llano Ltda., Fundación Museo del Mar e INCODER en el marco de los proyectos: “Iniciación al proceso de reproducción de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial, *Gramma loreto* e *Hippocampus reidi*, en condiciones de laboratorio (código 037-2007U1182-421-07) y “Evaluación del uso de dietas alimenticias y nutricionales de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial en diferentes estadios de desarrollo” (código 197-2008T6949-384-01) financiados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Convocatoria Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación, 2007 y 2008).

A futuro este protocolo puede contribuir en gran medida con las políticas de conservación de especies amenazadas, de diversificación de la producción acuícola y en la modernización del sector rural colombiano convirtiéndose en una alternativa de desarrollo para las comunidades asentadas en los litorales y para la cadena del comercio de peces ornamentales del país.

1. BIOLOGÍA Y PROBLEMÁTICA DE *H. reidi* Y *G. loreto*

1.1 *Hippocampus reidi*

Esta especie conocida con el nombre de caballito de mar hocico largo, presenta una amplia gama de coloración que va del café y negro hasta naranja, rojo y amarillo. Se puede encontrar a profundidades entre 15 y 55m, distribuida en grupos de hasta cuatro individuos en gorgonias, corales, pastos marinos, raíces de mangle, ostras, tunicados y sargazos, asociados principalmente con arrecifes y parches de coral (Dias y Rosa, 2003; Koldewey, 2005). Son bastante populares en el mundo acuarista y comúnmente se encuentran en los acuarios públicos, algunos de los cuales afirman haber levantado esta especie en cautiverio.

Se caracterizan al igual que el resto de su género por parecer la fusión de varios animales: cabeza semejante a la de un caballo, armadura corporal similar a la de un armadillo, cola prensil como la de los primates neotropicales, bolsa “útero” en los machos parecida a la de los marsupiales a través de la cual después de “preñados” dan a luz a sus crías, ojos con movimiento independiente y cambio de color como camaleón, además de aletas semejantes a “alas”; han cautivado a los taxónomos y naturalistas, induciéndoles incluso en siglos pasados a atribuirlos a grupos de vertebrados totalmente contrarios a su naturaleza. Su característica más prominente es la bolsa en los machos en cuyo lugar se desarrollan los huevos dejados por la hembra cuidadosamente y de los cuales saldrán cientos de crías completamente formadas (Indiviglio, 2001).

Costa *et al.* (2008) realizó estudios sobre la composición de la dieta en organismos juveniles y adultos de *H. reidi* en el estado natural, donde el análisis del contenido estomacal mostró que los nematodos y crustáceos fueron los más importantes dentro de la dieta, siendo estos últimos comúnmente encontrados en el contenido intestinal de los syngnathidos. Olivotto *et al.* (2008) sugieren dietas que inclúan rotíferos, copépodos y artemias para el levante de crías en cautiverio donde concluyeron que los copépodos harpaticoides como *Tisbe* sp. pueden ser considerados una presa valiosa, como suplemento de las dietas tradicionales basadas en rotíferos y nauplios de artemia y que el fotoperíodo puede desempeñar un papel importante en el cultivo exitoso de esta especie. Storer y González (2009) señalan que presenta preferencia alimenticia por anfípodos y *Artemia salina*, sin diferencias en cuanto a la cantidad de alimento consumido por las hembras y los machos.

1.1.1 Ubicación taxonómica

Hippocampus reidi, hace parte de la familia Syngnathidae (con mandíbulas fusionadas), junto con los caballitos pipa (*Corythoichthys*, *Hippichthys*, *Solenostomus*, *Syngnathoides*, *Doryrhamphus*, *Syngnathus*, *Micrognathus*, *Choerichthys*, *Cosmocampus*, *Micropis*) y los dragones de mar (*Phyllopteryx*, *Phycodurus*, *Solegnathus*) (Indiviglio, 2001).

Reino: Animalia
 Phylum: Chordata
 Subphylum: Vertebrata
 Superclase: Osteichthyes
 Clase: Actinopterygii
 Orden: Syngnathiformes
 Familia: Syngnathidae
 Género y especie: *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933

1.1.2 Descripción morfológica

Las características del género son la presencia de una cola prensil, sin aleta caudal y el eje de la cabeza perpendicular al eje principal del cuerpo, se distingue principalmente por tener el rostro relativamente largo en comparación con *Hippocampus erectus* (Cervigón, 1991); tubérculos del cuerpo poco desarrollados (Acero *et al.*, 1984).

Descripción: (basada en 39 especímenes)

Largo total del adulto: 10-18cm

Anillos: 11 + 35 (31-39)

Longitud del hocico: 2,6 (2,0-2,5) de la longitud de la cabeza

Radio de la aleta dorsal: 17 (16-19) cubriendo 2+1 anillos

Radio de la aleta pectoral: 16 (15-17)

Corona: baja a media, redondeada, puede ser muy larga y arrugada (como un pedazo de papel).

Especies sin estómago y sin dientes, con un aparato digestivo incipiente que los hace criaturas altamente voraces por lo que deben estar comiendo con mucha frecuencia para poder vivir. Son maestros del camuflaje, al cambiarles el color y crecerles filamentos en la piel con los cuales se mezclan con sus alrededores. La coloración puede variar desde amarillo hasta vino tinto dependiendo del ambiente en que vivan o del estado de su ciclo de vida, pues suelen presentar colores vivos en épocas de cortejo y apareamiento. El patrón de coloración consiste generalmente en un punteado oscuro sobre un fondo claro (Indiviglio, 2001).

1.1.3 Reproducción

El caballito de mar es una especie que presenta dimorfismo sexual, es decir el macho es evidentemente distinto de la hembra. Físicamente tanto la cola como el morro de los machos son mucho más largos que los de las hembras y su madurez sexual es visible por la existencia de la bolsa incubadora que se extiende desde la parte baja del abdomen hasta una buena parte de la cola. Las hembras no poseen ninguna estructura blanda en su abdomen y parecen madurar al mismo tiempo que los machos, siendo visible su ovopositor (estructura con la que transfiere los huevos al macho) (Planas *et al.*, 2006) (Figura 1).

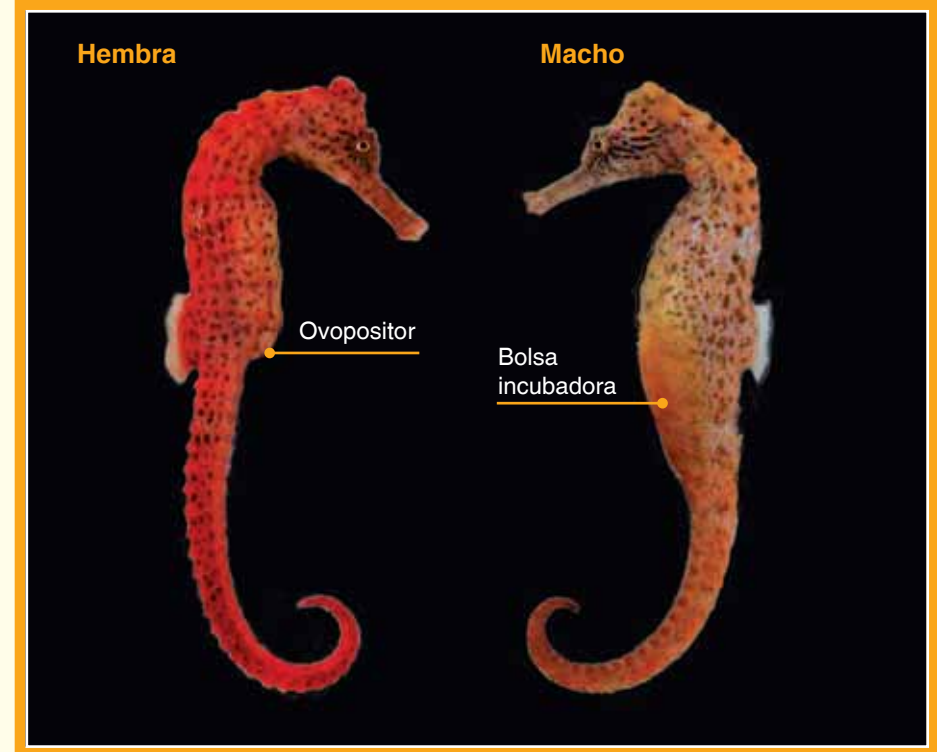


Figura 1. Diferencias sexuales más evidentes en caballitos de mar *H. reidi*.

Hippocampus reidi se reproduce durante todo el año con preferencia entre diciembre y marzo y con mayor intensidad en febrero, los nacimientos ocurren en la noche durante la fase de luna nueva; durante el cortejo, el área ventral y lateral de los individuos cambia de coloración aclarándose, la hembra deposita los huevos dentro de una bolsa que posee el macho donde son fertilizados (Acero *et al.*, 1984; Cervigón, 1991; Carpenter, 2002; Bruckner *et al.*, 2005; Montolio y González, 2008).

Una vez fertilizados los óvulos se empotran en la pared de la bolsa siendo envueltos por los tejidos que revisten el interior de ésta, la cual se sella y el macho desarrolla entonces los embriones, el oxígeno se difunde a través de los capilares del tejido que reviste los óvulos, las hormonas ayudan a crear un fluido placental que baña una pequeña parte del huevo que sobresale de los tejidos de la bolsa, el medio creado por el fluido en la bolsa se altera durante el embarazo pasando de ser fluido corporal a parecerse al agua de mar circundante, presumiblemente para reducir el estrés de las crías al momento del parto (Montolio y González, 2008).

El embarazo tiene una duración de aproximadamente dos semanas, dependiendo de la temperatura del mar, pasado este tiempo el macho entra en "labores de parto", en donde por medio de contracciones y bombeo del interior de la bolsa hacia el exterior expelle a las crías, las cuales son réplicas miniaturas de sus padres de unos 8mm, este proceso puede durar horas, lo

que demanda un gran gasto energético. Las crías crecerán, sin embargo las que lleguen a madurar serán muy pocas ya que la mortalidad durante su ciclo de vida es bastante alta (CITES, 2004; Planas *et al.*, 2006; Carpio y Cabello, 2008; Montolio y Gonzáles, 2008).

1.1.4 Distribución

Los hábitat del género *Hippocampus* se encuentran entre los más productivos del mundo y consecuentemente, son vitales y estratégicos tanto para especies marinas y costeras como para la población humana, por lo que esfuerzos para proteger y restaurar estas áreas, traerían beneficios no sólo para este valioso patrimonio natural sino para la misma supervivencia humana.

Hippocampus reidi se distribuye desde Cabo Hateras, Estados Unidos, hasta Río de Janeiro, Brasil y el Golfo de México (Lourie *et al.*, 1999; Koldewey, 2005), en la costa este de las Américas (Atlántico Occidental y Caribe). Se ha registrado en el Caribe colombiano (Acero *et al.*, 1984; Acero y Garzón, 1987 a y b) en la Bahía de Neguange y para la región de Santa Marta en general, Islas del Rosario y San Bernardo (Acero y Garzón, 1985), Cabo de la Vela (Baruque, 1978) y Bahía Portete en La Guajira (Garzón-Ferreira, 1989) Isla de San Andrés (Victoria y Gómez, 1984), Bahía de Cartagena (Álvarez y Blanco, 1985), Isla Fuerte, Islas del Rosario y San Bernardo (Gómez, 1972; Acero y Garzón, 1985) y en el Urabá chocono (Gómez, 1972; Acero y Garzón, 1987b; Acero *et al.*, 2002).

1.2 *Gramma loreto*

Gramma loreto, comúnmente llamado loreto coliamarillo o grama real (Figura 2), se encuentra en los arrecifes tropicales del Caribe, (Mejía y Garzón, 2000; Webster y Hixon, 2000; Claro y Cantelar, 2003; Webster, 2003; Aguilar y Appeldoorn, 2008). Son hallados en cuevas, intersecciones, grietas o salientes, donde se orientan ventralmente al sustrato, por lo tanto bajo salientes se ven al revés (Webster, 2004; Piccemo, 2008). Altamente territorialitas y agresivos, manejan particularmente espacios reducidos al estar en comunidad, los cuales defienden activamente a través de persecuciones de un individuo a otro (Freeman y Alevizon, 1983), además manejan un dominio jerárquico ampliamente ligado con la alimentación, ya que los peces más grandes se alimentan primero y en mayor cantidad, lo que impide que muchas veces los juveniles logren hacerlo, generando efectos negativos en el desarrollo de estas comunidades (Webster y Hixon, 2000; Webster, 2004). La alimentación de estos organismos se basa en pequeños crustáceos planctónicos de vida libre (Freeman y Alevizon, 1983; Pastor y Báez-Hidalgo, 2002). Es una especie de pequeño tamaño, con una talla entre 5 y 8cm, las agrupaciones van desde los 10 a 100 individuos (Asok y Shapiro, 1997; Webster y Hixon, 2000; Webster, 2003; Aquanovel, 2008a).

1.2.1 Ubicación taxonómica

Gramma loreto hace parte de la familia Grammatidae, que está compuesta de dos géneros y nueve especies (Piccemo, 2008) y se clasifica:

Reino: Animalia
Phylum: Chordata
Subphylum: Vertebrata
Superclase: Osteichthyes
Clase: Actinopterygii
Orden: Perciformes
Familia: Grammatidae
Género y especie: *Gramma loreto* (Poey, 1868)



Figura 2. Ejemplares de *Gramma loreto* en condiciones de cautiverio.

1.2.2 Descripción morfológica

Presentan el cuerpo alargado y comprimido, hocico corto y redondeado, boca protráctil, una línea lateral bien desarrollada, pero interrumpida. Presenta un par de aletas pectorales redondeadas, que pueden no alcanzar el origen de la aleta anal la cual se encuentra desde la base media del cuerpo hasta la base de pedúnculo caudal, un par de aletas ventrales que en los adultos pueden llegar a ser extremadamente largas, y que utilizan muchas veces como apéndices para mantenerse erguidos sobre algún sustrato, la aleta dorsal se extiende a lo largo de todo el cuerpo y la aleta caudal que varía de forma de emarginado superficial a semilunar profunda (Böhlke y Randall, 1963) (Figura 2). La porción anterior del cuerpo, las aletas pélvicas y la dorsal, de color violeta. La parte media posterior, las aletas pectorales y la caudal de color amarillo, los radios de la aleta pélvica llegan más allá del origen de la anal; aleta dorsal con 11-13 espinas generalmente 12 y 6-10 radios blandos, con un punto negro en la porción anterior; 3 espinas en la aleta anal y de 6 a 10 radios blandos; aleta pectoral por lo general con 16 radios blandos (Carpenter, 2002).

1.2.3 Reproducción

No presentan dimorfismo sexual, sin embargo los machos alcanzan mayor tamaño que las hembras (Amador, 1982), según algunos estudios

en estas comunidades se maneja una relación de 1-2 machos por cada 2-9 hembras (Asoh y Shapiro, 1997), de 1-2 machos por cada 4-6 hembras (Asoh, 1992) o de 1 macho por cada 3,17 hembras (Amador, 1982). Son organismos gonocóricos lo que quiere decir que pasan un período en que las gónadas son intersexuales antes de diferenciarse los ovarios o testículos (Asoh Shapiro, 1997), esta fase muchas veces se confunde con hermafroditismo funcional (Devlin y Nagahama, 2002). El macho crea nidos en las grietas o en depresiones del sustrato duro, donde introducen enredaderas de algas para colocar los huevos, los cuales son cuidados con el mayor rigor posible evitando a los depredadores, que muchas veces son espantados con persecuciones al acercarse al nido (Figura 3A), los huevos son de 1mm con reserva de vitelo, y requieren de 10 a 11 días a partir de la mórula para su eclosión, la larva recién eclosionada presenta una longitud de 2,9–3,0mm, ojos pigmentados, mandíbulas bien desarrolladas, y una pequeña reserva de vitelo (Figura 3B) (Asoh y Yoshikawa, 1996).

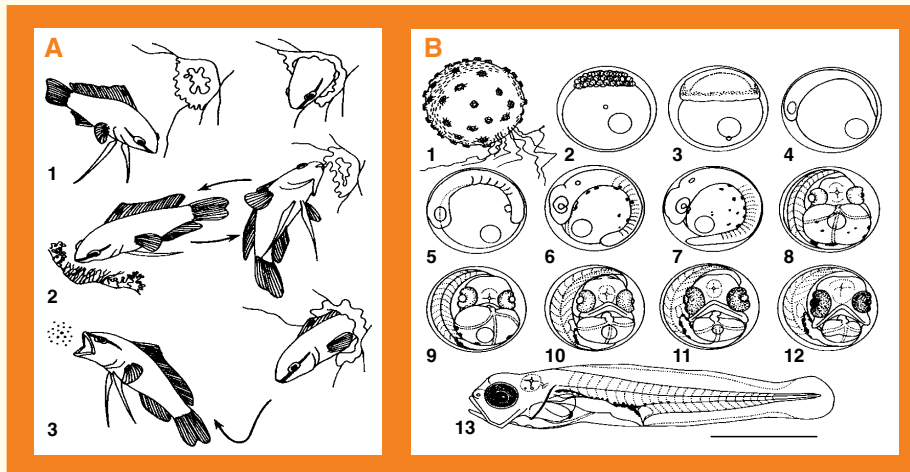


Figura 3. Cuidado y mantenimiento del nido (A), desarrollo embrionario y larva recién eclosionada de *G. loreto* (B) (Tomado de Asoh y Yoshikawa, 1996).

1.2.4 Distribución

Desde el sur de Bermuda hasta Venezuela, incluyendo las Bahamas y América Central (Webster y Hixon, 2000; Piccemo, 2008), restringida a ciertas áreas de condiciones tropicales, por lo cual no se encuentra en áreas subtropicales o de surgencia (Mejía y Garzón, 2000). En Colombia ha sido registrado en dos zonas, en los Archipiélagos de Islas Corales del Rosario y de San Andrés y Providencia (Acero y Garzón, 1985). Esta especie es más abundante entre 1 y 40m de profundidad, aunque ocasionalmente habita arrecifes de agua clara de hasta 3m, y ha sido reportado a profundidades cercanas a los 60m (Piccemo, 2008; Aquanovel, 2008a). Se asocia con un sinnúmero de corales incluyendo *Montrastrea annularis*, *Acropora palmata* y *Diploria labyrinthiformis*, sin embargo estos organismos se encuentran donde los corales muestran un marcado desarrollo vertical (Figura 4) (Webster, 2004).



Figura 4. Hábitat del *G. loreto* (Gabriel Navas, 2008).

1.3 Problemática de *H. reidi* y *G. loreto*

Seis especies de *Hippocampus* fueron parte de la iniciativa de la Unión Mundial para la Conservación de la Naturaleza en las Listas de Especies Amenazadas en 1996, y en 2004 todo el género entró a formar parte del Apéndice II de CITES. A raíz de esto, esfuerzos alrededor del mundo se han encaminado a la conservación de estas especies, y a la concientización de las comunidades de pescadores que han hecho uso indiscriminado de estos peces, haciéndolas partícipes de la protección tanto de las especies como de su propio sustento familiar y de los ecosistemas de los cuales dependen, tanto en el ámbito local como regional (Pajaro y Vincent, 1996; Vincent, 1996 a y b; Vincent y Pajaro, 1997).

Hippocampus reidi se encuentra amenazada por la fuerte presión de pesca y el aumento del comercio en diferentes lugares del mundo que no son suficientes para satisfacer la demanda en el mercado (Hora y Joyeux, 2007; Olivotto *et al.*, 2008; Hora y Joyeux, 2009), a partir del 2002, se incluyeron en los Libros Rojos de Peces Marinos de Colombia en la categoría UICN-Vulnerable (A2cd), con una rápida reducción en su tamaño poblacional (Acero *et al.*, 2002). Reportes europeos aparentemente más antiguos que los registros chinos de escritores griegos y romanos desde el 342 AC (Menandro, Estrabo, Philostrato, Dioscorides, Aelio y Plinio) dieron una visión completa de aplicaciones médicas y más recientemente, han sido utilizados como mascotas, suvenires y curiosidades.

Para *Gramma loreto* la problemática principal está relacionada con su restringida distribución, la cual no solo está limitada al Mar Caribe sino a

zonas con características muy particulares, aisladas y asociadas con sistemas arrecifales extremadamente complejos, sensibles y vulnerables. Además son organismos muy apetecidos en el mercado de organismos marinos ornamentales, y el suministro se basa en extracción del medio natural, en algunos casos, reglamentado y con cuotas de captura (Reglamento de Pesca de Puerto Rico, 2004). Otra limitante al trabajar con loreto es la escasa información científica sobre esta especie, tanto en el ambiente natural como en laboratorio (Pastor y Báez-Hidalgo, 2002).

Las dos especies tienen problemas en común relacionadas con la comercialización, ya que no hay estadísticas confiables ni control. Además por tratarse de una actividad clandestina, no existen estructuras que apoyen la captura y el transporte de los ejemplares del medio natural a los acuarios. Tampoco existen alimentos balanceados a nivel comercial para ciertas especies y gran parte de los comerciantes no están capacitados para atender sus necesidades y mucho menos para transmitir información confiable a sus clientes, por lo que la mortalidad en acuarios es alta, ya que pueden sufrir:

- Daños fisiológicos causados durante la colecta y el transporte.
- Pobre manejo tanto de importadores, comerciantes como del acuarista.
- Enfermedades.
- Dietas poco balanceadas.
- Insuficiente alimento o inanición.
- Incompatibilidad con las otras especies en el acuario.

Normalmente sobreviven muy bien a la captura y el embarque, sin embargo mueren un tiempo después a causa de este proceso. En general, los caballitos de mar son considerados delicados y difíciles de mantener debido a sus hábitos alimenticios, basados en presas vivas y a su vulnerabilidad a un rango de enfermedades bacterianas, parasitarias y de hongos (Wood, 1992, En: Vincent, 1996a). Emparejar caballitos de mar no es particularmente difícil pero los jóvenes peces comúnmente implican más problemas ya que requieren cambios de dieta de distintas presas vivas a medida que van creciendo. Los loreto por el contrario se adaptan con facilidad al confinamiento y aceptan alimentos comerciales pero son muy agresivos con ejemplares de su misma especie, lo que dificulta su reproducción junto con la dificultad para establecer parejas por no poseer un dimorfismo sexual marcado.

2. INSTALACIÓN E INFRAESTRUCTURA

En este capítulo se describirá el diseño y las principales características, de un sistema básico para el cultivo de peces marinos ornamentales con énfasis en el cultivo de caballitos de mar y loreto en acuarios, el diseño del sistema se ha realizado con el fin de cumplir con los requerimientos mínimos, así como la menor inversión, de una instalación para la producción y mantenimiento de organismos marinos ornamentales.

El diseño está basado en el sistema de recirculación para la acuicultura (SRA), tecnología que permite el cultivo de organismos acuáticos a mayor intensidad; reutilizando el agua efluente de los tanques de cultivo luego de un reacondicionamiento de los parámetros principales, eliminando sólidos en suspensión, amonio y dióxido de carbono, oxigenando y desinfectando el agua. En el SRA el ambiente es totalmente controlado, temperatura, pH, salinidad, alcalinidad, composición química y oxígeno son monitoreados y controlados continuamente, los residuos sólidos son filtrados y removidos, se incorpora oxígeno e incluye un biofiltro para el tratamiento del efluente (Timmons *et al.*, 2002; Villegas, 2007).

Aunque el sistema de recirculación requiere una mayor inversión en cuanto a equipos, mantenimiento y funcionamiento, tiene ventajas a largo plazo como control de la producción de acuerdo con los requerimientos del mercado, reducción de consumo de agua y en tratamiento de efluentes, instalaciones en lugares alejados de las fuentes de agua y control constante de las variables, en los términos requeridos para cada especie.

2.1 Infraestructura: disposición general

Para la construcción del laboratorio se debe optar en lo posible por una construcción de una planta con dos niveles, en la cual se establezcan áreas separadas y acordes para cada actividad. Esta disposición debe ser sencilla y cómoda para el manejo, agrupando todos los elementos auxiliares de cada zona lo más próximos a su lugar de influencia, tratando de evitar cualquier complejidad, de tal forma que ante una avería o problema pueda resolverse con facilidad y prontitud por parte de los miembros del equipo de mantenimiento de la instalación (Beaz, 2007). Básicamente la construcción debe tener claramente diferenciadas la zona seca y la zona húmeda. La zona seca alberga oficinas, sala de reuniones, taller de mantenimiento básico y bodegas (Figura 5), la zona húmeda las áreas de cultivo, y de trabajo, cuya disposición debe facilitar el acceso de acuerdo a las necesidades de las áreas aledañas (Figura 6). Adicionalmente se debe disponer de espacios en el exterior para los tanques de almacenamiento y las áreas para la instalación de equipos (motobombas, blowers, chiller, filtros, etc.).

En los siguientes apartados se describen los principales sistemas y áreas requeridas, determinadas en el proyecto para asegurar la viabilidad técnica del cultivo de caballitos de mar y loreto y que pueden ser extrapolados y ajustados a otros ornamentales marinos, basados en los diseños del Laboratorio de Bioprospección Marina del INVEMAR, en adelante denominado LABBIP.



Figura 5. Vista general de la zona seca.



Figura 6. Vista general de la zona húmeda.

2.2 Sistema y áreas necesarias para el cultivo

2.2.1 Sistema de recirculación

Está compuesto por las tuberías y equipos para hacer llegar el agua a las áreas que lo requieran y luego conducir el agua que sale a los tanques a los sistemas de recirculación o desagüe. Este sistema, el de filtración y aeración, deben tener un duplicado con el fin de garantizar el suministro de agua en caso de fallo y también con fines de limpieza y mantenimiento.

El agua que recircula se distribuye desde los tanques elevados a la zona húmeda, sale de los tanques de cultivo y es conducida por gravedad

a los tanques de almacenamiento, de donde es succionada por un par de electrobombas que la impulsan por una serie de filtros de cartucho al tanque reservorio de donde por succión, pasa por un filtro biológico, y se almacena en los tanques elevados para cerrar el circuito (Figura 7).

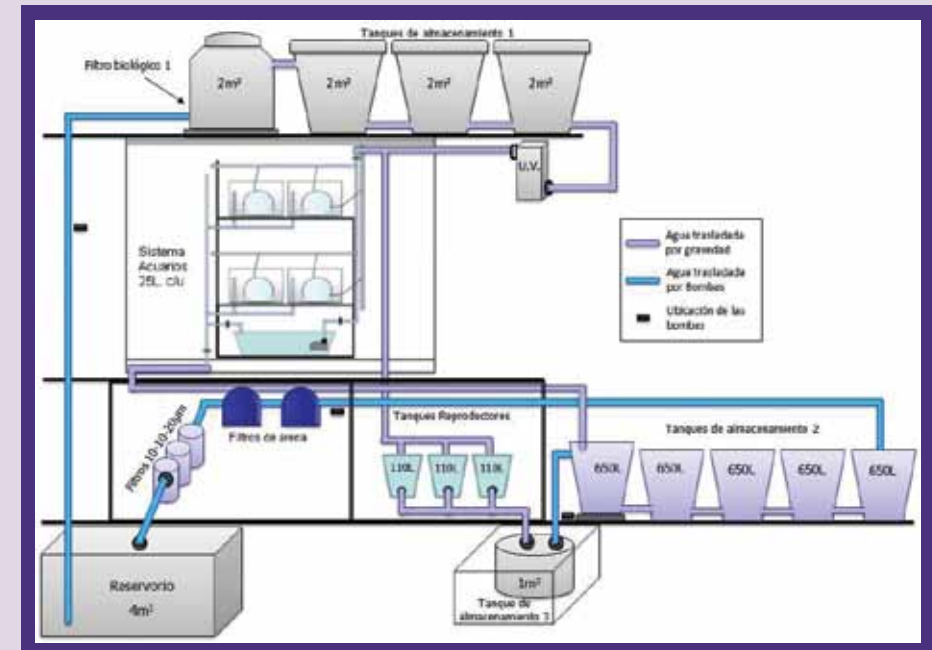


Figura 7. Sistema de recirculación del Laboratorio de Bioprospección Marina del INVEMAR (LABBIP) (Miguel Sánchez, 2010).

Para la conducción se utiliza tubería de PVC de presión, formando una red de distribución constituida por uno o varios conductos principales de los cuales se derivan los de menor diámetro. El sistema debe ser cerrado para homogenizar la presión, garantizar que el agua llegue al mismo punto por diferentes vías y con el caudal apropiado, el cual se regula con válvulas.

Las tuberías deben instalarse por secciones desmontables para facilitar la limpieza y el reemplazo en caso de necesidad, los tramos no deben ser muy largos para lo cual pueden usarse uniones universales que permitan dividirlos en secciones menores y válvulas para interrumpir el flujo. Para reducir las pérdidas en la tubería se debe minimizar el uso de reducciones, codos y ramificaciones. La red de distribución debe instalarse preferiblemente suspendida a una altura que permita el paso del personal, evitando que supere la cota de los tanques elevados, tratando que quede a una altura homogénea o que las pendientes sean suaves (Figura 8A). El agua que sale de los sistemas es conducida por canales en el piso cubiertos por rejillas fácilmente desmontables. El canal debe tener suficiente profundidad para que pase la tubería de recirculación y el agua de desecho corra por el canal hasta el tanque de almacenamiento correspondiente para su tratamiento o disposición final (Figura 8B).

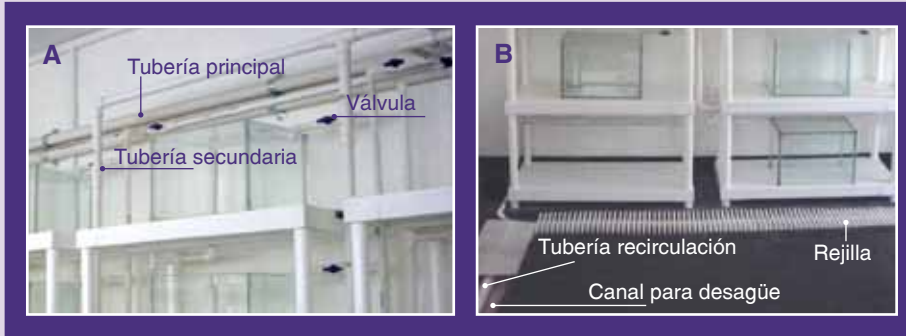


Figura 8. Red de distribución (A) y colecta del agua del LABBIP (B).

2.2.2 Sistema de almacenamiento de agua

El sistema de almacenamiento es clave para el SRA ya que permite manejar y controlar variables relacionadas con el suministro, como el caudal, el volumen de recambio, la velocidad, etc.; permite modificar las características del agua, acorde con los requerimientos y mejorar su calidad y adicionalmente tener reservas de agua para el funcionamiento del complejo. El sistema está conformado básicamente por un tanque reservorio, los tanques elevados y los tanques colectores. El tanque reservorio (Figura 9) es el que almacena el agua del sistema y el agua tomada del mar para el recambio o la reposición del volumen. El agua que llega a este tanque está previamente filtrada, por un sistema de filtros de arena y de cartucho.



Figura 9. Vista del tanque reservorio y los tanques elevados y colectores del LABBIP.

El agua succionada del reservorio pasa por un filtro biológico y posteriormente se almacena en los tanques elevados (Figura 9) que son los que suministran el agua a la instalación. Estos últimos se deben ubicar en la parte más elevada del terreno con el fin de asegurar el suministro de agua en caso de fallo temporal del abastecimiento de energía eléctrica y permiten amortiguar oscilaciones de demanda de agua en las áreas de cultivo frente al suministro. Finalmente están los tanques colectores, que recogen el agua que ha salido de los sistemas de cultivo y que debe regresar al tanque reservorio.

Aunque no hace parte integral del sistema de recirculación es importante incluir un tanque elevado para el almacenamiento y suministro del agua dulce que se requiere para lavado y manejo de la salinidad, entre otras.

2.2.3 Sistema de filtración

La filtración se define como la separación de una mezcla o solución en sus partes componentes (Prieto, 2001). El sistema utiliza diferentes métodos de filtración y tamaño de retención de partículas y se debe instalar de acuerdo a las actividades que se desarrollen en cada área para asegurar que el agua llega a cada sección con la calidad requerida. Los sistemas de filtración pueden ser mecánicos, químicos o biológicos.

Los filtros mecánicos se utilizan para eliminar material en suspensión, extraen las partículas que son más grandes que un tamaño específico (Prieto, 2001), y permiten disminuir la turbidez del agua, entre estos están los filtros de arena, utilizados para la filtración de aguas con cargas bajas o medianas de contaminantes y el tamaño de partícula que retienen es hasta de $30\mu\text{m}$. Los filtros químicos son unidades de absorción de sustancias, el más conocido es el carbón activado, capaz de eliminar compuestos orgánicos con gran eficiencia hasta llegar a la saturación de su superficie y finalmente la filtración biológica que incluye cualquier tipo de técnica de filtración que utilice organismos vivos para remover impurezas del agua (Prieto, 2001).

En los sistemas de cultivo y particularmente en los SRA es fundamental la filtración biológica, proceso que se define como: conversión bacteriológica de compuestos orgánicos nitrogenados a nitrato; esta conversión es de gran importancia en los cultivos de especies hidrobiológicas porque el amoníaco es un desecho metabólico altamente tóxico de los organismos cultivados y subproducto de muchas bacterias, en cuanto a toxicidad le siguen el nitrito, y el nitrato que es considerado relativamente no tóxico para la mayoría de organismos acuáticos. Otro sistema de filtración biológica utiliza plantas acuáticas que poseen la habilidad para asimilar nutrientes y crear condiciones favorables para la descomposición microbiana de materia orgánica, razón por la que son conocidas como autodepuradoras de ambientes acuáticos y utilizadas principalmente en el tratamiento de aguas servidas (Villegas, 2007).

En el caso del LABBIP donde el agua que se succiona del mar es de muy buena calidad y con baja cantidad de material en suspensión, al igual que para los sistemas con agua de mar artificial, se utilizan un sistema de filtración mecánica con filtros de arena (Figura 10A) y filtros de cartucho de 20, 10 y $5\mu\text{m}$, para el suministro general del laboratorio (Figura 10B).



Figura 10. Filtros de arena (A) y de cartucho (B) del LABBIP.

Para tratar el agua del efluente, tanto marina como dulce, se usa filtración mecánica y biológica, sistema constituido por un lecho de grava de 30- 50cm en el cual se ubicaron dentro de materas plantas de mangle (*Rizophora mangle*). El agua es bombeada de los tanques a través del lecho filtrante con el fin de retener las partículas; luego las plantas extraen los nutrientes y crean condiciones para la descomposición microbiana de la materia orgánica antes de que regrese al mar (Figura 11). En el sistema con agua de mar artificial, el agua de descarte es mínima pero debe ser tratada en estanques de evaporación con lo que se evita la salinización del suelo y de las fuentes de agua y permite recuperar las sales.



Figura 11. Biofiltro de mangle del LABBIP.

Todos los sistemas del laboratorio deben ser revisados periódicamente y se debe tener un plan de mantenimiento, pero los filtros merecen especial atención, dado que son los garantes de la calidad del agua.

2.2.4 Sistemas complementarios

Además de la filtración se puede mejorar la calidad del agua utilizando separadores de espuma y sistemas de esterilización o desinfección. Los skimmers, espumadores proteínicos o separadores de espuma, son sistemas que se emplean para eliminar proteínas y lípidos mediante la producción de espuma, los cuales se pueden intercalar en cualquier momento entre los circuitos de filtración y son muy efectivos para separar desechos orgánicos del agua ya que estos tienden a adherirse a una columna de burbujas y forman una espuma que se elimina fácilmente (Coll-Morales, 1991).

El sistema de desinfección Ultra Violeta – UV, es un eficiente método de desinfección y esterilización. La eliminación de los microorganismos con luz UV se basa en que los rayos penetran la membrana exterior de las bacterias, virus, hongos y algas, destruyendo el ADN (Villegas, 2007), funciona con bajos caudales y principalmente para desinfectar aguas claras, por lo que debe instalarse después de un filtro de al menos $1\mu\text{m}$ (Barnabe, 1991). Este sistema se utiliza principalmente para el manejo del agua en el área de microalgas y cultivos accesorios.

2.2.5 Sistema de aeración

El oxígeno es el principal factor limitante tanto en sistemas tradicionales de acuicultura como en los que emplean recirculación. Niveles menores que los necesarios conducen a una mala calidad en el agua, pobres factores de conversión alimenticia, reducción en el crecimiento e incremento en la mortalidad. La aeración agrega oxígeno del aire al agua y aumenta la “capacidad de carga” del sistema; el suministro del aire se realiza por medio de sopladores o blowers (Figura 12A) o compresores de baja presión. Los compresores deben instalarse por lo menos a la misma altura de los tanques, y deben tener una válvula de seguridad para manejar cambios en la demanda. La red de suministro de aire se instala con el mismo esquema y paralela a la de agua; la distribución se realiza por medio de difusores o se puede utilizar el sistema *air – lift* (Figura 12B) que consiste en inyectar aire en un tubo vertical que al salir arrastra agua y a la vez aumenta el contenido de aire y por lo tanto de oxígeno (Beaz, 2007).



Figura 12. Sopladores por duplicado (A) y aeración con *air – lift* (B) del LABBIP.

La aeración además de aumentar la concentración de oxígeno en el agua, es un eficiente desinfectante, ayuda a la eliminación de CO_2 , contribuye al control del pH y permite manejar más organismos por tanque.

2.3 Agua de mar

Para analizar las posibilidades de ubicación de un centro de cultivo es importante conocer las características geográficas y ambientales del lugar donde se va a desarrollar. Muchas de estas características tienen un efecto directo en la biología y crecimiento de los animales, como por ejemplo la temperatura; otras pueden tener efectos catastróficos, como las tormentas y corrientes, y otras pueden utilizarse como fuente alternativa de energía, como la radiación solar y el viento. En el caso de los cultivos de organismos ornamentales donde los volúmenes de agua requeridos no son muy elevados se puede analizar también la viabilidad de construir las instalaciones en zonas alejadas del mar y usar agua de mar artificial.

Es importante estudiar las siguientes variables y factores en relación con su interés para la acuicultura: disponibilidad de terreno, variaciones de temperatura y de precipitación, disponibilidad de fuentes de agua, etc. Una vez elegidas varias zonas posibles, es necesario obtener la mayor cantidad de información sobre ellas, entre las cuales se mencionan las características

generales (Tabla 1), los datos de calidad de aguas (Tabla 2) y los climatológicos (Tabla 3), deben adecuarse según el tipo de instalación, y organismos a cultivar, además de adoptar todas las normas técnicas y regulatorias para el desarrollo de una acuicultura responsable.

Tabla 1. Información general del área.

Mapas	Socio-económicos
- Mapa general y detallado de la zona.	- Opinión de la población.
- Cartografía.	- Puestos de trabajo.
- Morfología: terreno y mar.	- Costo del terreno.
Distancias	Terreno
- Centros habitados.	- Composición química.
- Industrias (cantidad y calidad de contaminación).	- Permeabilidad.
- Aeropuertos.	- Biología: vegetación y fauna.
- Centros de investigación.	- Aportes de agua dulce.
- Carreteras.	
- Agua dulce (pozos, ríos, etc.).	
- Fuentes de energía.	

Tabla 2. Datos de calidad de aguas.

VARIABLES FÍSICAS	VARIABLES BIOLÓGICAS
Temperatura.	Fitoplancton.
Salinidad.	Zooplancton.
pH.	Bacterias coliformes.
Oxígeno disuelto.	Competidores.
Metales pesados.	Depredadores.
Sólidos en suspensión.	Parásitos.
Contaminantes industriales.	
Insecticidas agrícolas.	

Tabla 3. Datos climatológicos.

VARIABLES AMBIENTALES	LLUVIAS
Temperatura ambiental.	Horas de sol.
Dirección del viento.	Mareas vivas-muertas.
Velocidad del viento.	Terremotos.
Temporales y tormentas.	Corrientes marinas.

La biodiversidad, los hábitat críticos, la salud humana y animal se han puesto en riesgo con la acuicultura irresponsable y contribuye a la degradación ambiental (tierras, aguas, y costas). La amenaza de la acuicultura para la biodiversidad acuática y el germoplasma silvestre es verdadera: gran cantidad de peces e invertebrados propagados artificialmente ocupan el lugar de las especies nativas, y las corrientes difunden sus larvas a grandes distancias. El uso de drogas y la falta de tratamiento de las aguas de descarga de los centros de cultivo es otro factor que genera presión sobre el ambiente (World Bank, 2006).

2.3.1 Agua de mar natural

Para el éxito de toda instalación de cultivos marinos hay dos factores básicos la calidad y la cantidad del agua que debemos tener disponible en todo momento para asegurar la viabilidad técnica de la instalación. La calidad debe estar fuera de toda duda al haber elegido el emplazamiento y se debe cuidar mucho el sitio de obtención del agua para la instalación, al evitar al máximo las zonas de mayor aporte de agua dulce, fijando el punto de aspiración en un lugar de gran profundidad y alejado del curso normal de la desembocadura del río; es importante también que en la zona de aspiración no haya una gran cantidad de algas y que los movimientos de arena tampoco sean importantes (Beaz, 2007).

El sistema de captación del agua de mar es el elemento principal de la instalación, ya que debe asegurar el suministro y el caudal suficiente para abastecer los tanques de cultivo. La toma de agua directamente del mar puede realizarse de formas diferentes, y de acuerdo a las condiciones del área deberá elegirse la más apropiada, algunas son:

- Captar el agua por aspiración mediante bombas de succión que absorben el agua a través de un conducto.
- El agua llega por gravedad hasta un foso, el pozo de bombas, desde donde es impulsada por bombas sumergidas.
- Colgar una bomba sumergible en una balsa flotante, que sigue el flujo y reflujo de las mareas, y que siempre aspira desde una cota inferior al nivel del mar e impulsa el fluido hasta el tanque de almacenamiento.

Para cualquiera de las opciones el punto de captación debe estar situado a una profundidad de al menos 15m, lo que reduce, entre otras cosas, la captación de agua con partículas en suspensión, ya que a esta profundidad no son apreciables los movimientos marinos superficiales (Beaz, 2007).

El LABBIP está ubicado al Noreste del Caribe colombiano, en la Bahía de Santa Marta (Colombia), a 11°15' norte 74°13' oeste, en inmediaciones de la zona portuaria de Santa Marta, en Punta de Betín (Figura 13). En esta zona, las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta irrumpen directamente dentro del mar, formando bahías arenosas relativamente profundas, llanqueadas por acantilados rocosos (Zea, 1994).



Figura 13. Zona donde se ubica el LABBIP (tomado de www.maplandia.com).

El agua de mar es tomada a través de un filtro mecánico de cantos, grava y arena de 4m³ instalado a 15m de profundidad en la plataforma continental de Punta Betín (Figura 14A), conectado a una manguera para la succión (Figura 14B y 14C) mediante dos electrobombas (Figura 14D) ubicadas en el área de máquinas; posteriormente es filtrada por dos filtros de arena y almacenada en un reservorio de 4m³, de dicho reservorio es bombeada (Figura 14E) al biofiltro y a los tanques de almacenamiento de donde pasa al laboratorio por gravedad. El sistema se ha diseñado para trabajar en flujo abierto, cerrado o semicerrado dependiendo de las necesidades.

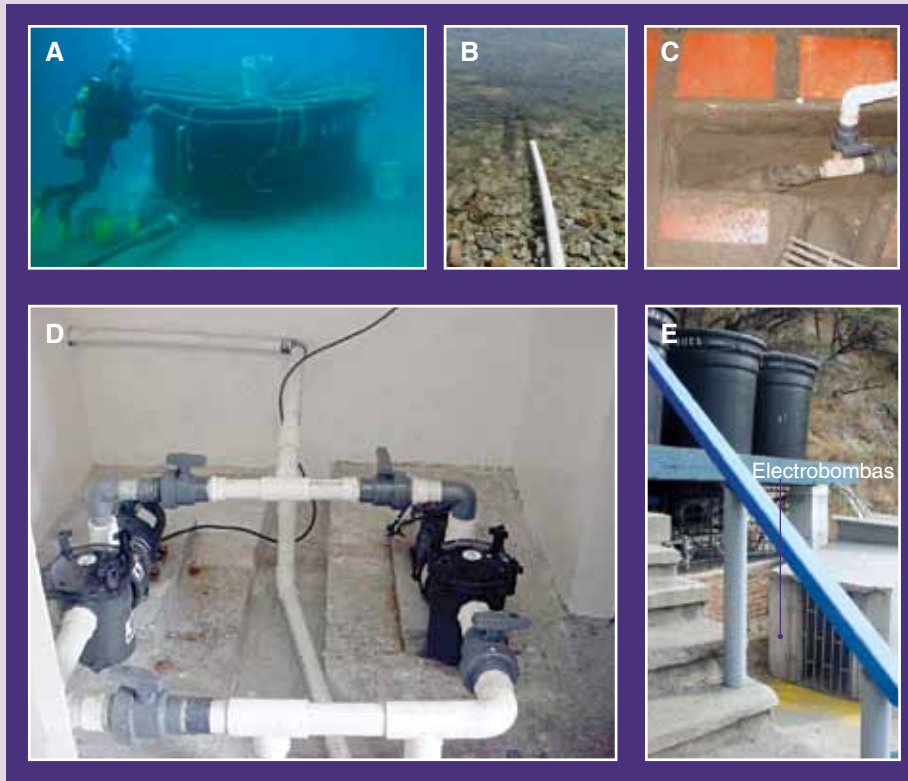


Figura 14. Filtro sumergido de la toma de agua (A), manguera para succión (B y C), electrobombas para succión del mar (D) y electrobombas para succión del reservorio a los tanques elevados (E) en el LABBIP.

Los requerimientos de infraestructura y de los sistemas específicos para las áreas, mantenimiento de reproductores, levante de crías, cultivo de artemia, rotíferos, cepario y cultivo masivo de microalgas, se detallan en cada sección.

2.3.2 Agua de mar artificial

El agua de mar no es sólo una solución de cloruro de sodio y agua, es una mezcla compleja y no completamente entendida; cualquier cosa que puede ser lavada río abajo halla su camino a los mares y es incorporada en

la solución de los océanos (Pilson, 1998). El volumen de los océanos asegura que la concentración de la solución de la mayoría de estos materiales sea muy pequeña, en el rango de partes por billón o menor; sin embargo, los organismos responden a materiales en concentraciones menores que una parte por billón (Shimek, 2008).

La industria de fabricación de agua salada artificial ha avanzado mucho en pocos años, de hecho, es difícil distinguir entre ambas, no obstante, estas similitudes únicamente son de origen inorgánico, ya que el agua salada natural contiene microfauna muy beneficiosa para formar la base de la pirámide trófica del sistema. Esto representa una gran ventaja respecto al agua artificial, además los expertos le atribuyen otras bondades como la mejora de las defensas de los peces, biodiversidad en el sistema, crecimiento óptimo, pero cuando el tratamiento incluye filtración, desinfección por ozono y ultravioleta, prácticamente se anula la ventaja principal del agua natural. El uso de agua artificial también tiene una serie de ventajas como disponibilidad permanente, protección contra agentes externos y homogeneidad en el aporte de agua nueva.

Como el agua de mar natural contiene además de los minerales, hormonas, proteínas y gran cantidad de elementos traza que de alguna manera influyen en el desarrollo de los organismos, en el sistema se incluye cascajo activo que incorpora organismos marinos, con el fin de reproducir mejor las características del agua de mar natural. Para la preparación existen una serie de productos comerciales como el concentrado Super Salt de Proline® pero es necesario adicionarle cloruro de sodio, o el Tetra marine salt pro®, que contienen todos los componentes. La preparación se realiza de acuerdo con las recomendaciones del proveedor (Figura 15).



Figura 15. Preparación del agua de mar artificial.

2.4 Maduración del sistema

Luego de preparar el agua marina artificial, se inicia la maduración del sistema, es decir, obtener las condiciones físicas y químicas para que los organismos marinos puedan vivir en él. El proceso de maduración también aplica para el sistema con agua de mar natural. El cascajo activado agiliza el proceso generando productos metabólicos que servirán para el asentamiento de bacterias nitrificantes, las cuales transforman el amoníaco que es tóxico en nitritos (NO_2^-), el ciclo es el siguiente: el nitrógeno de la atmósfera se incorpora a la materia orgánica (heces, ácido úrico, aminoácidos excretados por los animales) por fijación de bacterias; el metabolismo y la descomposición liberan nitrógeno en forma de amoníaco o ión amonio en solución acuosa, este proceso se denomina amonificación y el amoníaco es liberado al medio (Prieto, 2001). La concentración de amoníaco ionizado y no ionizado está en función del pH y la temperatura; cuando el pH se incrementa la concentración de amoníaco no ionizado (NH_3) se incrementa, mientras que el ionizado (NH_4^+) decrece (Boyd, 1990).

La nitrificación es un proceso de dos pasos llevado a cabo por bacterias autotróficas. En el primer paso el amoníaco es oxidado a nitrito en presencia de oxígeno por bacterias del grupo *Nitrosomonas* sp. (Wheaton *et al.*, 1994). Los factores que afectan el proceso de conversión del nitrito son pH, temperatura, oxígeno disuelto, número de bacterias nitrificantes y la presencia de compuestos inhibidores (ácido nítrico y NH_3), el segundo paso es la oxidación de nitrito a nitrato, este proceso es llevado a cabo por bacterias del grupo *Nitrobacter* sp., durante la oxidación microbiana de amoníaco a nitrito se producen iones de hidrógeno que tienden a disminuir el pH. Debido a que el crecimiento de la población bacteriana es lenta, la eliminación del amoníaco en el sistema pasa por tres fases hasta que alcanza el equilibrio: ausencia de nitrificación (predominio de NH_3 o NH_4^+), predominio de *Nitrosomonas* (alta concentración de NO_2^-) y equilibrio (acumulación de NO_3^-). Una vez conseguidas las poblaciones bacterianas *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, el sistema de inmediato convierte el amoníaco en NO_2^- y en NO_3^- que se acumula en el medio de cultivo sin dar lugar a la acumulación de amoníaco o nitritos (Prieto, 2001).

Durante la puesta a punto del sistema hay un período crítico durante el cual se acumulan altas cantidades de nitritos por lo que es conveniente realizar este proceso sin animales en el sistema, la población bacteriana se encargará no solo de transformar el amoníaco a nitrato, sino también otros compuestos orgánicos (celulosa, urea, almidón) (Morales, 1982). Para la maduración el agua preparada se deja circulando hasta diluir completamente las sales por dos días, luego se adiciona el cascajo activado, el cual fue mantenido durante un mes en un sistema de recirculación con agua de mar natural para que se formara el complejo de organismos, el cascajo se ubica en uno de los tanques de almacenamiento, con iluminación constante. También es bueno instalar un filtro biológico y mecánico en los acuarios, compuesto por una capa de arena de 10cm de arena viva de 0,2mm de grano y una capa de 2cm de arena coralina no activa; siguiendo las recomendaciones de Toonen y Wee (2009), para un óptimo procesamiento de desechos nitrogenados en acuarios.

Posteriormente, se adiciona roca viva al tanque de filtración, y se da inicio a la medición de los parámetros fisicoquímicos (amonio, nitritos, nitratos y fosfatos principalmente), hasta observar su estabilización dentro

de los rangos establecidos para el sistema. El siguiente paso consiste en introducir poco a poco los organismos, es decir, agregar a lo largo de dos semanas algunos peces para no recargar el sistema de una sola vez con demasiados nutrientes y permitir que los filtros biológicos empiecen a actuar de manera gradual. Si al cabo de este tiempo los niveles de nutrientes tienden a aumentar, es necesario desarrollar sistemas alternos para eliminarlos como la adición de carbón activado, el cual puede empacarse en medias de nylon y colocarse dentro de las canastillas de los sistemas de filtración y la instalación de un skimmer de más capacidad o uno similar a los ya instalados (Figura 16).

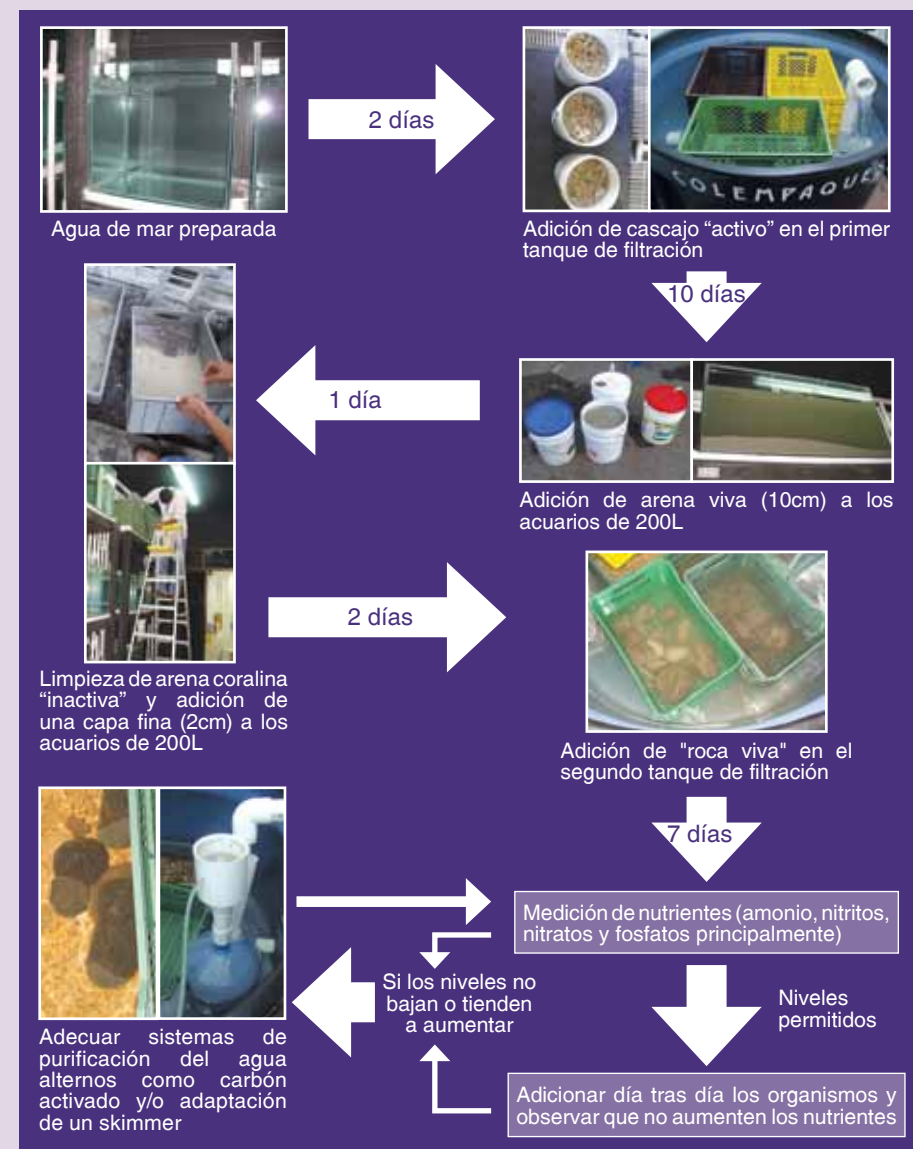


Figura 16. Protocolo utilizado para la maduración de agua de mar artificial.

2.5 Monitoreo y mantenimiento de la calidad de agua

Los parámetros físicos como: pH, temperatura, salinidad y los químicos que corresponden a las concentraciones de elementos disueltos en el agua, como oxígeno, amonio, nitritos, nitratos, fosfatos, deben mantenerse controlados ya que la variación puede llegar a producir daños en el sistema y en los organismos ocasionando incluso su muerte.

2.5.1 Oxígeno

La concentración de oxígeno es un parámetro de suma importancia para el mantenimiento de organismos en confinamiento. Es la resultante del equilibrio entre la velocidad de ingreso al agua y la difusión a través de la interface aire-agua de las burbujas en la superficie. Si la velocidad de entrada es mayor que la de salida, el oxígeno tiende a acumularse y se eleva su concentración. Si la velocidad de consumo es mayor que la de entrada, la concentración disminuye. La disminución ocurre rápidamente ya que el oxígeno es muy poco soluble en agua y por lo tanto, es muy poca la cantidad de oxígeno disuelto en condición de saturación (aproximadamente 6mg.L⁻¹). Cuando el oxígeno disminuye deberá compensarse con aeración o movimiento del agua, especialmente en la superficie. La concentración de oxígeno no debe ser menor al 60% del valor de saturación, el cual en el medio natural puede oscilar entre 1,0 y 8,5mg.L⁻¹, ya que depende de la temperatura y la salinidad. Para el LABBIP donde la temperatura oscila entre 25-27°C y la salinidad entre 29-37, la cantidad de oxígeno disuelto debe ser mayor o igual a 5,0mg.L⁻¹.

2.5.2 Salinidad

La concentración de sal en los océanos no es constante, y hace referencia a la salinidad del agua la proporción de materia sólida disuelta en ella. Su concentración en el mar tropical oscila entre 34 y 37 y en el LABBIP entre 29 y 37. Este parámetro es afectado por la temperatura, ya que su aumento significa una mayor solubilidad de las sustancias disueltas, pero su rango dependerá de los requerimientos de la especie que se cultive.

2.5.3 pH

El pH es la medida de acidez o alcalinidad de una sustancia. Su escala oscila del 0 al 14, donde los números del 0 al 7 indican soluciones ácidas, y del 7,1 al 14 indican soluciones alcalinas. En cuanto más ácida es una sustancia, más cercano su pH estará a 0, y cuanto más alcalina, más cercano estará a 14. Los animales marinos son extremadamente sensibles a los cambios de pH, los cuales pueden ser causados por diferentes motivos, uno de los más importantes es el balance del dióxido de carbono; cantidades excesivas de este gas, producto de una gran actividad biológica, reduce el pH debido a la formación de ácido carbónico. Este desbalance puede ser producto de una excesiva actividad metabólica, provocada por exceso de animales o de actividad bacteriana o por restos de comida. Un déficit de dióxido carbónico, puede ocurrir por exceso de algas, que producirá una subida de pH. El valor de este parámetro en aguas marinas oscila entre 7,6 y 8,4 y en el LABBIP entre 7,5 y 8,5.

2.5.4 Temperatura

La temperatura en los acuarios marinos juega un papel muy importante debido a las implicaciones que tiene en los procesos químicos tanto del sistema como de los organismos. La temperatura modifica los niveles de toxicidad de algunas sustancias, de absorción, de evaporación y afecta el crecimiento tanto de bacterias de los biofiltros como de los organismos de cultivo. Mantener la temperatura del agua constante es clave para el éxito del sistema, es conveniente tener un movimiento constante, para distribuir uniformemente la temperatura evitando la división en capas en los acuarios. En el LABBIP el agua del sistema de recirculación debe oscilar entre 22 y 30°C, siendo normal que varíe en el transcurso del día.

2.5.5 Nutrientes

Es fundamental para la buena calidad del agua, que ciertas concentraciones de nutrientes, resultantes de la degradación por adición de alimento y de los desechos producidos por los organismos, se mantengan en niveles apropiados que permitan garantizar la supervivencia y la estabilidad del sistema. En el LABBIP se controla la concentración de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos, con kits comerciales. Los rangos se relacionan en la Tabla 4.

Tabla 4. Rangos para las concentraciones permitidas de nutrientes usados en el LABBIP expresados en mg.L⁻¹.

Amonio	0	Nitritos	≤ 0,3
Nitratos	0 - 12	Fosfatos	≤ 0,1

Con el fin de mantener los valores de los parámetros fisicoquímicos en los rangos deseados, se estableció un monitoreo que incluye un sistema de alertas. En la Tabla 5 se relaciona el problema y las acciones propuestas para solucionarlo.

Tabla 5. Sistema de control de parámetros fisicoquímicos del LABBIP.

PARÁMETRO	VALORES	COLOR	¿QUE HACER?	
Oxígeno (mg.L ⁻¹)	≥ 5,6		Nivel óptimo.	
	5 – 5,5	Informar	Monitorear el valor de oxígeno cada hora para ver si continua disminuyendo. Revisar la limpieza y buen funcionamiento de los sistemas.	
	4 – 4,9		Aumentar la aeración. Iniciar un recambio de agua del 30%.	
	≤ 3,9		INMEDIATAMENTE realizar un recambio del 70%. Si el nivel no aumenta, empacar los peces en bolsas con oxígeno, listos para traslado.	
	24 - 27		Nivel óptimo.	
	27,1 – 28	Informar	Monitorear la temperatura cada hora para ver si continua aumentando. Revisar sistemas de calefacción y enfriamiento.	
	28,1 – 29		Realizar un recambio de agua. Utilizar el chiller.	
	≥ 29,1		Enfriar con hielo en contenedores sellados.	
	23,9 - 23	Informar	Monitorear la temperatura cada hora para ver si continua disminuyendo. Revisar sistemas de calefacción y enfriamiento, incluido el chiller.	
	22,9 - 22		Realizar un recambio de agua.	
T° del agua (°C)	≤ 21,9		Utilizar termostatos.	
	34 - 36		Nivel óptimo.	
	33,9 - 33	Informar	Iniciar un recambio de agua. Medir la salinidad continuamente, hasta llegar al valor deseado.	
	32,9 - 31		Agregar una mezcla concentrada de agua de mar artificial.	
	≤ 30,9		Si el nivel no aumenta, empacar los peces en bolsas con oxígeno, para su traslado.	
	36,1 - 37	Informar	Iniciar un recambio de agua del 30%. Medir la salinidad continuamente, hasta llegar al valor deseado.	
	37,1 – 37,9		Iniciar la adición de agua dulce, preferiblemente destilada o embotellada y mezclarla. Medir la salinidad continuamente, hasta llegar al valor deseado.	
	≥ 38		Empacar los peces en bolsas con oxígeno, listos para su traslado.	
	Salinidad			

Continuación de Tabla 5.

PARÁMETRO	VALORES	COLOR	¿QUE HACER?
pH	8 – 8,49		Nivel óptimo.
	7,99 – 7,60	Informar	Aumentar la aeración.
	7,59 – 7,20		Realizar un recambio de agua.
	≤ 7,19		Adicionar bicarbonato de sodio, carbonato de calcio o de magnesio.
	8,50 -8,79	Informar	Disminuir la aeración.
	8,80 – 9,09		Realizar un recambio de agua.
	≥ 9,10		Si el nivel no disminuye, empacar los peces en bolsas con oxígeno, listos para traslado.
	0		Óptimo.
			Óptimo.
			Óptimo.
Amonio NH ₃ (mg.L ⁻¹)	pH 7 – 7,5	Informar	Algunas especies pueden ser sensibles a este nivel. Buscar la fuente de producción. Iniciar un recambio de agua del 30%.
	≥ 0,5		Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50%. Medir nuevamente el amonio, si no han disminuido, repetir el proceso. Si el nivel no disminuye, empacar los peces en bolsas con oxígeno, para su traslado.
Nitritos NO ₂ (mg.L ⁻¹)	≤ 0,3		Óptimo.
	0,31 – 0,9	Informar	Buscar la fuente de producción. Iniciar un recambio de agua del 30%.
Nitratos NO ₃ (mg.L ⁻¹)	≥ 0,91		Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50%. Medir nuevamente el amonio, si no han disminuido, repetir el proceso. Si el nivel no disminuye, empacar los peces en bolsas con oxígeno, para su traslado.
	0 - 12		Nivel óptimo.
Fosfatos PO ₄ (mg.L ⁻¹)	13 - 25	Informar	Buscar la fuente de producción. Iniciar un recambio de agua del 30%.
	≥ 26		Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50%. Si el nivel no disminuye, empacar los peces en bolsas con oxígeno, para su traslado.
Fosfatos PO ₄ (mg.L ⁻¹)	≤ 0,1		Nivel óptimo.
	0,2 – 0,9	Informar	Buscar la fuente de producción. Iniciar un recambio de agua del 30%
Fosfatos PO ₄ (mg.L ⁻¹)	≥ 1		Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50%. Si el nivel no disminuye, empacar los peces en bolsas con oxígeno, para su traslado.

3. PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO

Uno de los factores limitantes en cualquier cultivo es la obtención y producción de alimentos que cubran todos los requerimientos nutricionales de las diferentes especies y que sean económicamente viables (Torretera y Tacon, 1989). Aunque resulta mucho más sencillo utilizar dietas inertes, muy pocos peces en las etapas iniciales de desarrollo lo aceptan y consumen con facilidad; además la mayoría de organismos marinos en esta etapa son muy pequeños y administrarles una dieta artificial con los nutrientes y el tamaño adecuado no es tarea fácil.

En un ambiente natural, la alimentación de las larvas de peces marinos se compone de una serie de redes tróficas que van variando a medida que el organismo se desarrolla. Para asegurar su supervivencia, las larvas deberán aprender a cazar su alimento, seleccionando presas de tamaños adecuados a su boca, de poco movimiento, fáciles de digerir y que además cubran los requerimientos nutricionales esenciales. La mayoría de las larvas de peces son cazadores planctónicos visuales sin importar los hábitos alimenticios que tendrán cuando sean adultos (Hunter, 1981); sin embargo en cautividad, la dieta de estos organismos se ha restringido a un grupo muy reducido de presas, tanto de agua dulce como marinos, los cuales son: microalgas, rotíferos, artemias y copépodos (Civera-Cerecedo *et al.*, 2004). En este documento se detallarán únicamente los cultivos con los cuales se realizó el mantenimiento de los caballitos y los loreto en sus diferentes etapas. Se tratarán de describir de la manera más sencilla y práctica, los procesos y técnicas para el mantenimiento y producción de los diferentes tipos de alimento vivo, así como las características biológicas generales que permitan el desarrollo exitoso de su cultivo.

3.1 Cultivo de microalgas

Las microalgas son un grupo de plantas unicelulares que en el medio marino constituyen el fitoplancton, su tamaño varía entre las 2 y 200µm, a nivel mundial se cultivan muchas especies (Tabla 6). La mayoría de especies cultivadas son auxotróficas, es decir que adicionalmente a la luz y presencia de CO₂, requieren sustancias orgánicas en muy baja cantidad para su desarrollo (Torretera y Tacon, 1989; Velasco *et al.*, 2008).

Tabla 6. Microalgas de mayor uso en acuicultura (Torretera y Tacon, 1989).

Familia	Especies
Bacillariophyceae	<i>Skeletonema costatum</i> , <i>Thalassiosira pseudonana</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i>
Haptophyceae	<i>Isochrysis galbana</i> , <i>Isochrysis sp.</i> , <i>Pavlova lutheri</i>
Chrysophyceae	<i>Tetraselmis suecica</i> , <i>Tetraselmis chuii</i>
Chlorophyceae	<i>Chlorella autotrophica</i> , <i>Chlorella saccharophila</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>
Chryptophyceae	<i>Chroomonas salina</i>
Cyanophyceae	<i>Spirulina sp.</i> , <i>Spirulina máxima</i>

En términos generales, las especies que se cultivan han sido seleccionadas por poseer un potencial para formar cultivos de abundante biomasa en poco tiempo, tamaño celular, alta digestibilidad y valor nutricional (Muller-Feuga, 2000); con respecto a este último punto, es clave conocer la composición química de las especies cultivadas, principalmente en aminoácidos y ácidos grasos esenciales, puesto que un alimento pobre en nutrientes, puede causar un desarrollo anormal y una muerte masiva de las especies de cultivo (Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón, 2001; Van Hauwaert *et al.*, 2007). Para nuestro caso, las especies seleccionadas para cultivar en el laboratorio son *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis* sp.

3.1.1 Especies utilizadas en el LABBIP

3.1.1.1 *Isochrysis galbana*

Son células ovoides entre 3 y 7µm con dos flagelos que les proveen movimiento; por su tamaño y debido a que es un flagelado desnudo es fácilmente digerible (Velasco *et al.*, 2008). Está compuesta de una alta proporción de lípidos y proteínas en comparación con otras microalgas, rica en ácido docosahexaenóico (DHA) pero deficiente en ácido eicosapentaenóico (EPA) (Tabla 7).

Tabla 7. Composición química de *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis* sp. (Tomado de: Sukenik *et al.*, 1993^a; Lavens y Sorgeloos, 1996^b; Barbosa, 2005^c; Helm *et al.*, 2006^d; Hu y Gao, 2006^e).

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis</i> sp.
EPA (%)	1,0 ^d	3,8 ^a
DHA (%)	12,0 ^d	0,0
Lípidos totales (%)	22,0 ^d	9±0,05 ^e
Proteínas (%)	28,1 ^c	30 ^b
Carbohidratos (%)	1,2 ^c	11±1,0 ^e
Usos ^b	Larvicultura de camarones, moluscos bivalvos, artemias	Larvas de moluscos bivalvos, artemias y rotíferos

3.1.1.2 *Nannochloropsis* sp.

Son células pequeñas (2-3µm) y redondas, sin flagelos. Es una especie euritermica y eurihalina de fácil adaptación (Velasco *et al.*, 2008). No contiene ácidos grasos DHA pero si mayor concentración de EPA que *Isochrysis galvana* (Tabla 7).

3.1.2 Dinámica de crecimiento

Según Lavens y Sorgeloos (1996), el crecimiento de un cultivo de una sola especie o cultivo axénico está caracterizado por cinco fases, la duración de cada una puede variar de acuerdo con las condiciones del cultivo y el tipo de especie (Figura 17). El éxito de la producción y calidad nutricional de cualquier cultivo radica en mantenerlo en la fase exponencial de crecimiento y utilizarlo como alimento antes que pase a la fase estacionaria y posteriormente de muerte.

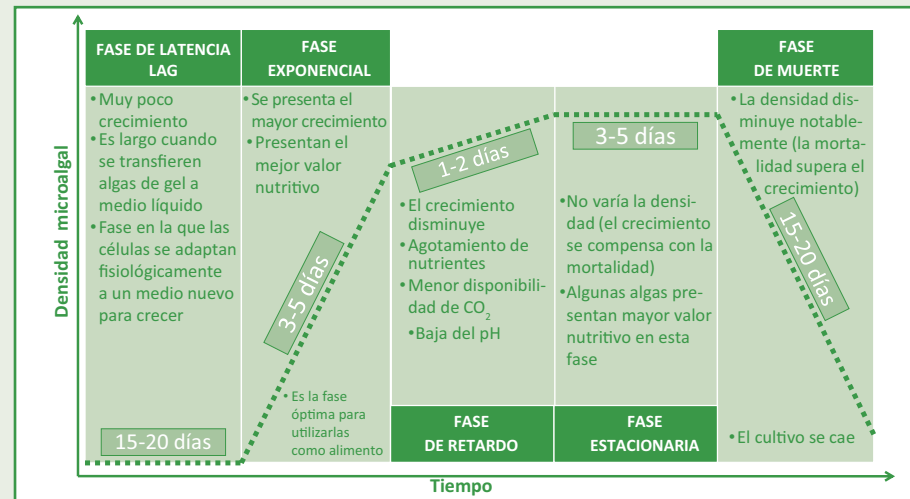


Figura 17. Fases de crecimiento de un cultivo microalgal.

3.1.3 Requerimientos particulares

El cultivo de microalgas requiere una **infraestructura** que incluya una zona de lavado, un mesón de trabajo y estanterías para ubicar los cultivos en dos áreas: cepario y cultivo masivo. El cepario: es donde se trabaja el stock primario de algas en pequeños volúmenes que van de 10-1.000mL (Figura 18A), puede ser un espacio de 2-4m², donde se ubique una estantería con iluminación, un microscopio en una mesa de trabajo y dependiendo del clima un aire acondicionado, ya que la temperatura debe mantenerse entre los 18-20°C (Torrentera y Tacon, 1989; Velasco *et al.*, 2008).

En el cultivo masivo se trabajan volúmenes superiores a 1L y requiere un área mayor, la cual depende de la producción, para este caso se trabajó en un espacio de 5m², con un lavaplatos y un mesón de trabajo de 1m (Figura 18B), la temperatura puede ser más alta (20-26°C), incluso los cultivos se realizan a la intemperie utilizando iluminación natural y si la temperatura es muy alta (>28°C), se usa polisombra, ya que la iluminación y el control de temperatura artificial incrementa los costos de producción.



Figura 18. Área de microalgas. Cepario (A) y cultivo masivo (B).

Para los cultivos monoespecíficos es fundamental contar con un adecuado sistema de **filtración**; el agua de mar, debe estar libre de cualquier partícula, contaminante u organismo, por lo que es necesario tratar de eliminar este tipo de componentes (Velasco *et al.*, 2008). En el LABBIP el sistema cuenta con filtros que retienen partículas mayores a 10µm, pero el área específica de microalgas debe contar con filtros que retengan partículas hasta de 1µm y un sistema de esterilización UV acorde con el caudal requerido. Existen otros métodos como ozonización o cloración para lo cual se deben tomar otro tipo de medidas.

La **aeración** se usa para los cultivos masivos y genera el movimiento para realizar la mezcla necesaria para prevenir la sedimentación de las algas, de esta manera se asegura que cada célula del cultivo esté expuesta a la luz y los nutrientes suministrados, mejora el intercambio de gases y evita una estratificación térmica en el caso de cultivos en áreas externas (Lavens y Sorgeloos, 1996). Ésta deberá ser provista por el blower y se recomienda el uso de filtros de 0,5µm en la succión.

El montaje de la tubería de aeración puede hacerse con tubería de PVC de presión de ½". Generalmente en climas cálidos se presenta condensación del vapor de aire que se transporta en las tuberías que atraviesan zonas mantenidas a baja temperatura, esto puede dar lugar a proliferación de algas verde-azules, protozoarios o bacterias que pueden pasar al cultivo (Velasco *et al.*, 2008); por lo que se recomienda instalar al final de cada sección una llave de paso que permita drenar el agua que se condensa en las tuberías y que éstas estén levemente inclinadas para encausar fácilmente el agua como se detalla en la Figura 19. Los puntos de aeración para cada recipiente deben ser individuales, y salen de la tubería mediante una pequeña válvula o llave que servirá para regular la intensidad de aire, conectada a una manguera y un pitillo que es el que finalmente se ubica dentro del agua con las microalgas (Figura 19).



Figura 19. Montaje del sistema de aeración en el área de cultivo masivo.

Las **estanterías** pueden ser plásticas o de madera, ya que cualquier metal se oxida fácilmente con el agua salada, el material utilizado en el

laboratorio fue "madera plástica" y los muebles se diseñaron de acuerdo a las necesidades y las condiciones de cada área. Cada nivel debe contar con iluminación y en el caso del cultivo masivo, con varios puntos de aeración (Figura 20).



Figura 20. Estanterías ubicadas en el cepario (A) y el cultivo masivo (B).

Los **recipientes de cultivo** deben ser de materiales no tóxicos, preferiblemente lisos y de fondo plano para evitar la sedimentación de las microalgas. En el LABBIP se utilizan para el mantenimiento de las cepas, cajas de Petri, tubos de ensayo de 20mL y frascos de vidrio de 100, 200, 500 y 1.000mL, en el cultivo masivo se emplean bomboneras de vidrio de 4L y tanques plásticos de 20L (Figura 18 y Figura 19).

3.1.4 Desinfección

Cuando se manejan microalgas se debe tener total asepsia, las áreas deben estar siempre limpias y secas y deben utilizarse para uso exclusivo del cultivo. Sin importar el tipo de técnica que se aplique, se debe lograr un cultivo libre de bacterias, estableciendo que los lugares donde se realicen todos los procesos sean sitios totalmente desinfectados, sobre todo en el mantenimiento de las cepas, siembra y enriquecimiento; es necesario continuamente secar y desinfectar el piso y las estanterías de cultivo con una mezcla de agua clorada a 500ppm, evitar la formación de charcos o dejar recipientes sucios en los mesones de trabajo.

Estas son algunas medidas para disminuir el riesgo de contaminación por agentes infecciosos (Torrentera y Tacon, 1989; Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón, 2001):

- Antes de entrar a las áreas de cultivo usar el lava-pies con una concentración de agua clorada a 500ppm, solución que debe renovarse diariamente.
- Revisar y limpiar el sistema de aeración, una vez por semana, debido a que puede ser una entrada de agentes bacterianos o fúngicos.
- El piso debe ser lavado con agua clorada todos los días.
- Las áreas intermedias de cultivos deben ser lavados, al igual que las partes exteriores, evitando que queden pequeños charcos en el piso.

- Usar autoclave para esterilizar volúmenes menores de 1L.
- Para volúmenes mayores a 20L, se pueden clorar el agua con hipoclorito de sodio (NaClO), aunque se aconseja usar lámparas UV.
- Todo material debe ser individualizado para área, tanque o recipiente.
- El material de vidrio se debe lavar y esterilizar adecuadamente, si no se cuenta con un horno, se puede mantener limpio lavando con abundante agua dulce y dejarlo con NaClO (100ppm) de un día para otro, posteriormente enjuagar con abundante agua y purgar con ácido clorhídrico diluido, después lavar con abundante agua, finalmente lavar con agua destilada o desionizada, secar y guardar si no se utiliza.
- La limpieza de los cartuchos de los filtros debe realizarse a presión con agua dulce caliente, sin hipoclorito de sodio. El porta-cartucho debe limpiarse una vez a la semana con NaClO y bastante agua dulce.
- Las mangueras o material plástico debe ser marcado y lavado con NaClO a 500ppm, enjuagar y colocar al sol.
- Las bolsas de polietileno que se usen en el cultivo después de cada uso deben ser desechadas.
- Lavar los tanques al final de la cosecha, con cepillos y agua con hipoclorito de sodio (500ppm), finalmente exponerlos al sol.

A continuación se describen las medidas asépticas adicionales que se practican en el LABBIP para el cultivo de microalgas:

- El acceso al laboratorio debe hacerse con bata y zapatos cerrados secos.
- Antes de cualquier procedimiento en el cultivo el personal debe lavarse las manos y posteriormente rociarlas con una mezcla de agua y alcohol.
- Todo el material utilizado es lavado con una mezcla de detergente, cloro y agua, se enjuaga y se deja secar completamente.
- Además de la filtración general, el área de microalgas cuenta con dos filtros de cartucho (5 y 1µm) y una lámpara UV de 30W (Figura 18B).
- El agua en volúmenes menores a 1L se autoclava; para volúmenes mayores se toma del montaje de filtros de cartucho y UV.
- Los frascos hasta de 1L son autoclavados, las pipetas luego de ser lavadas y estar secas se envuelven en papel craft y son desinfectadas en un horno a 105°C durante una hora.
- Una vez secos, la boca de todos los recipientes es recubierta con papel aluminio hasta su uso.
- Los cartuchos de 5 y 1µm son lavados cada 15 días con agua dulce a presión y secados al sol. Se registra el uso de la lámpara UV. Se recomienda realizar pruebas microbiológicas al sistema de cartuchos y UV para medir su efectividad por lo menos cada seis meses.
- No se utilizan piedras aireadoras o difusoras, en vez de ello se usan pitillos desechables para airear los cultivos.

3.1.5 Condiciones físicas y químicas particulares

Los principales parámetros que regulan el crecimiento de las algas son: cantidad y calidad de luz, pH, salinidad, temperatura, nutrientes y la aeración,

la cual se describió en el apartado 3.1.3 (Lavens y Sorgeloos, 1996; Torrentera y Tacon, 1989).

La **iluminación** es un factor primordial, ya que el crecimiento algal está ligado directamente al proceso fotosintético, la luz es el recurso energético por eso es necesario tener en consideración la intensidad, espectro y fotoperíodo a manejar. La intensidad lumínica juega un papel importante, pero los requerimientos varían dependiendo de la profundidad del cultivo y la densidad, por ejemplo 1.000 lux son suficientes para frascos erlenmeyer, pero se requieren 5.000 a 10.000 lux para grandes volúmenes (Lavens y Sorgeloos, 1996). En el cepario la luz debe ser artificial, pero en el cultivo masivo, dependiendo de las condiciones que se tengan, se puede utilizar luz natural. Los tubos fluorescentes emiten un espectro de luz entre el rojo y el azul, siendo ésta la porción más activa del espectro utilizado para la fotosíntesis (Lavens y Sorgeloos, 1996). En el laboratorio se usan tubos fluorescentes T8 (la cifra corresponde al diámetro del tubo, en octavos de pulgada) de luz blanca fría de 30W y la cantidad de iluminación varía dependiendo del volumen del recipiente de un solo tubo o dos en el cepario, hasta tres o cuatro para tanques de 20L.

El **pH** para la mayoría de especies cultivadas se mantiene en el rango entre 7-9, con óptimo entre 8,2-8,7. Un cultivo completo puede llegar a colapsar por la interrupción de muchos procesos celulares, consecuencia de un pH indebido. Una manera de mantener el pH es mediante la aeración del cultivo, en el caso de cultivos en grandes volúmenes y densidades se recomienda la adición de dióxido de carbono para disminuir el aumento de pH el cual puede alcanzar valores mayores a 9 durante el crecimiento algal (Torrentera y Tacon, 1989; Lavens y Sorgeloos, 1996).

El fitoplancton marino es tolerante a los cambios de **salinidad** y muchas especies crecen mejor a una salinidad un poco menor que en la que naturalmente se encuentran. Algunos autores manejan amplios rangos (Tabla 8); pero de acuerdo a los resultados del LABBIP, se estableció el rango de salinidad entre 34 y 37.

Tabla 8. Condiciones generales para el cultivo de microalgas.

Parámetro	Rango óptimo (Lavens y Sorgeloos, 1996)	Rango óptimo (Torrentera y Tacon, 1989)	Rango óptimo LABBIP
Temperatura (°C)	18-24	15-22	20-22 (cepario) 22-26 (masivo)
Salinidad	20-24	37	34-37
Intensidad lumínica (lux)	2.500-5.000	2.000-4.000	dependiendo del volumen y la densidad
Fotoperíodo (horas luz: oscuridad)	16:8 (mínimo) 24:0 (máximo)		10:14 (mínimo) 24:0 (máximo)
pH	8,2-8,7	7-9	7,6-8,5

La **temperatura** óptima para un cultivo puede variar ampliamente por factores como la composición del medio de cultivo, las especies cultivadas y la resistencia de las cepas. De acuerdo con Lavens y Sorgeloos (1996), las especies más comunes de microalgas toleran temperaturas entre 16-27°C, temperaturas menores de 16°C ocasionan un crecimiento lento así

como mayores de 35°C son letales para ciertas especies. Los parámetros óptimos y los rangos de tolerancia son específicos de cada especie y varían dependiendo de las condiciones *in situ* en que se realicen los cultivos, la Tabla 8 detalla de manera general estas condiciones.

3.1.6 Medios de cultivo

Las microalgas como cualquier organismo vivo, requieren nutrientes esenciales para crecer, reproducirse y desarrollarse; dependiendo de las especies los requerimientos nutricionales varían y esto ha hecho que en el mercado exista gran diversidad de medios de cultivo desarrollados para mejorar el crecimiento algal; en la Tabla 9 se relacionan algunos de los más utilizados. La formulación de los medios puede encontrarse en cualquier manual para el cultivo de microalgas (Torrentera y Tacon, 1989; Lavens y Sorgeloos, 1996; Blanco, 1991; Velasco *et al.*, 2008).

Tabla 9. Principales medios nutritivos para cultivo de algas.

MEDIOS DE CULTIVO	USO	FUENTE
Agua de Miguel	-	Allen y Nelson (1910)
Erdshreiber	Algas unicelulares y macroalgas	Foyn (1934a y b)
Guillar y Rhyter	Para cultivo masivo de clorofíceas marinas	Parsons <i>et al.</i> (1961)
Yashima	Comúnmente utilizado en algas marinas	SISFFAA (1964)
Provasoli	Comúnmente utilizado en algas marinas	Provasoli (1968)
Yanase e Imai	Para <i>Monochrysis lutheri</i> , <i>Platymonas</i> sp., <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i>	Yanase e Imai (1968)
Walnee	Usado para un gran número de algas unicelulares marinas	Walne (1970)
Chu 10 (modificado por Gerloff)	Aislamiento de microalgas de hábitat oligo y eutrófico, algas de origen dulceacuícola	Umebayashi (1975)
Yashima modif	-	Hirata (1975)
Guillar F/2	Usado para gran número de especies unicelulares, algunas bénticas marinas	Stein (1979)
Guillar agua dulce	Para algas de origen dulceacuícola	Stein (1979)
Met 44	Para microalgas marinas de la familia bacilariofíceas	Schöne y Schöne (1982)

Además de los medios líquidos, las microalgas pueden crecer en medios sólidos, para su preparación se agregan entre 7 a 10g de agar nutritivo por cada litro de medio líquido preparado, se esteriliza en autoclave (15psi por 15 minutos), dejándolo enfriar entre 35 a 40°C, se le añaden las vitaminas, se homogeniza y se depositan entre 10 a 20mL en cajas de Petri o tubos de ensayo inclinados. Este tipo de cultivo permite el crecimiento lento de las microalgas en forma de colonias, siendo utilizado para el mantenimiento de las cepas en su forma más pura (Velasco *et al.*, 2008).

Aunque los medios analíticos aseguran el mantenimiento del cultivo, los costos son muy elevados, en el LABBIP solo se utiliza F/2 para el mantenimiento del cepario en cajas de Petri y tubos de ensayo; para mayores volúmenes se utiliza el medio Kent Marine pro-culture®. Existen otras alternativas de medios hechos con base en fertilizantes orgánicos, triple 15, tierra o humus.

3.1.7 Inoculaciones y mantenimiento del cultivo

Las algas pueden ser producidas utilizando una variedad de métodos que van desde los controlados totalmente en laboratorio, hasta los métodos más sencillos en áreas externas. La técnica de cultivo utilizada en el LABBIP es comúnmente conocida como cultivo en lotes o *batch*, en el cual se manejan varios cultivos de microalgas en recipientes de diferentes volúmenes, éstos se cosechan totalmente cuando las microalgas se acercan a su máxima densidad y se usan como inóculos para recipientes de mayor volumen (Lavens y Sorgeloos, 1996; Velasco *et al.*, 2008).

De acuerdo con Velasco *et al.* (2008), la inoculación es la siembra o transferencia de un pequeño volumen de cultivo de microalgas, a un medio de mayor volumen para dar inicio a uno nuevo. Se deben usar como inóculos únicamente cultivos sanos, para lo cual es necesario revisar al microscopio los cultivos que se van a utilizar, un cultivo sano debe tener las siguientes características (Figura 21):



Figura 21. Protocolo para el mantenimiento de las cepas de microalgas.

- Alta densidad.
- Crecimiento en fase exponencial.
- No tener espuma.
- No presentar precipitado.
- No estar contaminado por otras especies.
- Células intactas, de tamaño homogéneo y no deben estar agrupadas.

- Realizar conteos para determinar la densidad algal (Figura 22). Se recomiendan densidades de 1×10^6 cél.mL⁻¹ como inóculos para cultivos masivos (Paniagua *et al.*, 1989).
- Determinar el volumen del inóculo y medio de cultivo: esto depende de la densidad del cultivo, sin embargo se recomienda no diluir más de 100 veces la concentración del inóculo (Delgado, 1993). En la Tabla 10 se especifican las condiciones para el mantenimiento de los cultivos de *Isochrysis galbana* y *Nanochloropsis* sp. que se cultivan en el LABBIP.

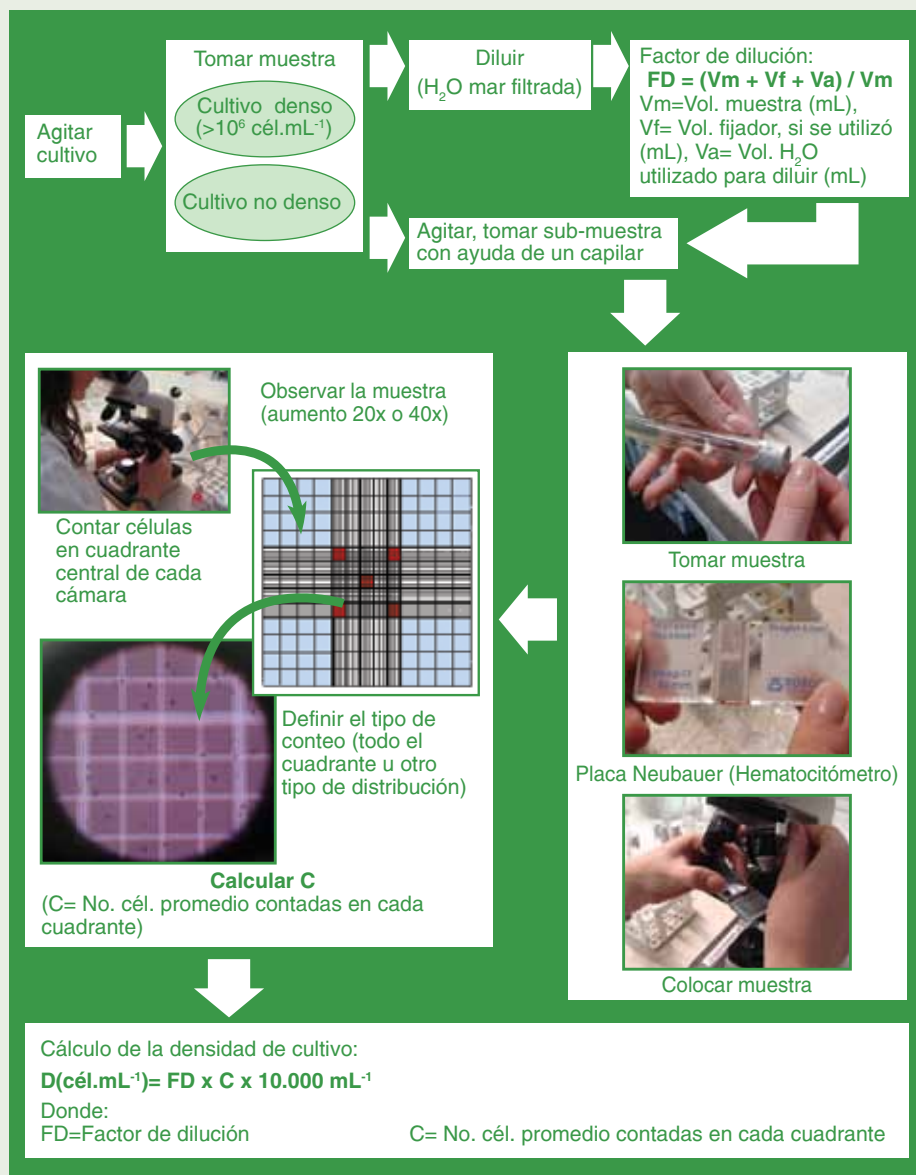


Figura 22. Protocolo para la determinación de la densidad algal.

Tabla 10. Descripción de las diferentes etapas del cultivo de microalgas en el LABBIP.

Tipo de recipiente	Secuencia del inóculo	Vol. (mL) inóculo	No. de inóculos	Medio usado	Preparación del medio de cultivo	Vol. (mL) de medio preparado	Vol. (mL) de agua añadido	Días de cultivo	Condiciones
Caja Petri	Cepa en agar	Toma de muestra con asa redonda	Barrido en zig-zag sobre agar	F/2	Agares ¹	20	-	30	- Fotoperíodo 24:0
Tubo de ensayo (15 o 20mL)	De caja de Petri a tubos de ensayo		Depende de la cantidad de colonias en el agar	F/2	Agua con F/2 ²	10	-	15	- H ₂ O mar autoclavada
Frascos de vidrio (100mL)	De tubos de ensayo a 100mL	10	De 1 tubo sale 1 frasco de 100mL (1:1)	Kent marine A y B	Agua con Kent Marine ³	80	-	8	- Sin aeración
Frascos de vidrio (250mL)	De 100 a 250mL	25	De un frasco de 100 salen 3 de 250mL (1:3)	Kent marine A y B	Agua con Kent Marine ³	150	-	8	- Control de T°
Frascos de vidrio (1L)	De 250mL a 1L	50	De uno de 250 de 1L (1:3)			20	800	3-4	
Bomboneros de vidrio (4L)	De 1 a 4L	200	De un frasco de 1L salen 3 de 4L (1:3)	Kent marine A y B	Agua con Kent Marine ⁴	88	3.500	3-4	- Fotoperíodo 24:0 o 10:14
Botellones plásticos (20L)	De 4 a 20L	3.700	De un frasco de 4L sale uno de 20L (1:1)			450	18.000	5-7	- H ₂ O mar filtrada

1= 1L de H₂O de mar microfiltrada (1µm) y 2g de agar nutritivo, la mezcla se coloca en una plancha calentadora para su homogenización, se autoclava (15 psi por 15 min), se deja reposar y cuando esté a temperatura ambiente se añaden 1mL de las soluciones de nutrientes mayores, metales traza y vitaminas, se vierte en cajas de Petri (20mL), se sellan con papel parafilm y se refrigeran de forma invertida.

2=En 1L de agua de mar autoclavada, se añaden 1mL de las soluciones de nutrientes mayores, mezcla de metales traza y mezcla de vitaminas.

3= En 1L de agua de mar autoclavada, se añaden 2mL de las soluciones Kent Marine A y B.

4= En 1L de agua de mar microfiltrada (1µm) y esterilizada con UV, se añaden 7,5mL de Kent Marine A y B. Se toma una alícuota de 25mL por cada litro de cultivo.

3.2 Cultivo de rotíferos

Los rotíferos (del latín *rota*, “rueda” y *fera*, “los que llevan”), son un grupo de organismos microscópicos entre los 0,1-0,5mm, compuesto por 2.200 especies distribuidas en diferentes hábitat semiacuáticos y acuáticos. Su cuerpo se encuentra diferenciado en tres partes (Figura 23): 1) La cabeza donde se ubica el órgano rotatorio o corona el cual es el origen de su nombre, con ella el animal es capaz de moverse y crear corrientes para atraer las partículas de comida, 2) El tronco, el cual contiene el tracto digestivo, sistema excretor y genitales y 3) El pie para adherirse al sustrato (Ortega, 1991; Lavens y Sorgeloos, 1996; Brusca y Brusca, 2003).

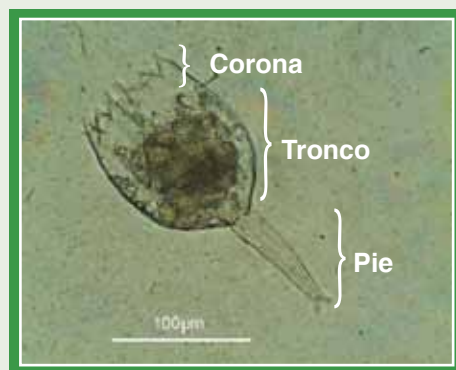


Figura 23. Partes del cuerpo de *Brachionus plicatilis*, cultivado en el LABBIP.

En los años 60 empezaron a considerarse por sus características de desarrollo, facilidad de cultivo y aporte nutricional, como una alternativa alimenticia en acuicultura. Son muy importantes en la fase larval de muchas de las especies actualmente cultivadas por varias razones (Torrentera y Tacon, 1989; Lavens y Sorgeloos, 1996; CENAIM, 2010):

- Son de tamaño intermedio entre las microalgas (<20µm) y los nauplios de artemia ($\pm 500\mu\text{m}$), su pequeño tamaño permite que las larvas puedan ingerirlos, antes de poder comer los nauplios de artemia.
- Por ser filtradores no selectivos, pueden ser fácilmente enriquecidos (Zhang *et al.*, 2005; Srivastava *et al.*, 2006; Suchar y Chigbu, 2006).
- Tienen la habilidad de permanecer suspendidos en la columna de agua.
- Presentan un movimiento lento, lo cual facilita su captura.
- Presentan altas tasas de reproducción.
- Es posible cultivarlos a densidades bastante altas, en diferentes estudios realizados se han reportado densidades entre $2.500 \text{ rot.mL}^{-1}$ (Suantika *et al.*, 2000) hasta $16 \times 10^5 \text{ rot.mL}^{-1}$ (Yoshimura *et al.*, 2003).

Pocas especies del género *Brachionus* son cultivadas masivamente y se clasifican en dos morfotipos: *Brachionus rotundiformis* o rotíferos pequeños (Tipo S, con 100 a 210µm de tamaño) y *B. plicatilis* o rotíferos grandes (Tipo L, entre 130-340µm de talla) (Lavens y Sorgeloos, 1996).

3.2.1 Especies utilizadas en el LABBIP

En el LABBIP sólo se cultiva *B. plicatilis*. Esta especie se reproduce por dos vías: 1) partenogénesis femenina, que es la manera más rápida de reproducción y la más importante para la producción intensiva de rotíferos y 2) sexual, la cual se presenta en condiciones ambientales generalmente desfavorables (CENAIM, 2010). Existen factores exógenos y endógenos que inducen el paso de la fase partenogenética a la sexual, entre los primeros se encuentran la densidad del cultivo y variaciones o cambios bruscos de los parámetros ambientales como temperatura o salinidad y entre los segundos, la edad del cultivo (Ortega, 1991).

El ciclo de vida ha sido estimado entre 3,4-4,4 días a 25°C, generalmente la larva se convierte en adulta después de 0,5-1,5 días, posteriormente las hembras empiezan a producir huevos cada cuatro horas, una hembra puede producir hasta 10 generaciones de rotíferos antes de morir (Lavens y Sorgeloos, 1996). Las hembras ovadas se distinguen fácilmente al microscopio o el estereoscopio, ya que sus huevos, ubicados inmediatamente después del tronco, son bastante grandes (Figura 24), en el laboratorio cuando el cultivo se encuentra en su mejor momento, se han observado hembras hasta con cuatro huevos.

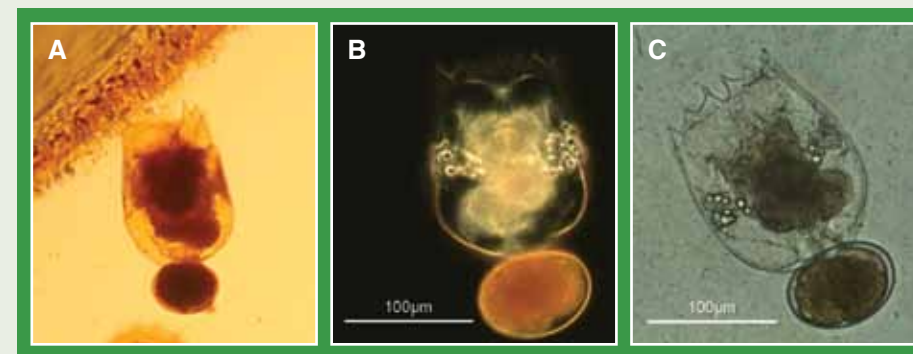


Figura 24. Hembra ovada de *B. plicatilis* observada en el estereoscopio (A), y en el microscopio en aumentos de 10x (B) y 40x (C).

3.2.2 Dinámica de crecimiento

Brachionus plicatilis presenta un crecimiento similar a una curva exponencial en la que se destacan cuatro fases principales: latencia, aceleración, crecimiento exponencial y decrecimiento (Ortega, 1991). En la Figura 25 se describen cada una de las fases, obtenida en los cultivos realizados en el LABBIP.

Al igual que en las microalgas, el éxito del cultivo radica en mantener por el mayor tiempo posible la fase exponencial, que puede extenderse por meses, si se realiza correctamente la limpieza y el mantenimiento.

3.2.3 Requerimientos particulares

El cultivo de rotíferos requiere una **infraestructura** con un área de 3 a 4m², dependiendo del tamaño de los tanques, separada del área de cultivo de artemia. Debido a la frecuencia y a la manera de realizar las labores de

limpieza, es una zona de alta humedad que requiere toma de agua de mar, zona de lavado, y desagüe de fácil acceso (Figura 26). El área de cultivo necesita **iluminación**, la cual puede ser natural o artificial, en el caso de esta última debe ser constante pero no muy intensa. En el LABBIP para los dos tanques, se utiliza una lámpara de luz blanca de 30W (Figura 26). También es importante contar con filtración adicional a la del laboratorio para disponer de agua de mar filtrada al menos a $5\mu\text{m}$, para evitar la contaminación de los cultivos por otro tipo de organismos. Otro elemento importante para este cultivo es la **aeración**, la cual no debe ser fuerte, por que puede afectar la supervivencia del cultivo y puede ser provista por el blower o por bombas aireadoras para acuarios, con mangueras válvulas y piedras difusoras. Y finalmente la **temperatura**, la cual no debe variar mucho y mantenerse entre 26 y 27°C .

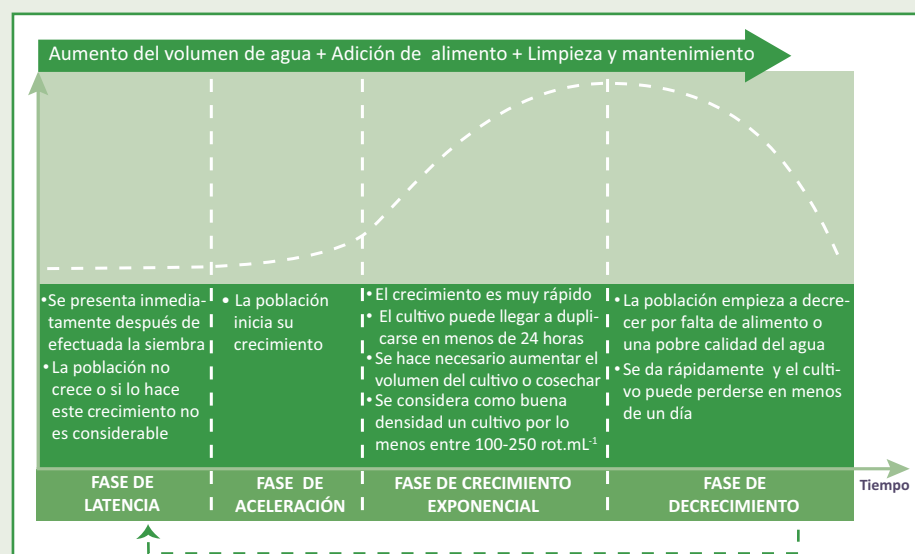


Figura 25. Caracterización de la curva de crecimiento de un cultivo de *B. plicatilis*.



Figura 26. Área para el cultivo de rotíferos *B. plicatilis* en el LABBIP.

El tamaño de los **recipientes** varía dependiendo de la producción, algunos de ellos son cónicos, con salida inferior para facilitar la limpieza, para cultivos masivos se utilizan tanques de cemento o fibra de vidrio entre 1 a 10m^3 (Ortega, 1991; Lavens y Sorgeloos, 1996) y en el caso particular del LABBIP se manejan dos tanques blancos fabricados en fibra de vidrio de 200L cada uno. Para cultivos pequeños, los recipientes de cultivo deben ser de color blanco o por lo menos que el fondo del tanque lo sea, ya que en el laboratorio se realizaron cultivos en recipientes de otros colores sin éxito. Dependiendo del diseño, se pueden llegar a necesitar estibas para darle altura a los tanques para facilitar los recambios de agua (Figura 26).

3.2.4 Desinfección

Es muy común que los rotíferos se contaminen con bacterias o ciliados provenientes del agua o de los cultivos de microalgas con los que se alimenten (Lavens y Sorgeloos, 1996), en ocasiones una contaminación con ciliados que no se trate a tiempo puede eliminar por completo un cultivo en cuestión de uno o dos días. Aunque el área donde se cultivan los rotíferos puede ser un espacio dentro o fuera del laboratorio, hay algunos cuidados que se deben tener en cuenta para obtener buenos resultados:

- El material de limpieza y mantenimiento es exclusivamente para este uso y deben lavarse y dejarse secar completamente.
- El agua de mar para cultivo, alimentación, mantenimiento y limpieza debe ser filtrada ($1-5\mu\text{m}$).
- La limpieza de los filtros debe efectuarse al menos cada quince días, con agua dulce sin cloro y dejarlos secar al sol.
- Las mangueras y piedras aireadoras se deben lavar periódicamente con hipoclorito de sodio (500ppm) y secarse al sol.
- Lavar los tanques con agua, jabón e hipoclorito de sodio al final de la cosecha o en caso de contaminación, enjuagar con abundante agua dulce y dejar secar al sol.

3.2.5 Condiciones físicas y químicas particulares

Brachionus plicatilis tolera un amplio rango de **salinidad** (1 a 97), sin embargo solo en rangos cercanos a 35 presentan la mayor tasa de reproducción. Si los rotíferos se utilizan para alimentar organismos a otras salinidades, es recomendable aclimatarlos ya que cambios bruscos pueden alterar su locomoción o provocarles la muerte (Lavens y Sorgeloos, 1996).

Aumentar la **temperatura** del cultivo usualmente incrementa la actividad reproductiva, pero aumenta los costos de producción ya que se requiere mayor cantidad de alimento y por ende mayor mantenimiento y limpieza del cultivo; utilizar temperaturas por debajo del rango óptimo, reduce la tasa de producción del cultivo (Lavens y Sorgeloos, 1996).

Se ha reportado que los rotíferos pueden llegar a sobrevivir en niveles de oxígeno hasta de 2mg.L^{-1} ; no obstante el nivel de oxígeno de un cultivo se encuentra relacionado con la temperatura, salinidad, densidad del cultivo y tipo y cantidad de alimento suministrado (Lavens y Sorgeloos, 1996); sin embargo este parámetro puede ser fácilmente controlado con **aeración**. En la Tabla 11 se detallan las condiciones que algunos autores recomiendan para el cultivo de *B. plicatilis* y las utilizadas en el LABBIP.

Tabla 11. Condiciones fisicoquímicas para el cultivo de *B. plicatilis*.

Parámetro	Ortega (1991)	Lavens y Sorgeloos (1996)	Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón (2001)	LABBIP
Temperatura (°C)	19-21	15-20	28-34	26-27
Salinidad	20-25	<35	20-25	32-34
Oxígeno disuelto (mg.L ⁻¹)	-	Rango mínimo de supervivencia: 2	5-7	≥5
pH	-	≥7,5	7,5-8,5	7,8-8,4

3.2.6 Inoculaciones y mantenimiento del cultivo

Algunos autores recomiendan mantener como en las microalgas, pequeños lotes a manera de “cepario”, en viales o tubos aislados para prevenir la contaminación por bacterias o ciliados y no poner en riesgo la producción, pero esto conlleva una carga adicional de trabajo, que debe considerarse, debido a las actividades de mantenimiento que requiere un cepario. En la Figura 27 se detallan las condiciones, dietas, inóculos, densidades y tiempo necesario para desarrollar un cultivo de rotíferos. El stock inicial de rotíferos puede ser obtenido del medio natural, de otros laboratorios o centros acuícolas, o adquirirlos en el mercado donde se comercializan en pequeños viales con 2.000 a 3.000 huevos enquistados; lo importante es asegurarse de que la población inicial sea pura.

**Figura 27.** Procedimiento para el cultivo de rotíferos *B. plicatilis*.

3.2.6.1 Determinación de la densidad del cultivo

Debido al rápido crecimiento y alta tasa de reproducción de los rotíferos, es necesario estimar diariamente la densidad de la población por tres razones principales: 1) conocer el estado del cultivo, 2) establecer la cantidad de alimento requerida para el día y 3) determinar de acuerdo con su densidad y estado, el tipo de manejo que se debe realizar.

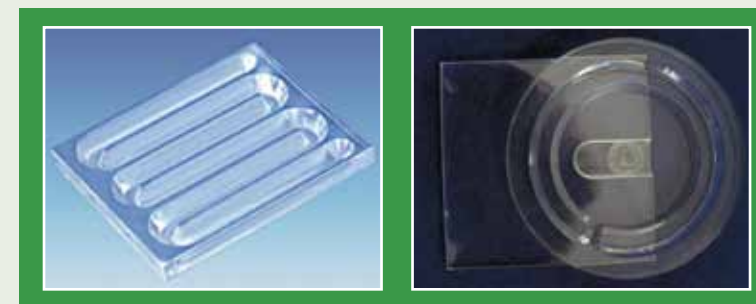
Para estimar la densidad se toma una muestra de 30-50mL del cultivo, cerca de la zona de aeración, en el LABBIP los conteos se realizan con placas Bogorov al estereoscopio (Figura 28) tomando una alícuota de 1mL, si el cultivo es muy denso se realizan diluciones de la manera que se detalla en la sección de microalgas (Figura 22). Antes de fijar la muestra, es importante observar a los rotíferos vivos para evaluar, de manera cualitativa su estado, motilidad, exceso de alimento en el agua, si hay alimento en el cuerpo, y si hay organismos contaminando el cultivo; posteriormente se fija con una o dos gotas de lugol y se realizan dos conteos: 1) número total de rotíferos en ese volumen y 2) número de hembras ovadas para realizar los siguientes cálculos:

$$\text{Densidad (rot.mL}^{-1}\text{)} = \frac{\text{No. total de rotíferos} \cdot \text{FD}}{\text{mL muestras}}$$

$$\text{Donde FD} = \frac{\text{Factor de dilución (mL)}}{\text{mL muestras}}$$

$$\% \text{ Fertilidad} = \frac{\text{No. de hembras ovadas}}{\text{Densidad}} \cdot 100$$

$$\text{Total rot (x } 10^6\text{)} = \text{Densidad de rot (rot.mL}^{-1}\text{)} \cdot \text{Vol. tanque (L)} \cdot 10^{-3}$$

**Figura 28.** Placas Bogorov para conteo de rotíferos.

3.2.6.2 Alimentación y enriquecimiento

En cuanto al tipo de dieta para el mantenimiento de un cultivo de rotíferos existen una amplia gama de productos que van desde alimento natural como las microalgas *Chlorella* sp., *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana* y *Nanochloropsis* sp., levadura de pan y probióticos (Ortega, 1991; Lavens y Sorgeloos, 1996; Douillet, 2000; Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón, 2001; Hoff y Snell, 2004; Peña-Aguado *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2008), hasta preparados comerciales (Cavalin y Weirich, 2009), algunos ricos en ácidos grasos poliinsaturados (Harel *et al.*, 2002; Ando *et al.*, 2004; Estudillo-del Castillo *et al.*, 2009), yodo o selenio (Hamre *et al.*, 2008).

Cuando el cultivo se realiza en volúmenes grandes la alimentación exclusivamente con microalgas se hace inviable, se recomienda entonces

adicionar levadura de pan (*Saccaromyces cerevisiae*) a un factor alimenticio de 0,7-1g por millón de rotíferos al día, dividida en por lo menos cuatro raciones (Ortega, 1991); este tipo de alimentación tiene muy poco valor nutritivo por lo que es necesario enriquecerlos antes de suministrarlos.

Las raciones, preparación y enriquecimiento de las dietas varían de acuerdo a cada autor, realizando enriquecimientos a corto o largo plazo (Torretera y Tacon, 1989; Ortega, 1991; Lavens y Sorgeloos, 1996; Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón, 2001). En el LABBIP se realizaron experimentos para determinar la dieta para el mantenimiento del cultivo y el porcentaje óptimo de alimentación, con enriquecimiento a largo plazo, es decir, los rotíferos pueden ser utilizados en cualquier momento como alimento, ya que su dieta es enriquecida todo el tiempo, los resultados se presentan en la Tabla 12. Se recomienda que antes de iniciar el cultivo masivo se pruebe si el producto es consumido por los organismos, si se produce un exceso de espuma en la superficie del cultivo o se deteriora la calidad de agua cada vez que se adiciona el alimento, se debe disminuir poco a poco la concentración hasta encontrar la adecuada.

Tabla 12. Dieta para el mantenimiento y enriquecimiento de rotíferos del LABBIP.

Ingrediente	Composición	% Inclusión en la dieta
Protein Selco Plus®	Proteína: 21%	30
	Lípidos totales: 45%	
	DHA/EPA: 2,5%	
	HUFA: 90 mg/g peso seco	
Alimento para pescado Sera Marin GVG-mix®	Vitaminas A, D3, E y C	50
	Proteína: 47,2%	
	Lípidos totales: 8,4%	
	Vitaminas A, D3, E, B1, B2 y C	
Emulsión de Scott®	Aceite de hígado de bacalao	20
	100% Vitaminas A y D	

Para densidades de cultivo menores a 150 rot.mL⁻¹ se recomienda alimentar diariamente con un factor alimenticio de 0,3g de dieta por cada millón de rotíferos; si la densidad es mayor o se observa acumulación de desechos en el fondo, disminuir a un factor de 0,2g de dieta por millón de rotíferos al día. Se puede usar un alimentador o suministrar de 3 a 5 raciones a lo largo del día.

Conociendo la densidad de rotíferos y el factor alimenticio se calcula:

$$\text{Total de alimento (g)} = \text{Total de rotíferos} \times 10^6 \times \text{Factor alimenticio}$$

A partir del total de alimento, se calcula la proporción de cada uno de los ingredientes de la dieta, la suma debe dar el total de alimento:

$$\text{Ingred X (g)} = \text{Total de alimento (g)} \times \% \text{ inserción en la dieta del ingred X}$$

Se pesan las cantidades requeridas de cada ingrediente y se licuan con agua de mar filtrada en no más de 150mL de agua por tres minutos, con esto se homogeniza mejor la mezcla y se muelen más finamente los ingredientes, se agrega el resto de agua y se licua por dos minutos más. El registro para el seguimiento y control del cultivo debe incluir: fecha, día de cultivo, densidad (rot.mL⁻¹), porcentaje de hembras ovadas, volumen del tanque (L), total de rotíferos (x10⁶), factor alimenticio, temperatura (°C), salinidad, motilidad, presencia de ciliados y observaciones.

3.2.6.3 Mantenimiento, limpieza y cosecha

El cultivo del LABBIP es de tipo semicontinuo donde los rotíferos son conservados en el mismo tanque por siete días. Se parte de un inóculo de 20L a una densidad entre 100-200 rot.mL⁻¹, se añaden 40L de agua de mar filtrada, durante los siguientes dos días se añaden entre 50-60L de agua diarios, cada vez que el cultivo alcance una densidad mayor de 150 rot.mL⁻¹, se realizan cosechas diarias o cada dos días de 30 a 50% del tanque, se adiciona agua para reponer el volumen y disminuir la densidad, el proceso se repite hasta el día séptimo, cuando el tanque se cosecha completamente y se lava con agua, jabón y cloro para iniciar un nuevo ciclo.

Cuando se requiere una limpieza parcial del tanque por acumulación de detritos, se siguen las recomendaciones de CENIACUA: se retira la piedra aireadora y se esperan 15 minutos para que los rotíferos se ubiquen cerca a la superficie, con una esponja y evitando producir mucho movimiento, se remueven los desechos de las paredes y del fondo del tanque, luego se realizan movimientos circulares desde el fondo del tanque, se espera 20 minutos para que los desechos se depositen y se abre la llave o sifonea el fondo del tanque, se repone el volumen con agua a la misma temperatura.

Para el proceso de cosecha o extracción de rotíferos del tanque se utiliza un filtro de 60µm sumergido parcialmente dentro de un balde con agua de mar, para evitar que los rotíferos queden secos o se lastimen. Con una manguera o llave en su parte inferior, se filtra el volumen deseado. Los rotíferos retenidos se enjuagan con abundante agua y luego se utilizan como alimento. La Figura 29 resume el manejo del cultivo de rotíferos.

Cuando se presenta deterioro del medio de cultivo por contaminación, mala calidad del agua, o se observa que los animales presentan un nado lento y no consumen alimento, es necesario hacer una renovación total del cultivo y lavar muy bien el tanque que se esté utilizando (Ortega, 1991).

3.3 Cultivo de artemia

Artemia es un género de crustáceos Branquiópodos conocidos vulgarmente como artemia de la cual se conocen hasta el momento 12 especies, son organismos ampliamente distribuidos que habitan las salinas costeras y lagos salados en todo el mundo. Su cuerpo en estado adulto mide entre 17-18mm y se encuentra diferenciado en tres partes (Figura 30): cabeza, tórax y abdomen; posee un par de antenas primarias que en los machos están hipertrofiadas y tienen forma de tenaza a fin de sujetar a la hembra durante la cópula, ojos pedunculados, 17 pares de apéndices y una furca, la hembra posee un ovisaco donde incuba sus huevos (Torretera y Tacon, 1989; Ortega, 1991; Brusca y Brusca, 2003).



Figura 29. Protocolo para el mantenimiento del cultivo de rotíferos *B. plicatilis*.

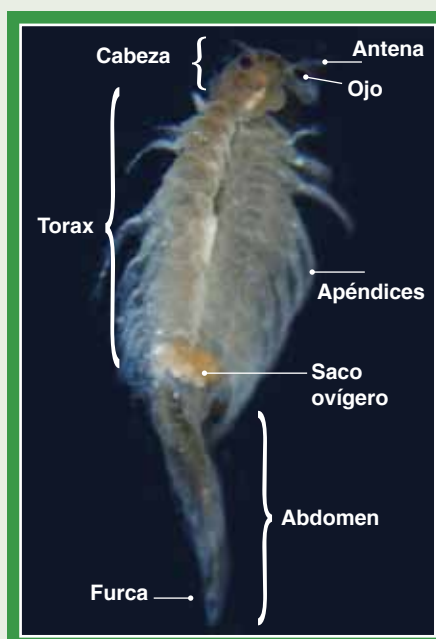


Figura 30. Partes del cuerpo de un ejemplar de *Artemia franciscana* del LABBIP.

Desde las primeras publicaciones sobre los beneficios nutricionales que poseían los nauplios, su primera forma larvaria, (Seale, 1933; Rollesen, 1939), las artemias se convirtieron en una de las dietas vivas más utilizadas en la larvicultura de peces y crustáceos cultivados. Aunque sus huevos pueden desarrollarse de forma normal, bajo condiciones adversas se presenta el fenómeno de criptobiosis (suspenden los procesos metabólicos y puede vivir hasta que las condiciones sean viables), en el cual se producen los quistes,

manteniéndose así tanto tiempo como permanezcan secos y al hidratarse, continuar su desarrollo normal a nauplios, en la actualidad, estos quistes son comercializados secos y envasados en latas al vacío (Torrentera y Tacon, 1989; Lavens y Sorgellos, 1996; Álvarez y Hernández, 2001; Brusca y Brusca, 2003).

La artemia presenta una serie de características que la hacen ideal como dieta viva entre ellas: es un crustáceo sin exoesqueleto rígido, lo que lo hace fácilmente digerible por las larvas, son organismos eurihalinos (pueden vivir en un amplio rango de salinidad) adaptables a variadas condiciones ambientales, los nauplios recién eclosionados son una fuente de alimento nutritiva. Posee un tamaño inicial al nacer de 400-500µm y después de 24 horas pueden alcanzar tamaños mayores de 600µm, pueden conservarse y almacenarse durante mucho tiempo, en menos de 24 horas se pueden decapsular los huevos y obtener una alta densidad de alimento vivo, se mantienen suspendidos en la columna de agua y poseen fototropismo positivo y por ser un filtrador no selectivo, puede ser enriquecido con una gran variedad de productos (Torrentera y Tacon, 1989; Brusca y Brusca, 2003).

3.3.1 Especies utilizadas en el LABBIP

En el LABBIP se cultiva *Artemia franciscana* de la marca Artemia Internacional®. Las artemias presentan reproducción sexual, sin embargo han sido encontradas hembras partenogénicas (reproducción basada en el desarrollo de células sexuales femeninas no fecundadas) en Europa y Asia. En la reproducción sexual, el macho “monta” a la hembra y la sujeta con sus antenas curvadas, es común observar a las parejas nadar de esta manera durante largo tiempo, los huevos fecundados se desarrollan en nauplios o se encriptan, dependiendo de las condiciones ambientales (Sorgeloo *et al.*, 1986). El ciclo de vida se detalla en la Figura 31.

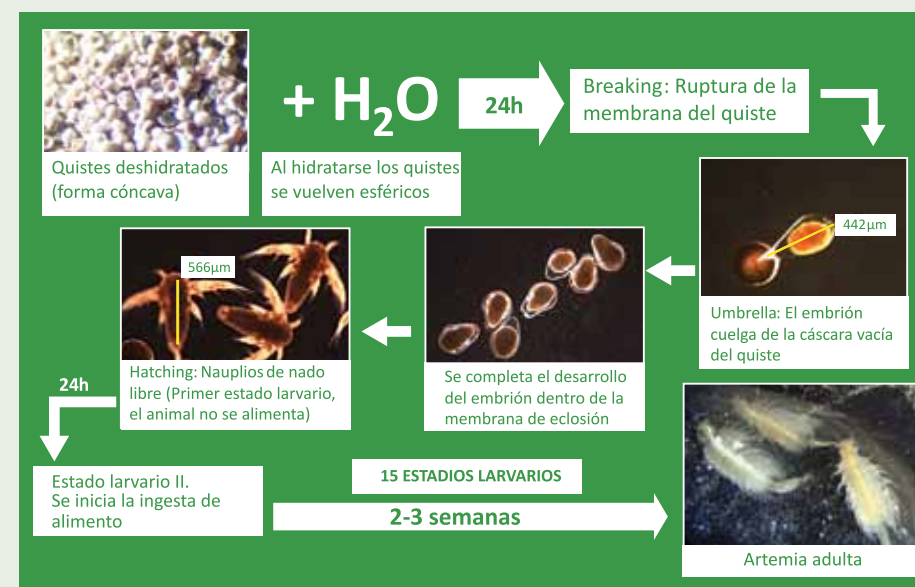


Figura 31. Ciclo de vida de las artemias a partir de huevos enquistados.

3.3.2 Requerimientos particulares

Existen una variedad de sistemas desarrollados para el cultivo intensivo de artemias que van desde tanques sencillos de varios miles de litros, sistemas *raceways* sin renovación de agua, hasta cultivos en circuito abierto donde el agua es continuamente renovada (Sorgeloos *et al.*, 1986), todo depende de las necesidades específicas de producción y presupuesto de los centros acuícolas. Para el LABBIP se desarrollaron varios sistemas tipo *batch* y a continuación se detallan algunos de los puntos a tener en cuenta al momento de instalar el cultivo (Figura 32). En cuanto a **infraestructura** el área debe contemplar dos secciones, una para la eclosión de los quistes y otra para el levante de la artemia, con suministro de agua de mar, zona de lavado y desagüe cercano, ya que las labores de limpieza y mantenimiento implican el uso de agua de mar todo el tiempo.

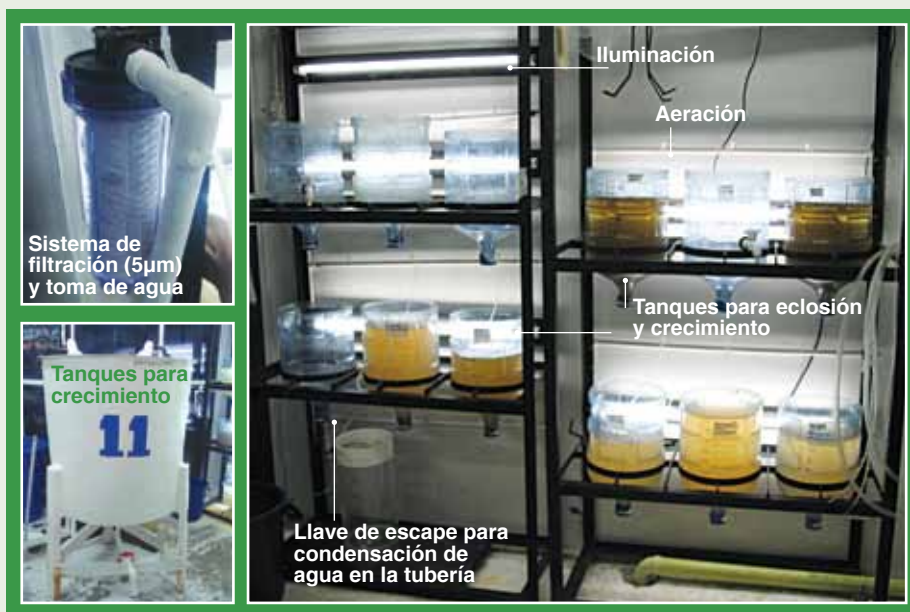


Figura 32. Área para el cultivo de artemias en el LABBIP.

Como las artemias presentan una alta tolerancia a la **temperatura**, si éstas se cultivan a la intemperie sólo es necesario el uso de polisombra, en lugares donde la temperatura ambiente sea muy alta. Tanto para la eclosión de las artemias como para el mantenimiento es necesario el uso de **aeración** fuerte, la cual será provista por el blower, a través del sistema de tuberías principales, y secundarias, de manera similar a las del área de microalgas, usando llaves de paso para controlar el flujo de aire, manguera para aeración y piedras difusoras (Figura 33).

Para el proceso de eclosión de la artemia se utilizan **estanterías** adecuadas para el tipo de **recipientes** o incubadoras de eclosión. Los mejores resultados para la eclosión de quistes se obtienen en recipientes de

forma cónica que permiten una mejor homogenización del agua mediante la aeración en el fondo, preferiblemente transparentes para facilitar el paso de la luz. Los recipientes pueden ser de diferentes volúmenes y materiales como fibra de vidrio, polietileno (Sorgeloos *et al.*, 1986; Ortega, 1991), o como en el LABBIP tanques plásticos de agua invertidos de 20L, con **iluminación** en cada nivel provista por una lámpara T8 de luz fría de 30W (Figura 32 y Figura 33).

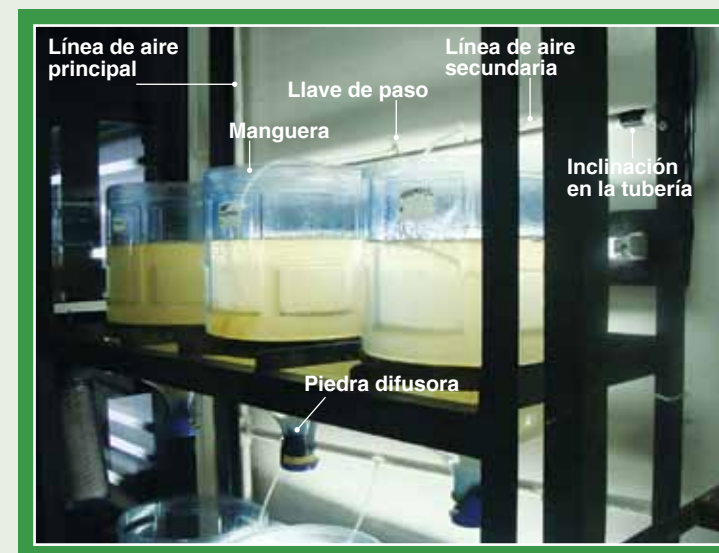


Figura 33. Montaje de aeración para el cultivo de artemias.

3.3.3 Desinfección

El cultivo de artemias no requiere como las microalgas o los rotíferos, condiciones asépticas especiales, solo tener en cuenta algunas recomendaciones básicas, que para tal fin se realizan en el LABBIP:

- El material utilizado en el mantenimiento y manejo es de uso exclusivo.
- Evitar la formación de charcos y después de realizar los recambios de agua, lavar con agua dulce y secar la zona de trabajo.
- Drenar el sistema de aeración por lo menos una vez al mes para evitar la acumulación de agua en la tubería.
- Los tanques grandes se deben lavar al final de la cosecha o cuando se considere necesario con cepillos y agua con hipoclorito de sodio (500ppm), dejar secar muy bien antes de utilizarlo nuevamente.
- Los tanques deben lavarse con agua dulce y jabón después de cada eclosión y guardarlos completamente secos.
- Las mangueras y piedras aireadoras se lavan con agua y jabón después de cada uso. Una vez al mes se lavan con una mezcla de agua, jabón y un poco de hipoclorito de sodio, dejándolas en remojo en un balde por una a dos horas, posteriormente se enjuagan varias veces con abundante agua y se dejan secar antes de volverlas a usar.

3.3.4 Criterios de eclosión

Los rendimientos de la eclosión se evalúan con los siguientes criterios: porcentaje de eclosión, tasa de eclosión y eficiencia de eclosión. El porcentaje de eclosión expresa el número de nauplios que pueden ser producidos a partir de 100 quistes hidratados y conteniendo un embrión, bajo condiciones estándar establecidas, sin incluir impurezas o quistes defectuosos (Sorgeloos *et al.*, 1986; Lavens y Sorgeloos, 1996).

La tasa de eclosión se refiere al tiempo desde que inicia la incubación (hidratación de los quistes), hasta la liberación del nauplio (Sorgeloos *et al.*, 1986; Lavens y Sorgeloos, 1996). El rango de tiempo recomendado varía dependiendo del producto desde unas pocas horas con la artemia High-5® (8h), hasta 24h como en la Artemia International®; sin embargo al igual que el cálculo anterior se recomienda realizar ensayos para las condiciones específicas del lugar. Para evaluar este parámetro se utiliza una cantidad conocida de quistes en un volumen determinado de agua y con un muestreo sistemático, se establece la cantidad de quistes, umbrellas y nauplios que se encuentran en la muestra; a medida que el porcentaje de nauplios aumenta y el de quistes disminuye se determina el tiempo apropiado para cosechar las artemias.

La eficiencia de eclosión es el número de nauplios que se producen a partir de 1g de quistes secos, cuando se incuban bajo condiciones estandarizadas (Sorgeloos *et al.*, 1986; Lavens y Sorgeloos, 1996). Este parámetro es muy útil para determinar la calidad de artemia, para establecerlo se coloca 1g de quistes en 1L de agua, después del proceso de eclosión se cuentan varias alícuotas y se determina la densidad de nauplios. Con la información del proveedor de la cantidad de quistes por gramo, se puede establecer el porcentaje de ese gramo que se convirtieron en nauplios. Algunos productos comerciales especifican la eficiencia de eclosión que se puede obtener con su producto, sin embargo es recomendable corroborar el dato en el laboratorio, un rango entre 70-80% es considerado bueno.

3.3.5 Condiciones físicas y químicas de la eclosión

La eclosión de quistes de artemia varía, dependiendo de las condiciones, la zona y los volúmenes manejados (pequeña, mediana o gran escala). La **iluminación**, al menos durante las primeras 24-48h después de hidratados mejora la eclosión, porque la luz tiene un efecto activador en el metabolismo de los quistes (Sorgeloos *et al.*, 1986; Ortega, 1991), se estima que con 2.000 lux se obtiene una buena eclosión (Salgado, 2001).

Los quistes antes de la eclosión, realizan un proceso de regulación hiperosmótica trealosa-glicerol; es decir, a medida que aumenta la **salinidad**, se necesita mayor concentración de glicerol para producir la eclosión, el proceso se hace más lento y el nauplio dispondrá al momento del nacimiento de menos reservas energéticas disminuyendo la eficiencia de eclosión y perdiendo calidad nutricional (Sorgeloos *et al.*, 1986). En los casos en que la disponibilidad de agua de mar es baja, es mejor preparar agua dulce con sal marina industrial hasta obtener la salinidad deseada.

Los quistes secos son muy resistentes a **temperaturas** extremas (-273 a 60°C), tolerando hasta 90°C si la exposición es breve. Una vez hidratados, su tolerancia disminuye, ocasionando una interrupción de su metabolismo por

debajo de -18°C y por encima de 40°C. El metabolismo activo se encuentra entre 4-32°C y los nauplios eclosionan en menor tiempo a medida que la temperatura aumenta (Sorgeloos *et al.*, 1986). Una vez hidratados, tienden a irse al fondo, originando zonas con déficit de oxígeno y mal iluminadas en donde no pueden eclosionar, es por ello que una **aeración** fuerte, sumada a la forma de la incubadora contribuyen a la oxigenación y a que los quistes se mantengan en suspensión (Ortega, 1991). En la Tabla 13 se definen algunas de las condiciones fisicoquímicas para obtener una buena eclosión.

Tabla 13. Condiciones generales para eclosión de quistes de artemia.

Parámetro	Sorgeloos <i>et al.</i> , 1986	Lavens y Sorgeloos, 1996	Ortega, 1991	LABBIP
Temperatura (°C)	25-30	25-28	28-30	25-28
Salinidad	5	5-35	28-30	15
Luz	2 tubos de 40W	2.000 lux en la superficie del agua	1 tubo encima del tanque	1 tubo de 30W en tanques de 20L
Oxígeno (mg.L⁻¹)	>2	5	>1	5-7
pH	>8	>8	8,0-8,2	7,95-8,40

3.3.6 Producción de artemias

3.3.6.1 Eclosión y cosecha de nauplios

En el laboratorio se manejan dos marcas de artemia, High-5® de INVE y Artemia Premium International® que solo requieren hidratación; aunque cada producto viene con especificaciones para la eclosión, después de varios ensayos se obtuvieron los mejores resultados usando los parámetros fisicoquímicos indicados en la Tabla 13. Luego de parar la aeración, las cáscaras vacías quedan flotando en la superficie y éstas deben desecharse; los nauplios y quistes que no eclosionaron se concentran en el fondo del tanque, el cual se sifonea para realizar la cosecha. Para hacer más efectiva la separación de los huevos, se enfoca una luz hacia el fondo con lo cual los nauplios por fototropismo positivo se concentran en un punto (Lavens y Sorgeloos, 1996). Una vez se han colectado las artemias en el filtro de 125µm, la porción de huevos retenida en el filtro de 200µm es nuevamente colocada a eclosionar por otras 24 horas para colectar los nauplios que no habían eclosionado y con ello aprovechar al máximo el producto, repitiendo el proceso de sifoneo y separación para finalmente descartar los quistes que no eclosionaron (Figura 34).

En el LABBIP se manejan cultivos en lotes tipo *batch* en el cual se utilizan tanques de 20L y tanques blancos cónicos de 500L, los nauplios cosechados son mantenidos en estos tanques por diferentes períodos de tiempo, de acuerdo con el tamaño de alimento requerido (Figura 35).

Se recomienda un tiempo no mayor a 17h de eclosión para obtener mayor porcentaje de nauplios recién eclosionados, especialmente cuando los caballitos están recién nacidos y su tamaño de boca es muy pequeño, si las crías ya tienen una semana de edad, la artemia puede eclosionarse después de 24h, donde ya los nauplios presentan un mayor tamaño.



Figura 34. Protocolo para la eclosión y cosecha de nauplios en el LABBIP.



Figura 35. Protocolo para el mantenimiento de las artemias en el LABBIP.

3.3.6.2 Alimentación y enriquecimiento

Existen muchos estudios sobre los procesos de enriquecimiento y dietas para mejorar el valor nutritivo de la artemia, la gama de productos contienen componentes muy variados como diferentes especies de microalgas, ingredientes de origen vegetal como soya y arroz, levaduras, preparaciones de emulsiones, ingredientes ricos en HUFA (Highly unsaturated fatty acids, ácidos grasos altamente insaturados) y dietas microencapsuladas (McEvoy *et al.*, 1995; Evjemo y Yngvar, 1999; Naegel, 1999; Han *et al.*, 2000; Olsen *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2002; Ritar *et al.*, 2004; Figueiredo *et al.*, 2009).

En el LABBIP se manejan tres tipos de alimento para las artemias: la microalga *Isochrysis galbana*, la microalga *Spirulina* en polvo (2,5g.L⁻¹ H₂O mar filtrada) y una mezcla preparada con los ingredientes de la Tabla 14.

Tabla 14. Dieta para enriquecimiento de *A. franciscana* utilizada en el LABBIP.

Ingrediente	Composición	% Inclusión
Alimento para pescado Sera Marin GVG-mix®	Proteína: 47,2%	30
	Lípidos totales: 8,4%	
	Vitaminas A, D ₃ , E, B ₁ , B ₂ y C	
Harina 7 granos (maíz, arroz, trigo, avena, cebada, soya, lenteja)	Proteína: 2g	20
	Lípidos totales: 1%	
	Carbohidratos: 4%	
	Fibra: <1g Azúcares: 1g	
Harina de arroz	Vitaminas A, C, calcio y hierro	15
	Proteína: 2g	
	Lípidos totales: 1%	
Emulsión de Scott®	Carbohidratos: 4%	15
	Fibra: <1g Azúcares: 1g	
	Vitaminas A, C, calcio y hierro	
Protein Selco Plus®	Aceite de hígado de bacalao 100%	5
	Vitaminas A y D	
	Proteína: 21%	
Acido graso esencial DHA	Lípidos totales: 45%	5
	DHA/EPA: 2,5%	
	HUFA: 90mg/g peso seco	
Acido graso esencial EPA	Vitaminas A, D ₃ , E y C	5
	Lípidos: 100%	
Acido graso esencial ARA	Lípidos: 100%	5

Se preparan 10g de alimento según las proporciones mencionadas (Tabla 14), se mezclan de la misma manera que se describe para el alimento de rotíferos. La preparación de estas mezclas puede hacerse con otros ingredientes, pero se recomienda que por lo menos contenga alimento para peces, emulsión de Scott y si es posible algún enriquecedor con contenidos altos de HUFA, nutrientes que de acuerdo con los estudios realizados en el LABBIP son esenciales para el correcto desarrollo de los caballitos de mar. Se puede disminuir la proporción de alimento para peces y adicionar alguna harina vegetal, pero debe tenerse en cuenta que aunque esta contribuye al

crecimiento de la artemia, no representa ningún aporte nutritivo para los peces. Otra opción es realizar preparados de bajo costo hasta obtener el tamaño deseado de artemia y la noche anterior antes de usarse como alimento, suministrarles un enriquecedor altamente nutritivo.

Los nauplios recién eclosionados no se alimentan ya que su aparato digestivo aún no es funcional, después de 24h el animal empieza a alimentarse con partículas entre 1-40 μ m (Sorgeloos *et al.*, 1986). Para su alimentación en el LABBIP se manejan tres raciones al día, tratando en lo posible de que cada una sea con una fuente diferente de alimento que en conjunto, le proporcione un paquete más completo de nutrientes y que se mantengan en enriquecimiento prolongado (Figura 36).

Día 0	Día 1	Día 2	Día 3 en adelante
Eclósion de quistes	Colecta de nauplios, tanque 20L	Tanques 20L Una ración de mezcla (15mL)	Una ración de mezcla (30mL)
		Tanques 500L (vol. inicial 250L)	
No se realiza alimentación		Inicio de la alimentación	Alimentación diaria
			Opción 1: 2-3L de <i>I. galbana</i> + 15mL de mezcla Opción 2: tres raciones, día ⁻¹ 1. Mezcla (15mL) 2. <i>Spirulina</i> (30mL) 3. Mezcla + <i>Spirulina</i> (15mL de c/u) Opción 1: 5-8L de <i>I. galbana</i> + 30mL de mezcla Opción 2: tres raciones, día ⁻¹ 1. Mezcla (30mL) 2. <i>Spirulina</i> (60mL) 3. Mezcla + <i>Spirulina</i> (30mL de c/u)

Figura 36. Protocolo de alimentación para cultivos de artemia en crecimiento.

4. MANTENIMIENTO DE ORGANISMOS EN EL LABORATORIO

4.1 Sistemas

4.1.1 *Hippocampus reidi*

4.1.1.1 Crías

Algunas especies del género *Hippocampus*, entre ellas *H. reidi*, presentan una fase planctónica durante sus primeras semanas de vida (González *et al.*, 2004; Hora y Jouveux, 2009), en condiciones de laboratorio este proceso origina las mayores mortalidades en las crías por captación de aire atmosférico al quedar atrapadas en la superficie del agua. Aunque la enfermedad de la burbuja de aire es una de las principales causas de mortalidad en todos los estadios de vida de los caballitos de mar, generalmente cuando los sistemas no son efectivos las crías son más propensas a padecer de esta enfermedad (Woods, 2000). Los sistemas de incubadoras para el desarrollo de crías de caballitos de mar de esta especie requieren un diseño que cumpla con las siguientes especificaciones:

- La incubadora debe ser transparente con un diseño sencillo que facilite la limpieza y la manipulación de las crías.
- Evitar que las crías queden atrapadas por la fuerza que ejerce la tensión superficial del agua, rompiéndola mediante algún mecanismo.
- Crear una corriente interna para que las crías se mantengan en la columna de agua sin puntos muertos donde queden atrapadas.
- Desarrollar un sistema de desagüe suave para que las crías no sean succionadas, pero que permita un buen recambio y mantenga por el mayor tiempo posible, el alimento dentro de la incubadora.

En el laboratorio se usan dos tipos de incubadoras elaboradas con materiales de fácil consecución, manteniendo el principio de un acuario tipo Kreisel (Koldewey, 2005), incorporando recomendaciones dadas por Planas y Cunha (1999) y Chamorro y Planas (2007). La **incubadora redonda de 12L** basada en un tanque plástico de agua de 20L de forma redondeada, a la que se le realizan varios cortes (Figura 37). Para la entrada de agua se puede utilizar: un sistema de cinco entradas laterales de agua mediante mangueras de aeración de $\frac{3}{8}$ " y un pitillo central, que por su distribución generan un movimiento circular y evitan las zonas muertas; adicionalmente el pitillo tapado en su extremo distal, con tres a cuatro pequeños orificios ubicados a lo largo de su superficie, permiten la entrada de agua por goteo que rompe la tensión superficial (Figura 38A). El otro sistema denominado de "regadera", consiste en un montaje en tubería y accesorios PVC de presión de $\frac{1}{2}$ " (Figura 38B), con pequeños orificios ($\frac{1}{16}$ " en dirección oblicua a lado y lado de la tubería, en esa misma dirección en los extremos de la regadera se abren cuatro huecos un poco más grandes y se instalan pitillos muy delgados para que el goteo se presente en toda la superficie del agua (Figura 38C). Cada entrada de agua se maneja de manera independiente, para evitar que las más cercanas

tengan un flujo muy fuerte, y las más lejanas muy débil. No se debe exceder el número de entradas porque un aumento del flujo de entrada aumenta también la fuerza de salida, atrapando las crías en la malla y generando la pérdida de alimento porque sale a mayor velocidad. La última parte consiste en introducir las incubadoras en acuarios de vidrio de 25L, los cuales están conectados al sistema de circulación del laboratorio con flujo constante (Figura 39).

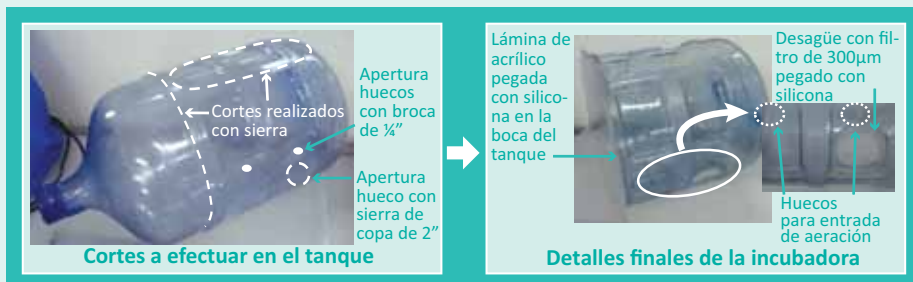


Figura 37. Elaboración de incubadoras de 12L para levante de crías de *H. reidi*.

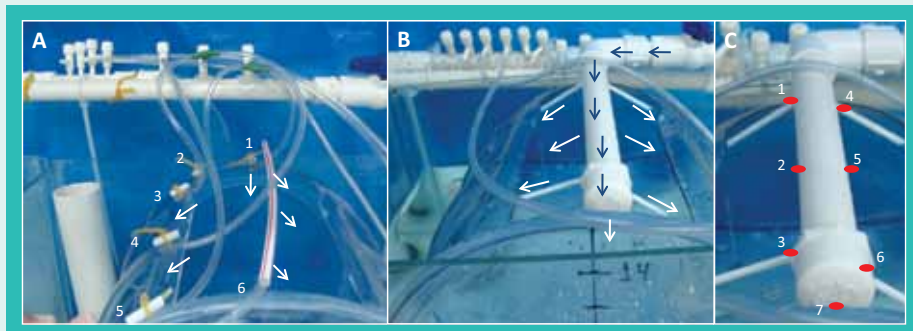


Figura 38. Sistemas para la entrada de agua a las incubadoras, mangueras y pitillo (A), regadera (B) y detalle de donde ubicar las salidas de agua (C).

Las incubadoras cilíndricas de 16 o 20L elaboradas con tanques plásticos de agua de 20L o recipientes transparente de forma cilíndrica, tienen un sistema de desagüe con tubería de presión de PVC de 1/2" que también controla la altura de la columna de agua en los recipientes. Tiene un filtro interno, antes del desagüe, que consiste en un tubo de PVC del mismo calibre, con pequeños huecos, este tubo es recubierto en su totalidad con espuma dura de 8cm de grosor, la cual se redondea con un bisturí y un cautín, y finalmente se recubre con una media velada blanca y se conecta en la parte interna a la salida del tanque (Figura 40). Para la entrada de agua se utiliza el sistema de regadera. El desagüe puede estar conectado al sistema de circulación del laboratorio o el agua puede caer dentro de una canaleta o recipiente que esté conectado a éste (Figura 41). Los caballitos deben permanecer en cualquiera de los sistemas diseñados por lo menos un mes y medio, se recomienda que transcurridos unos 15 a 20 días después de su nacimiento, se introduzcan estructuras de fijación para que los animales empiecen a sujetarse.



Figura 39. Sistemas de incubadoras de 12L para el levante de crías de *H. reidi*.



Figura 40. Elaboración de incubadoras de 16L para levante de crías de *H. reidi*.

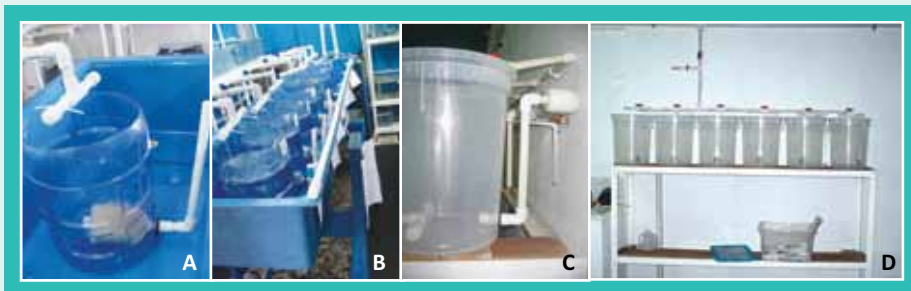


Figura 41. Incubadoras de 16L conectadas al sistema de circulación mediante canaleta (A y B) o incubadoras de 20L conectadas directamente al sistema (C y D).

4.1.1.2 Juveniles

Los juveniles pueden permanecer en las incubadoras de 12L hasta los dos meses, luego se trasladan a las de 16 o 20L, hasta los cuatro a cinco meses. A partir del tercer mes, el filtro de esponja del desagüe se cambia por un tubo de salida, recubierto con una malla inicialmente de 300 μ m, y en la medida que los animales aumenten de tamaño se usa de 500-700 μ m. Otra opción es, después de los dos meses de edad, trasladarlos a un acuario de vidrio conectado al sistema de circulación, con muchas estructuras de fijación, en donde los animales pueden observar y cazar más fácilmente su alimento; a partir del cuarto o quinto mes, los animales se separan por sexo y se trasladan a los tanques para adultos.

4.1.1.3 Adultos

La principal consideración para los recipientes de los adultos es la altura, ya que el apareamiento del género *Hippocampus* está condicionado por esta variable (Chamorro y Planas, 2007). Vincent (1995) recomienda para *H. whitei* una columna de 45cm, Masonjones y Lewis (1996) observaron que *H. zosterae* sólo requiere entre 2-13cm, Sobolewski (1997) considera que *H. abdominales* necesita mínimo 90cm. Para *H. reidi* la mayoría de autores recomiendan tanques de 200L sin especificar la altura (González *et al.*, 2004; Olivotto *et al.*, 2008; Hora y Jouveux, 2009), no obstante después de varios ensayos se recomiendan tanques con una columna de agua de al menos 65cm, en alturas mayores, la colecta de las crías, así como el manejo para el mantenimiento y limpieza se hace más complicado. Los juveniles al momento del traslado deben tener más de tres meses, tiempo en el cual han mejorado el nado y su capacidad para capturar alimento.

Los tanques del laboratorio son canecas de plástico de 110L de color azul, ya que con este color los caballitos capturan más fácilmente su alimento y manifiestan mejor la coloración (Martínez-Cárdenas y Purser, 2007). La entrada de agua se realiza con un tubo de 1/2" que llega hasta el fondo y está cubierto por un tubo de 1 o 2" con pequeñas aberturas en el fondo, el desagüe se realiza por rebose y la boca del tubo está bordeada por una malla; lo importante es que la entrada y salida de agua sean opuestas para garantizar la renovación total del agua. Chamorro y Planas (2007) no recomiendan aeración, pero en el LABBIP únicamente para los adultos, se mantiene una línea con una piedra difusora, ya que se ha observado que la usan como estación de limpieza sin que se les formen burbujas. En los tanques se colocan mallas de soporte para los caballitos (Figura 42).



Figura 42. Montaje de tanques de 110L, para juveniles y adultos de *H. reidi*.

4.1.2 *Gramma loreto*

4.1.2.1 Larvas

Para la incubación de los huevos y colecta de larvas se utiliza un acuario de 25L con los vidrios oscurecidos, por que las larvas recién nacidas prefieren la oscuridad, dentro se instala una incubadora elaborada con una botella plástica de 2L cortada en la base y colocada de manera invertida, en la tapa del envase se abre un hueco para conectar una manguera plástica de 1/8" que permita la entrada del agua, regulando el flujo con una llave. Hacia un costado, a nivel del agua se instala una manguera de 1/4" que se introduce unos 5cm por debajo del nivel del acuario para que cuando las larvas eclosionen, pasen suavemente al acuario sin manipularlas. El acuario tiene aeración, un termostato y malla de 200 μ m en el tubo de salida para evitar la salida de las larvas (Figura 43).



Figura 43. Sistema de incubadora para eclosión y levante de larvas de *G. loreto*.

4.1.2.2 Juveniles y adultos

Los juveniles y adultos pueden ser mantenidos en acuarios, pero por el comportamiento territorialista de la especie éste debe ser lo más amplio posible (Freeman y Alevizon, 1983). Los organismos en el LABBIP se ubican en dos tipos de tanques: canaletas de 300L y acuarios de 900L, conectados al sistema de circulación. Es muy importante proveer a los organismos suficientes guaridas (dos o tres por animal) para disminuir las probabilidades de enfrentamiento; en las canaletas no se utilizó sustrato, en el acuario se usó un fondo de conchilla de 3cm y ladrillos huecos distribuidos en todo el sistema.

4.1.2.3 Reproductores

Los acuaristas recomiendan una pareja en un acuario de 200L; sin embargo en el LABBIP se logró la reproducción en acuarios de 25L, pero es mejor usar un volumen mayor y tomar en consideración lo siguiente:

- Utilizar acuarios oscurecidos, solo con una pequeña ventana, con lo cual los organismos no ven su reflejo y están más tranquilos
- Colocar 2cm de conchilla o cascajo en el fondo del acuario en el cual puedan “cavar” para formar su nido.
- Los acuarios deben estar tapados para evitar escapes.
- El sistema debe contar con un desagüe conectado a la circulación del laboratorio, una entrada de agua y una línea de aeración.
- Los reproductores prefieren guaridas estrechas a manera de cuevas, para lo cual se agregan estructuras en PVC de no más de 1”, cerradas en un extremo, para que las usen como nido para la puesta de huevos.
- Suministrar algún tipo de fibra suave para que el macho forme el nido, en el laboratorio los loreto utilizan pedazos de guata (Figura 44).



Figura 44. Adecuación de acuarios de 25L para reproducción de *G. loreto*.

4.2 Reproducción, levante y mantenimiento de *Hippocampus reidi* en cautiverio

4.2.1 Reproducción

Para caballitos de mar se usan como reproductores un macho y una hembra o dos hembras por un macho. Después de estudiar a los organismos

no se observa un comportamiento monógamo exclusivo como el descrito en el medio natural (Vincent y Sadler, 1995; Bull, 2002), un macho puede cruzarse con más de una hembra, incluso en un mismo evento reproductivo, lo que garantiza una mayor número de crías.

Una vez seleccionados los organismos, éstos son ubicados en un tanque de 110L (Figura 42). Los caballitos presentan una diferenciación sexual muy clara por la presencia o no de la bolsa de incubación (Garrick-Maidment, 1997; Indiviglio, 2002; Lourie *et al.*, 2004) (Figura 45).

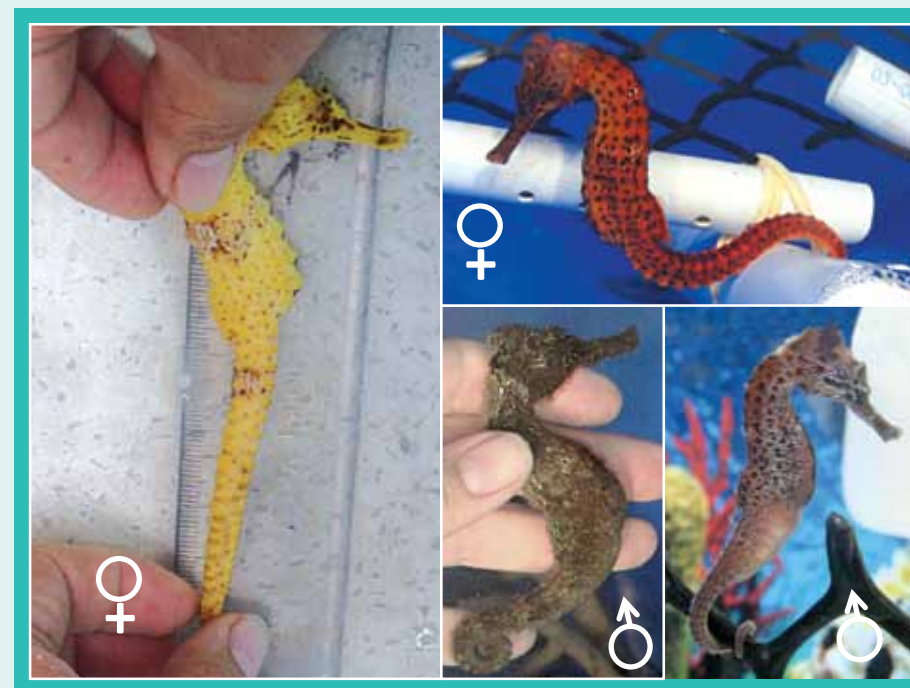


Figura 45. Ejemplares machos y hembras de *H. reidi* del LABBIP.

El macho inicia el cortejo, para lo cual se aproxima varias veces a la hembra, aclarando el lado del cuerpo que le muestra a su pareja, persiguiéndola y tratando de tomarla por la cola prensil, en algunas ocasiones se ha observado que el macho pareciera “inflar” la bolsa de incubación para exhibirla ante la hembra, que lo esquiva; este comportamiento se presenta durante uno o dos días. Cuando finalmente la hembra accede al apareamiento, los reproductores se localizan uno frente al otro y empiezan a ascender en la columna de agua, en ese momento la hembra deposita los huevos en la bolsa de incubación y una vez se da la transferencia el macho se separa de la hembra y va al fondo del tanque, donde se sujeta de algún elemento y se balancea repetidas veces como “acomodando” los huevos en la bolsa, finalizando el apareamiento, algunas de estas observaciones también fueron realizadas y descritas por Vincent y Sadler (1995) y González *et al.*, (2004). A la semana, se empieza a observar cómo se incrementa paulatinamente la bolsa de incubación del macho (Figura 46).



Figura 46. Proceso reproductivo de *H. reidi*.

El nacimiento se presenta a los 13 o 14 días después de la cópula y el número de crías varía dependiendo de los reproductores; entre diciembre de 2009 y noviembre de 2010 varió entre 7 a 1.388 crías. Durante el parto el macho se agita bruscamente en el fondo del tanque, se apoya y levanta en su cola prensil, dilatando aproximadamente 1cm el orificio ubicado en la bolsa de incubación, se encorva y expulsa a las crías, repitiendo este comportamiento hasta haberlas sacado todas.

Los nacimientos se dan generalmente a horas tempranas de la mañana; a lo largo del año solo se observó un nacimiento hacia el final de la tarde. Aunque Silveira (2000), afirma que los machos son capaces de aparearse dos días después de haber dado a luz, en el laboratorio se ha observado este comportamiento, pocas horas después del nacimiento.

4.2.2 Levante de crías

La colecta de las crías debe realizarse con cuidado, evitando que entren en contacto con la superficie del agua, para ello se prepara un recipiente con agua y con una manguera de $\frac{3}{8}$ " se sifonean evitando que se maltraten, la manguera debe colocarse unos 3cm por debajo del nivel del agua para que caigan suavemente en el recipiente de colecta. Una vez colectadas son distribuidas en las incubadoras en densidades no mayores a cuatro caballitos.L⁻¹ con un vaso plástico se colectan y se siembran en la incubadora introduciendo el vaso unos 2cm para que salgan suavemente. Se debe graduar el flujo de aire y agua en cada incubadora, observando la dinámica de las crías. La siembra se debe realizar lo más rápido posible para inmediatamente después iniciar la alimentación.

Se debe llevar un registro de los nacimientos que incluya lo siguiente:

- Número de crías nacidas vivas y muertas
- Registrar los parentales de los que provienen
- Peso y talla promedio de las crías al nacer

Para las mediciones de talla y peso se deben sacrificar por lo menos 10 organismos escogidos al azar del lote, lo cual puede hacerse con un exceso

de Benzocaina (anestésico local) diluida en agua. Cada cría se saca de la solución con un asa de punta redonda, se seca un poco y se pesa en un recipiente con agua previamente tarado (balanza analítica de 0,0001g de precisión), después se miden sobre un papel milimetrado. De acuerdo con la experiencia del LABBIP, el peso inicial de las crías es el mejor indicador para conocer el estado del lote, si éste es mayor o igual a 1,6mg el lote es viable, pesos promedios menores resultaron en todos los casos con 100% de mortalidad de las crías (Figura 47).

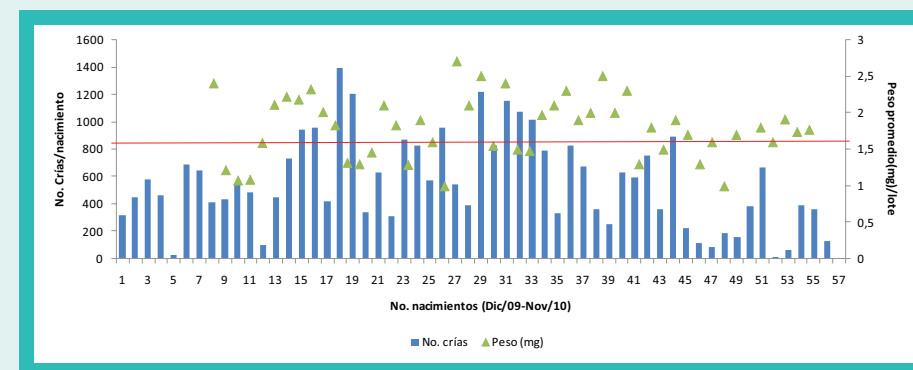


Figura 47. Registro de nacimientos y pesos promedios de los lotes de *H. reidi*, los triángulos sobre la línea roja corresponden a los lotes viables ($\geq 1,6$ mg).

Las actividades de mantenimiento a seguir durante el primer mes para obtener los mejores resultados se detallan a continuación (Figura 48):

- Diariamente sifonear cada incubadora, con el fin de remover el exceso de artemia de mayor tamaño que no fue consumida por los caballitos y que no puede salir fácilmente por los filtros, y retirar el sedimento.
- Extraer y registrar diariamente la cantidad de organismos muertos para conocer el estado del lote y establecer si es necesario reagruparlos para evitar el desperdicio de comida.
- Después de dos semanas, introducir en las incubadoras estructuras de sujeción, inicialmente solo algunos caballitos la usarán, pero hacia el final del mes, la mayoría estarán adheridos a ella.
- Ser muy estricto con el número de raciones y cantidad de alimento a suministrar; durante la primera semana de vida se presentan las mayores mortalidades en esta especie (Figura 49), generalmente porque no se alimentan, ya sea por que el tamaño de partícula no es el adecuado (grande) o es insuficiente; como son agástricos (carecen de estómago), su digestión no es buena y requieren varias raciones al día para satisfacer sus requerimientos energéticos y nutricionales.
- Durante esta etapa la dinámica de circulación no debe suspenderse en la incubadora, ni siquiera durante la alimentación. En ensayos realizados en el laboratorio se comprobó que al suspender el flujo aunque fuera por cinco minutos, ocasionaba que días después algunas crías presentarían la enfermedad de la burbuja y finalmente la muerte.



Figura 48. Colecta, siembra y mantenimiento de crías de *H. reidi* el primer mes.

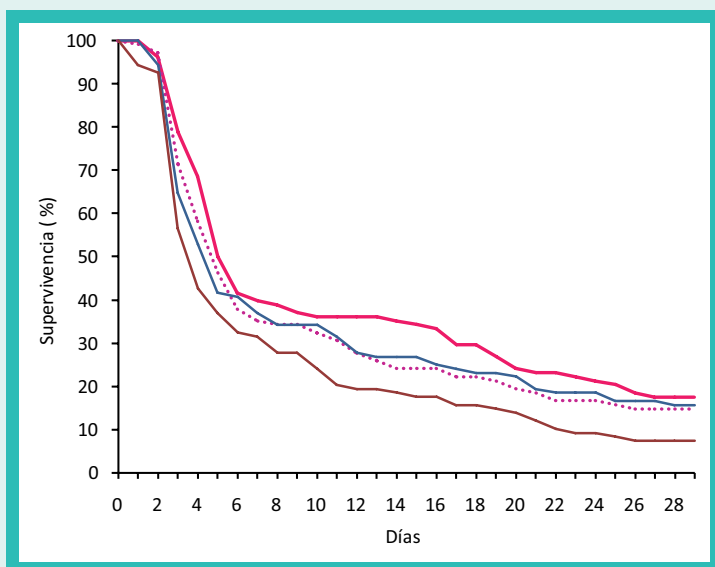


Figura 49. Registros de supervivencia en diferentes nacimientos de *H. reidi*.

Transcurridos dos meses, si los animales fueron ubicados en incubadoras de 12L, se deben trasladar a recipientes más grandes (incubadoras de 16 o 20L o un acuario) (Figura 50), la densidad durante esta etapa debe disminuir a 2 caballitos.L⁻¹. De acuerdo con descripciones morfológicas de *H. kuda*, cumplidos los dos meses son muy pocos los cambios que se dan en los caballitos considerándose ya como juveniles (Choo y Liew, 2006).



Figura 50. Actividades de mantenimiento para el manejo de juveniles de *H. reidi*.

Los juveniles deberán mantenerse separados por lotes hasta que puedan ser marcados de tal manera que se pueda establecer fácilmente su procedencia, edad, etc. Una vez marcados es mejor agruparlos, en lo posible previamente sexados, ya que el suministro de alimento se realiza en relación al volumen del tanque y los caballitos requieren mucho alimento disponible a su alrededor porque son cazadores lentos y poco hábiles, tener pocos organismos en grandes volúmenes, aumentan los costos de mantenimiento. Si se planea utilizar algún lote para en el futuro usarlo como reproductores, estos tanques deben estar debidamente marcados con la fecha de nacimiento e identificación de los parentales con el fin de no realizar posteriores cruces con alto grado de consanguinidad.

Para realizar el monitoreo del crecimiento se recomienda sedar los animales con una solución de Benzocaína a una concentración de 1g.L⁻¹ para reducir el estrés del animal, la ingestión de aire atmosférico y que las mediciones sean más exactas, para ello se coloca el ejemplar en un recipiente con un volumen conocido de agua y se agregan de a 5mL por vez del anestésico observando la reacción, éste debe empezar a relajarse en un lapso de uno a no más de dos minutos, si no se observa reacción agregar más anestésico; de esta manera se establece la cantidad de anestésico necesaria de acuerdo con el tamaño del lote; organismos hasta de dos meses no requieren más de 10 o 30mL diluidos en 50mL de agua de mar, a medida que aumentan de tamaño se debe utilizar una mayor concentración.

Una vez el animal se encuentra adormilado, se saca del agua y en una tablilla con papel milimetrado o sobre una regla se extiende para determinar la longitud total de acuerdo con la metodología descrita por Lourie *et al.*, (1999 y 2004) con modificaciones (Figura 51); también se puede pesar pero requiere más tiempo y por ende mayor concentración de anestésico. Una vez medido y/o pesado el caballito es transferido a un recipiente con agua de mar, agitándolo suavemente de un lado al otro hasta que esté alerta y pueda ser transferido al tanque (Figura 52).

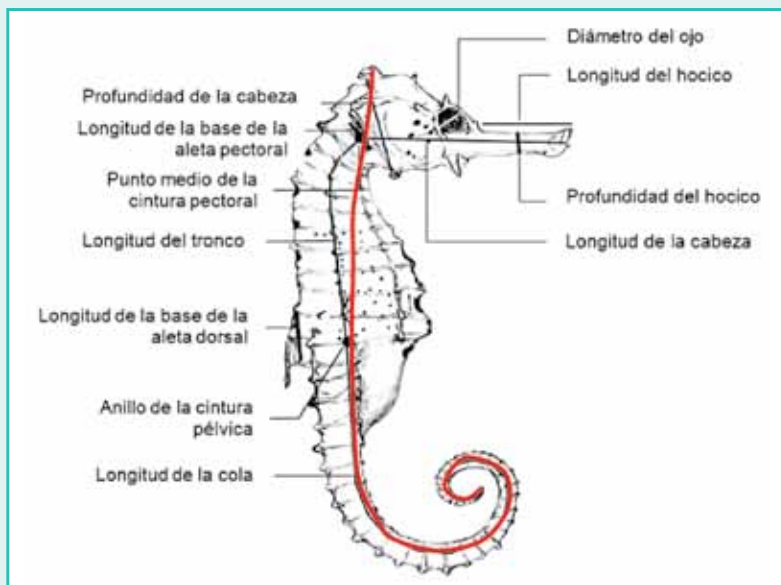


Figura 51. Modelo para medir caballitos de mar (Imagen tomada de Choo y Liew, 2006). La longitud estándar corresponde a la línea roja.

4.2.3 Sexaje y marcación de juveniles

Transcurridos cuatro o cinco meses, se puede establecer la diferenciación sexual de los caballitos, en este momento se debe iniciar la separación en tanques por sexos para evitar la reproducción entre hermanos. Cuando los caballitos alcanzan entre 6-7cm se pueden marcar para agruparlos, diferenciando por lotes; se han realizado intentos de marcación en edades más tempranas, pero las marcas utilizadas son demasiado incómodas y dificultan el nado y captura de alimento de juveniles más pequeños.

El proceso de marcación diseñado es económico y de fácil consecución, se utilizan pequeños cauchos de colores con chaquiras para diferenciar los lotes y poder realizar seguimientos de crecimiento y supervivencia. Con el animal anestesiado, se pasa el caucho con la chaquira por la cabeza y se ajusta al cuello, es importante que el caucho no quede tan apretado que sofoque al animal, ni tan flojo que se pueda salir, una vez despiertos se devuelven a sus respectivos tanques (Figura 52). Las marcas deben ser revisadas una vez al mes y ajustadas a medida que van creciendo.

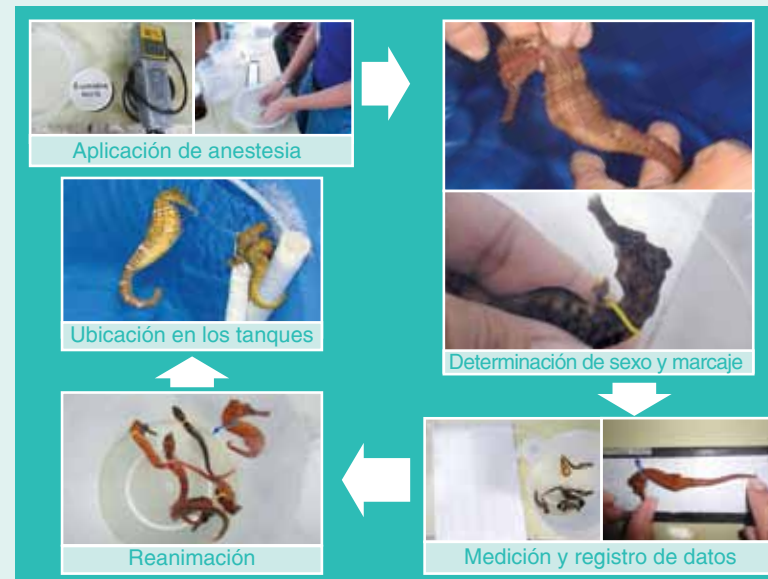


Figura 52. Protocolo para el marcaje y monitoreo de juveniles de *H. reidi*.

4.2.4 Mantenimiento de los organismos

En estudios realizados en el laboratorio, se determinó que las crías recién nacidas presentan mejores supervivencias cuando son cultivadas a 27 de salinidad y 26°C (Melo, 2010); no obstante se requiere un sistema aislado en el cual se puedan mantener estas condiciones únicamente para las crías, en la Tabla 15 se describen los parámetros óptimos recomendados por algunos autores y el LABBIP para el manejo general de esta especie.

Tabla 15. Parámetros fisicoquímicos recomendados para el cultivo de *H. reidi*.

Parámetro	Olivotto <i>et al.</i> , (2008)	Hora y Jouveux (2009)	LABBIP
Oxígeno (mg.L ⁻¹)	-	-	≥5
Temperatura (°C)	28±0,5	22-26	25-27
Salinidad	30	26,5-29	32-35
pH	8-8,2	8,2-8,4	8-8,5
Amonio (mg.L ⁻¹)	-	-	0-0,3
Nitritos (mg.L ⁻¹)	≤0,3	-	≤0,3
Nitratos (mg.L ⁻¹)	≤0,3	-	0-12
Fosfatos (mg.L ⁻¹)	-	-	0,1-0,2

Teniendo en cuenta las anotaciones e instrucciones descritas en el capítulo de alimento vivo, en la Figura 53 se recomienda el protocolo de alimentación a seguir desde el momento del nacimiento de los caballitos de mar. Cuando se observe que todos los animales controlan su nado y la mayoría del tiempo están en el fondo del recipiente, se puede parar el flujo de entrada de agua de los tanques al momento de la alimentación, por máximo una hora y media si no tiene aeración o hasta que hayan consumido todo su alimento, después hay que reactivar la circulación.

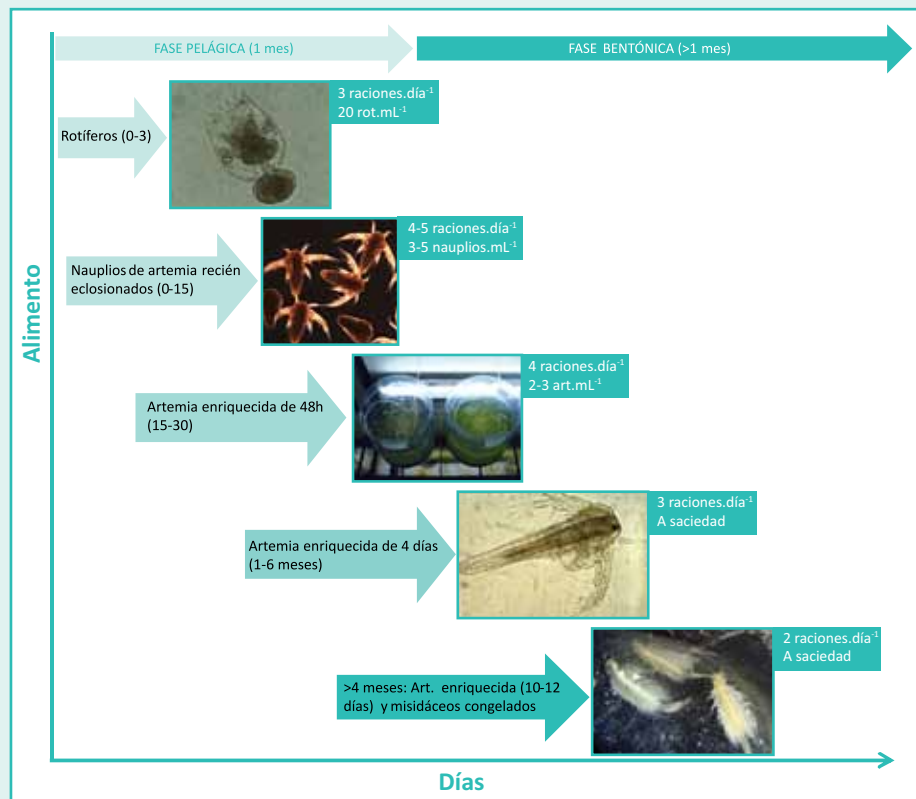


Figura 53. Protocolo de alimentación para levante de crías de *H. reidi*.

4.3 Reproducción, levante y mantenimiento de *Gramma loreto* en cautiverio

4.3.1 Reproducción

Para iniciar este proceso es necesario seleccionar e identificar las parejas reproductoras, las cuales se ubican por separado en los acuarios para reproducción. Se deben tener en cuenta algunos criterios de selección, ya que no presentan un dimorfismo sexual claro, como son:

- Seleccionar organismos mayores de 3,5cm considerados maduros sexualmente (Asoh y Shapiro, 1997; Gutiérrez y Báez-Hidalgo, 2002).
- Las parejas pueden ser escogidas por tallas, asumiendo que los machos son más grandes que las hembras (Asoh, 1996).
- En el laboratorio se determinó que las hembras presentan un abdomen abultado de forma cóncava, en contraste con el de los machos que parece un poco convexo (Figura 54).
- Para verificar la heterossexualidad de las parejas y evitar que animales del mismo sexo se maten entre sí, los peces deben ser observados

frecuentemente, cuando la lucha es continua o si se presentan daños en aletas o boca, uno debe ser reemplazado (usualmente el más pequeño), hasta observar señales de cortejo, este proceso toma algún tiempo.

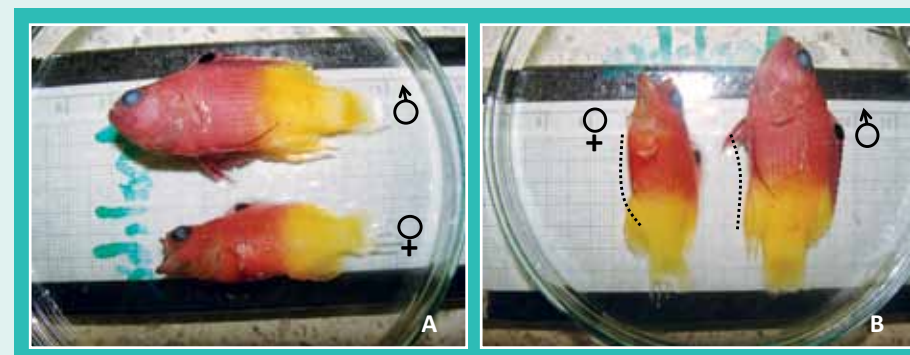


Figura 54. Ejemplares macho y hembra de *G. loreto* preservados en formol (A), leve diferencia en la forma del abdomen (B).

Generalmente el levante de larvas es todo un reto y no es fácil establecer las parejas de reproductores, ya que aún siendo de diferente sexo, se observan enfrentamientos. No se utiliza iluminación directa en los acuarios, solo la provista por las luces del laboratorio en un fotoperíodo de 10 horas luz y 14 de oscuridad y se debe evitar la manipulación y el paso continuo para que no se estresen y pueda presentarse la reproducción.

Cuando una pareja es establecida, generalmente el macho ocupa la guarida donde fabricará su nido, en el LABBIP se detectó preferencia por las estructuras de PVC de 1" y ½" tapadas en uno de los extremos, el pez empieza a tomar los pequeños pedazos de guata o de algas como *Dyctiota* sp. suministradas, e inicia la construcción de su nido. Se presenta el típico comportamiento reproductivo, donde el macho protege y mantiene el nido y la guarida limpias (Asoh y Yoshikawa, 1996; Gutiérrez y Báez-Hidalgo, 2002), las guaridas se revisan todos los días para determinar cuándo se inicia la puesta, solo deben observarse no manipularse, eso puede generar estrés en los reproductores y retrasar la puesta. La hembra entra a la guarida, pone los huevos y sale, luego el macho entra y los fecunda, este proceso se repite por aproximadamente unos 3-4 días (Figura 55).

Aunque es posible obtener desoves en tanques pequeños de 25L, se pueden utilizar tanques más grandes, para evaluar si se reducen los enfrentamientos, y si estableciendo pequeños grupos de un macho y dos o tres hembras se incrementa la producción de una mayor masa de huevos que permitirían levantar más larvas, en vez de pocos desoves cada día.

De acuerdo con Erdman (1976), la época reproductiva de estos animales va de enero a junio, con un pequeño pico en octubre (Corsten-Hulsmans y Corsten, 1974; Amador, 1982), mientras que García-Cagide et al. (1994) afirman que es entre marzo y agosto. En el LABBIP los eventos reproductivos se presentaron durante todo el año, principalmente entre abril-mayo y septiembre-octubre.



Figura 55. Selección de parejas y reproducción de *G. loreto* en el LABBIP.

4.3.2 Levante de larvas

Después de 11-15 días de iniciadas las puestas, se retira la masa de huevos, colectándola en un recipiente que se introduce en el acuario, evitando el contacto con el aire. No hay que retirar la masa si la mayoría de los huevos no presentan pequeñas manchas oscuras (formación de ojos de las larvas), signo claro de que los huevos ya han sido fecundados; si se retiran antes de tiempo, los huevos no serán viables (Figura 56).

Los huevos se sumergen en la incubadora y se regula el flujo de entrada de agua para que sea muy suave pero se oxigenen, hay que observar diariamente la incubadora y el acuario para detectar las larvas que nacen todos los días durante casi una semana y determinar el total de huevos puestos y el porcentaje de larvas.

Las larvas se alimentaron con una combinación de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Nanochloropsis* sp.) y rotíferos enriquecidos a una densidad de 5-10 rot.mL⁻¹ y fueron mantenidas a una temperatura entre 26-27°C, pero al cabo de una semana todas murieron; es necesario continuar mejorando los sistemas de incubación y evaluando los fisicoquímicos y las dietas.

Wittenrich (2007) recomienda para levantar las larvas lo siguiente:

- Alimentar con rotíferos a una concentración de 10-15 rot.mL⁻¹.
- Adicionar suficientes microalgas en el tanque de levante, se recomienda añadir una mezcla de ellas, diariamente hacer un recambio de 15-30% del agua y reemplazarla por agua limpia y más microalgas.

- Después de 10 días, añadir a la dieta nauplios de artemia recién eclosionados.
- Una semana después, adicionar metanauplios de artemia enriquecidos y suspender los rotíferos.
- Sifoneo diario de los tanques para evitar la acumulación de heces y material particulado, evitando maltratar las larvas.
- Cuando se observe que los animales empiezan a asentarse, adicionar pequeñas piezas de PVC como refugio.
- Cuando se complete la metamorfosis, los juveniles pueden iniciar su alimentación con dietas artificiales como la comida en hojuelas y peletizados, esto debe realizarse paulatinamente.



Figura 56. Protocolo para eclosión de larvas de *G. loreto* en el LABBIP.

4.3.3 Mantenimiento de los organismos

Los parámetros fisicoquímicos óptimos son los mismos recomendados por el LABBIP para los caballitos (Tabla 15). El mantenimiento y la alimentación de juveniles y adultos de loreto es sencillo, ya que pueden alimentarse con nauplios recién eclosionados o artemia enriquecida, sin embargo se recomienda variar su dieta con alimentos comerciales, los cuales acepta con facilidad.

En estudios realizados en el laboratorio con dietas artificiales se observó que los mejores crecimientos se obtienen al alimentarlos con dietas que contengan 54% de proteínas y 11,8% de grasas, porcentajes mayores

o menores de estos nutrientes ocasionan menores ganancias de peso, consumiendo mejor las hojuelas que los peletizados. Para el suministro de diario de alimento se puede entregar dos raciones una con artemia y otra con alimento artificial, pero si los organismos van a destinarse a la reproducción se recomienda enriquecer su dieta, administrando misidáceos vivos o congelados y artemia enriquecida, aumentando las raciones diarias de dos a cuatro.

Se debe llevar un control diario de los organismos para detectar cambios en su comportamiento y sifonear los acuarios, mínimo semanalmente.

4.4 Enfermedades presentadas en laboratorio

4.4.1 *Hippocampus reidi*

4.4.1.1 Aire/gas y los problemas relacionados

Se presenta generalmente los primeros meses, pero es más frecuente en las **crías** durante las primeras dos semanas, cuando los organismos se encuentran en la fase pelágica, al parecer se produce por ingestión de aire atmosférico cuando los caballitos quedan atrapados en la superficie del agua, puede llegar a ocasionar la muerte de todo un lote. Se presenta ensanchamiento de la cavidad torácica, aumento de la vejiga natatoria (Figura 57), flotabilidad e inapetencia. No se ha encontrado tratamiento, por ello se debe evitar el contacto de las crías con la superficie del agua.



Figura 57. Enfermedad de la burbuja en crías de *H. reidi*. Normal (A) y enfermo (B).

En **juveniles y adultos** los ensanchamientos internos por acumulación de gases, se conocen como enfisema de la bolsa de incubación cuando se da en esta zona, o como enfermedad de la burbuja de gas interna cuando es en el tronco. Según Wooten (2004), es causada por la descomposición de materia embrionaria en la bolsa produciendo gases que la inflaman o por burbujas de aire en la columna de agua que entran en la bolsa durante el cortejo o alguna otra rutina, otra causa es una infección bacteriana, sobre todo en casos crónicos y recurrentes donde se han presentado burbujas de aire en la columna o rituales de cortejo. No se han detectado agentes infecciosos relacionados, ni asociación

con la sobresaturación de gases en el agua, se ha dicho que el extenso lecho vascular del saco de incubación está fisiológicamente predispuesto a la embolización de gases (Koldewey, 2005). Se presenta únicamente en machos, observándose pérdida de apetito y dificultad al nadar, en estadios tempranos de la enfermedad se presenta un incremento del tamaño de la bolsa que aumenta la flotabilidad del caballito, obligándolo a realizar grandes esfuerzos para mantenerse en la columna de agua; en casos críticos también se produce un aumento de la vejiga natatoria, y finalmente la muerte. Algunas veces la formación de la burbuja puede confundirse con el proceso de gestación cuando el ensanchamiento es simétrico, en otros casos es asimétrico (Figura 58).



Figura 58. Enfermedad de la burbuja interna en ejemplares machos de *H. reidi*.

En los machos y las hembras se presenta otra formación asociada con burbujas, generalmente conocida como enfermedad de burbuja externa (Wooten, 2004; Koldewey, 2005) y es aquella donde las burbujas se presentan debajo de la piel en cualquier parte de su cuerpo, si hay gran número de ellas puede ocasionar dificultades al nadar y flotabilidad, causándoles problemas al momento de alimentarse (Figura 59).

En el laboratorio se han ensayado muchos de los tratamientos recomendados por acuariófilos, anestesiando previamente a los ejemplares con Benzocaina, pero en ningún caso se logró eliminar los síntomas, ni que sobrevivieran. Algunos tratamientos se describen a continuación:

- Apertura del orificio de la bolsa de incubación para expulsión del aire mediante presión abdominal.
- Punción con jeringa directamente sobre la bolsa de incubación para expulsión del aire.
- Baños con soluciones de isodine por una semana, posteriores a la expulsión del aire.

- Baños con antibióticos (oxitetraciclina de 250mg) por una semana o quince días, posteriores a la expulsión de aire.
- Inyecciones en la bolsa de incubación con antibióticos (ciprofloxacina de 500mg) o aplicaciones cutáneas directas.
- Mantener mediante una trampa al caballito sujeto al fondo del tanque
- Suministro de artemia o misidáceos enriquecidos con oxitetraciclina de 250mg por dos semanas.



Figura 59. Enfermedad de la burbuja externa en *H. reidi*

4.4.1.2 Bacterias comedoras de piel

Algunos acuariófilos lo atribuyen a dos tipos de bacterias: *Cryptobia* sp. y *Costia* sp., mientras que otros afirman que es causado por infecciones de *Vibrio* sp. (Alcaide *et al.*, 2001; Petracini, 2001; Koldewey, 2005; Burns, 2007). Ambas bacterias pueden ser fatales, atacan el órgano más grande del animal, la piel y le producen un gran daño literalmente erosionándola. Entre los síntomas iniciales está el oscurecimiento (turbidez) de la piel y su desprendimiento, ojos nublados, hinchazón localizada. Cuando la afección avanza aparecen lesiones y llagas que se vuelven sangrientas, eventualmente erosionando hasta el hueso (Figura 60).



Figura 60. Erosiones de la piel presentadas en juveniles de *H. reidi*.

Si se tratan a tiempo, cualquiera de esas afecciones es fácilmente curable con la medicación apropiada, el primer paso es aislar a los organismos infectados, y aplicar alguno de los tratamientos recomendados, como son el uso de antibióticos (tetraciclina y oxitetraciclina) o tratamientos tópicos con baños de sal (2-3 cucharitas por galón de agua) en un baño de 5-10 minutos, se recomiendan también soluciones de yodo o formalina (15 gotas de cualquiera o una combinación de ambos por cada vaso con agua) tres o cuatro veces al día en el área afectada, estos tratamientos pueden controlar el progreso de la enfermedad (Wooten, 2004).

4.4.1.3 Exoftalmia

Esta afección puede aparecer por supersaturación de gas o por una infección interna producida por hongos (usualmente *Ichthyosporidium hoferi*), infección por parásitos (usualmente trematodos) o infección bacteriana (usualmente *Mycobacterium marinum*), en todos los casos el globo ocular sobresale desde su cavidad, lo que puede dañar el órgano mismo o el tejido circundante si no se toman medidas (Figura 61). Aunque no es letal, los agentes que lo provocan si pueden serlo si no se tratan rápida y apropiadamente. No existe un tratamiento específico para la exoftalmia, se debe tratar de eliminar el agente causante mediante medicación con antibióticos o ensayar los baños recomendados anteriormente (Petracini, 2001; Wooten, 2004).



Figura 61. Ejemplar de *H. reidi* con exoftalmia.

4.4.1.4 Parásitos

Los parásitos externos pueden ser macro parásitos como los gusanos e isópodos, que aunque toman la coloración del caballito y se observan como protuberancias, pueden ser detectados con un examen cuidadoso, y los micro parásitos como *Cryptocarium irritans* y *Amyloodinium ocellatum* que raras veces atacan caballitos, tal vez por su piel fuerte y fina que no les provee suficiente profundidad para insertarse e incubarse; otros son los trematodos monogénicos, mucho más comunes en los caballitos de mar (Figura 62). Los síntomas incluyen ojos nublados, nado errático, frotarse contra las rocas o el sustrato, decoloración, respiración agitada, pérdida de peso y aspecto lánguido. Se recomiendan tratamientos con baños de formalina o agua dulce (Petracini, 2001; Burns, 2007).

Aunque no están calificadas como parásitos, en el laboratorio se ha observado que las anémonas pueden causar irritaciones en la piel que aunque probablemente no deterioren la salud del animal, si lo hacen más propenso a infecciones en las zonas urticadas (Figura 63).

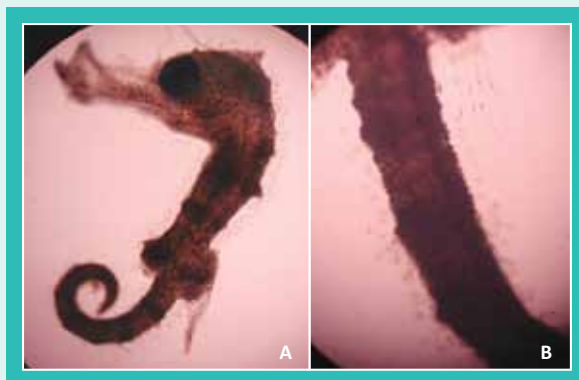


Figura 62. Crías de *H. reidi* parasitadas por vorticelas (A), detalle de la cola (B).



Figura 63. Juveniles de *H. reidi* con urticaciones causadas al parecer por anémonas.

4.4.2 *Gramma loreto*

La única enfermedad detectada en el laboratorio para esta especie ha sido la parasitación con *Cryptocarium irritans* conocido como ich marino; este parásito es un protozoo ciliado que se introduce en branquias, aletas y músculos del animal, causando una irritación que afecta sus actividades y termina ocasionándoles la muerte si no se trata a tiempo (Pro, 2008). Los síntomas más comunes se revelan en su comportamiento, los individuos empiezan a restregarse contra las paredes y cualquier superficie del acuario y de repente realizan nados muy rápidos de un lugar a otro.

Los animales deben ser aislados ya que es altamente contagioso y aunque los acuaristas recomiendan productos y antibióticos, en el laboratorio se aplicó un tratamiento con baños de agua dulce y baja salinidad, los organismos fueron sumergidos en un recipiente con agua dulce por siete minutos, luego en uno con salinidad de 16 por ocho minutos y finalmente

en un acuario a 33, donde durante cuatro días se bajó paulatinamente hasta 16, paralelamente se aumentó la temperatura, incrementándola dos grados por día hasta 31°C, estas condiciones se mantuvieron por dos semanas. Si se observa que los organismos continúan con el típico comportamiento infeccioso, realizar nuevamente baños de agua dulce y mantenerlos a 16 de salinidad y 31°C por 15 días, cuando no se evidencien síntomas de la enfermedad se regresa poco a poco a las condiciones normales de salinidad, temperatura y recirculación (Figura 64).



Figura 64. Tratamiento con agua dulce aplicado a los loreto contra el ich marino.

4.5 Aclimatación y cuarentena

Una de las mayores causas de estrés y por tanto de muerte entre los peces marinos de acuario, es una aclimatación inadecuada o la exposición de los individuos a condiciones agresivas donde van a ser mantenidos (Aquanovel, 2008b), la aclimatación consiste en adaptar los organismos de forma muy lenta a las nuevas condiciones fisicoquímicas de manera controlada. Para iniciar este proceso, una vez se reciben, los animales se trasladan al punto más cercano donde se mantendrán para iniciar el proceso, que consiste en retirar las bandas de caucho de las bolsas y medir los fisicoquímicos (temperatura, salinidad y pH) del agua en la que se encuentran los animales, determinando así la diferencia con las nuevas condiciones en que se mantendrán estos organismos.

Lo primero es igualar la temperatura, proceso que se debe realizar de forma lenta, y consiste en colocar las bolsas que contienen los animales dentro del recipiente donde se mantendrán (recipiente de cuarentena), ya sea un acuario, estanque o balde, permitiendo así un intercambio térmico muy lento a través de la bolsa. Una vez igualadas las temperaturas se empieza a agregar agua del sistema dentro de la bolsa, 50mL cada 20 minutos por alrededor de 2 horas, o hasta que se igualen los parámetros. Con este método también se equilibra la salinidad lo que permite a los peces ajustarse a los cambios de condiciones iónicas evitando así choques osmóticos que pueden provocar la muerte al animal o daños internos muy graves (Bocek, 2000), de igual forma que se aumentan los niveles de oxígeno y se equilibra el pH que es otro factor de importancia, el cual generalmente baja sus niveles durante el confinamiento por la producción de CO₂ generado por la respiración, disminuyendo la alcalinidad del agua (Aquanovel, 2008b). Una vez se equilibradas las condiciones del agua de la bolsa, la manera más rápida de trasladarlos sin provocar daños es voltear la bolsa o el recipiente dentro del sitio donde se mantendrán y dejar que salgan (Figura 65 y Figura 66).



Figura 65. Aclimatación y cuarentena de *H. reidi*, recepción (A y B), observación del estado (C), nivelación de parámetros (D y E), final de la aclimatación (F).

Con la aclimatación básicamente se da inicio a la cuarentena, proceso que se aplica para evitar la entrada de posibles agentes patógenos al sistema (Bocek, 2000), también es usado para procesos de tratamiento y recuperación de enfermedades adquiridas en el sitio donde se mantienen. Cuarentena es sinónimo de 40 días, sin embargo este proceso se puede dar por culminado luego de dos o tres semanas (Aquanovel, 2008b). Los acuarios o tanques para cuarentena se manejan sin recirculación; no deben contener ningún tipo de sustrato, aunque se deben utilizar objetos que sirvan de refugio evitando

que sean de material poroso; los animales mantenidos en cuarentena se deben alimentar diariamente, y se debe hacer un recambio diario de agua de al menos un 10% del volumen total del tanque. Lo más importante de este período es la observación, por lo tanto ante cualquier eventualidad como muerte, desaparición, agresión comportamientos anormales o, aparición de algún nuevo síntoma de enfermedad se debe reaccionar de forma inmediata y aplicar los correctivos correspondientes. Una vez se da por finalizada la cuarentena, se trasladan los organismos a los acuarios asignados, los cuales deben estar en acondicionados para recibir a los animales.



Figura 66. Proceso de aclimatación para *G. loreto*, recepción (A), homogenización de temperatura (B y C), suministro de agua (D y E), paso de la bolsa a la canaleta (F).

CONSIDERACIÓN FINAL

En el país, el aprovechamiento de peces ornamentales principalmente continentales se realiza con fines de exportación desde la década de 1950, y hoy pasados más de 50 años, no existe un conocimiento biológico y ecológico claro de este recurso que permita un aprovechamiento sostenible. Los peces ornamentales tuvieron un auge enorme en la década de los 70 como consecuencia de los estímulos gubernamentales para su explotación (Castro-Espinosa, 1985). En 1975, Colombia fue el tercer exportador de peces ornamentales del mundo (Rodríguez-Gómez, 1985) y para 1978 se movilizaban cerca de 3.150.000 ejemplares provenientes del río Amazonas, 850.000 del río Putumayo, y 4.600.000 de la zona de Inírida (Mejía *et al.*, 1979). Galvis-Vergara *et al.* (2007) destacan que la exportación a finales de la década de los 70 llegó a producir cerca de ocho millones de dólares anuales y la exportación total de peces ornamentales del país entre 1995 y 2005 representó ingresos de 49,2 millones de dólares, de los cuales el 88% proviene de peces extraídos de la Orinoquia con un promedio anual de 2,2 millones de dólares. Sin embargo, hoy día Colombia se encuentra muy al margen del mercado internacional.

En relación con el aprovechamiento de peces ornamentales marinos se destaca que en los últimos cinco años el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives De Andrés” - INVEMAR ha venido realizando proyectos de investigación encaminados a la producción sostenible de recursos marino-costeros en términos del conocimiento sobre su producción natural y cómo esta puede ser aprovechada de manera racional por el hombre. Estos proyectos generan información relevante para la conservación de especies amenazadas por su sobreexplotación, no obstante, a pesar de la enorme importancia que poseen los peces ornamentales como recurso, se aprovecha de manera indiscriminada, con pocas o ninguna política de conservación y con desconocimiento o inadecuado uso de las artes de pesca y manejo post-captura, situaciones que generan mortalidad durante los procesos de pesca y almacenamiento de los individuos (Blanco-Castañeda, 1992; Blanco-Castañeda, 2002; Landines-Parra, 2001).

Dado que el comercio de peces marinos ornamentales en Colombia está prohibido por el gobierno nacional, imposibilita a los participantes, (pescadores, intermediarios y consumidores) del negocio acuarista, comercializarlos. Sin embargo, estos peces por tener una demanda nacional e internacional, promueven a que muchos de esos participantes recurran a una práctica ilegal, con poca conciencia sobre el impacto que ocasionan y generando expectativas de empleos (permanentes o temporales) en las comunidades de pescadores.

Una de las perspectivas tecnológicas que viene adquiriendo gran importancia y que forma parte prioritaria de la política del sector pesquero, es la promoción y desarrollo de la acuicultura en general y de la maricultura en particular. En este contexto, la maricultura representa la forma más eficaz y sostenible de asegurar que haya suficiente proteínas para alimentar a una

población en aumento, como actividad de cultivo ornamental y también se convierte en una alternativa ante la presión extractiva que se ejerce sobre los recursos que se concentran en la zona costera y que trae como consecuencia la disminución de la biodiversidad y alteración/destrucción de los hábitat, impidiendo a mediano y largo plazo la sostenibilidad de los recursos biológicos.

Para ello es necesario, y según se expresó en la Segunda Mesa Temática de Acuicultura Marina organizada en el 2010 por el ICA, la Fundación MarViva y la Universidad del Pacífico, que se posicione a la acuicultura marina como una prioridad y necesidad nacional, que se extienda a todas las escalas de producción. Esto se puede alcanzar a través del fortalecimiento de la institucionalidad mediante objetivos, metas y propuestas claras y definidas, haciéndose indispensable la integración y visión articulada de la cadena productiva, que trató de estimularse a través de la creación de organizaciones de cadenas en el sector agropecuario, pesquero, acuícola, con la ley 811 de 2003, pero requiere mayor apoyo.

Actualmente, desde el punto de vista ambiental, no se sabe cuáles son las zonas aptas para el desarrollo de proyectos de acuicultura en el mar. Dicha situación dificulta el desarrollo de la actividad, hace perder tiempo valioso a los ciudadanos, y deja un vacío que personas inescrupulosas pueden aprovechar para desarrollar actividades sin contar con los permisos, licencias o autorizaciones requeridas.

Se deben establecer por parte del Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial (MAVDT) las reglas y los criterios de ordenamiento ambiental del uso de los mares y propender por una zonificación del mar colombiano con el fin de generar un plan de ordenamiento marino, en coordinación con la Dirección General Marítima (DIMAR), el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales (UAESPNN), el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) y la asesoría técnica del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR), entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

- Acero, A. y J. Garzón. 1987a. Los peces marinos hallados durante la expedición Urabá II al Caribe chococoano (Colombia). An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín. 17: 113-136.
- Acero, A. y J. Garzón. 1987b. Peces arrecifales de la región de Santa Marta (Caribe colombiano). I. Lista de especies y comentarios generales. Act. Biol. Col. 1 (3): 83-105.
- Acero P., A. y J. Garzón. 1985. Peces de las Islas del Rosario y San Bernardo (Colombia). I. Caracterización del área y lista de especies. Actual. Biol. 14 (54): 37-148.
- Acero, A., J. Garzón y F. Köster. 1984. Los peces óseos conocidos de los arrecifes del Caribe colombiano, incluyendo 31 nuevos registros y descripciones. Caldasia. 14 (66): 37-84.
- Acero, A. L.M. Mejía y M. Santos-Acevedo. 2002. *Hippocampus reidi*, 81-83 pp. En: Mejía L.S. y A. Acero. (Eds). Libro rojo de peces marinos de Colombia. INVEMAR, Instituto de Ciencias Naturales – Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Medio Ambiente. La serie de Libros Rojo de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá. 174 p.
- Aguilar, P.A. y R. Appeldoorn. 2008. Spatian Distribution of Marine Fishes Along a Cross Sheef Gradient Containing a Continuum of Mangrove Seagrass-Coral Reefs of South Western Puerto Rico. Estuarine Coastal and Shelf Science. 76: 378-394.
- Alcaide, A., C. Gil-Sanz, E. Sanjuán, D. Esteve, C. Amaro y L. Silveira. 2001. *Vibrio harveyi* causes disease in seahorse, *Hippocampus* sp. Journal of Fish Disease. 24 (5): 311-313.
- Allen E.J. y E.W. Nelson. 1910. On the artificial culture of marine plankton organisms. En: A. Kinne (Eds.), Marine Ecology, Vol. III, Cultivation Part I, London.
- Álvarez, R. y J. Blanco. 1985 Composición de las comunidades ictiofaunísticas de los complejos lagunares y estuarinos de la Bahía de Cartagena, Ciénaga de Tesca y Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. 654 p. En: Yáñez-Arancibia, A. (Ed.) Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons: Toward an ecosystem interaction. UNAM, México. 535-556.
- Álvarez-Lajonchère, L. y O. Hernández-Molejón. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A., U.S.A. 424 p.
- Amador, L.M. 1982. Reproductive biology of the fairy basslet, *Gramma loreto* Poey. Master thesis. Univ. of Puerto Rico, Mayagüez. 39 p.
- Ando, Y., S. Kobayashi, T. Sugimoto y T. Takamaru. 2004. Positional distribution of n-3 highly unsaturated fatty acids in triacyl-sn-glycerols (TAG) of rotifers (Brachionus plicatilis) enriched with fish and seal oils TAG. Aquaculture. 229: 275-288.
- Aquanovel. 2008a. Atlas de Peces de Agua Salada. *Gramma loreto*. <http://www.aquanovel.com/gramma.htm>
- Aquanovel. 2008b. Atlas de enfermedades: Aclimatación de los peces y cuarentena. <http://www.aquanovel.com/cuarentena.htm>
- Arcos-Pulido, M. 2008. Caballitos de mar (*Hippocampus* spp.) de Colombia: situación actual, instrumentos de gestión y acciones prioritarias de conservación. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. 119 p.
- Asoh, K. 1996. Reproductive behavior and mating system of the fairy basslet, *Gramma loreto*. Copeia. 4: 1037-1048.
- Asoh, K. 1992. Reproductive Biology of the Fairy Basslet, *Gramma loreto*. Master Thesis. University of Puerto Rico, Mayaguez. 56 p.
- Asoh, K. y D.Y. Shapiro. 1997. Bisexual juvenile gonad and gonochorism in the fairy basslet, *Gramma loreto*. Copeia. 1: 22-31.
- Asoh, K. y T. Yoshikawa. 1996. Nesting behavior, male parental care, and embryonic development in the fairy basslet, *Gramma loreto*. Copeia. 1: 1-8.
- Azula, F. y J. León. 2000. Aspectos del comportamiento reproductivo de *Hippocampus reidi* ensayos de dietas alimentarias para el levante de juveniles. Seminario de investigación (Proyectos I). Bogotá. Universidad Jorge Tadeo Lozano. 70 p.
- Barbosa, W.A. 2005. Efecto de la calidad de la dieta sobre la fisiología energética de los bivalvos *Argopecten nucleus* y *Nodipecten nodosus* en condiciones de laboratorio. Trabajo de pregrado Biólogo. Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia. 59 p.
- Barnabé, G. 1991. Acuicultura 1. Ediciones Omega, SA. Barcelona. 153 p.
- Bartley, D.M. 2000. Responsible ornamental fisheries. FAO Aquat. Newsl. 24: 10-14.
- Baruque, E. 1978. Peces marinos colectados en la Península de La Guajira. Trabajo de grado Biología Marina, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá. 81 p.

- Beaz-Paleo, J.D. 2007. Ingeniería de la acuicultura marina. Instalaciones en tierra. Publicaciones científicas y tecnológicas del Observatorio Español de acuicultura. Madrid. 205 p.
- Blanco, J. 1991. El fitoplancton: su cultivo. Consellería de pesca, marisqueo e acuicultura. Alva A. Coruña, España. 32 p.
- Blanco-Castañeda, M.C. 1992. Ordenamiento de las pesquerías de los peces ornamentales en los Llanos Orientales. INDERENA-Reg. Llanos Orientales. Villavicencio. Informe Técnico.
- Blanco-Castañeda, M.C. 2002. Consideraciones sobre los peces ornamentales de Colombia. En: Mojica-Corso, J.I, C. Castellanos-Castillo J.S. Usma-Oviedo y R. Álvarez-León (eds.). El libro rojo de los peces dulceacuícolas de Colombia. La Serie de Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. ICN-UNC/IIBAVH/MINAMBIENTE/CI-Colombia. Bogotá. 47-54.
- Bocek, A. 2000. Manual: Acuicultura y aprovechamiento del agua para el desarrollo rural: Transporte de peces. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Swingle Hall Auburn University. 1-22.
- Böhlke, J. y J. Randall. 1963. The Fishes of the Western Atlantic Serranoid Genus *Gramma*. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 115 (2): 33-52.
- Boyd, E.C. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Agricultural Experiment Station Auburn University. Alabama. 382 p.
- Bruckner, A.W., J.D. Fields y N. Daves. (Org.). 2005. The Proceedings of the International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade. NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-35. 1 ed. Silver Spring. 173 p.
- Brusca, R. y G. Brusca. 2003. Invertebrates. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachusetts, U.S.A. 903 p.
- Bull, C. 2002. Seahorse Husbandry in Public Aquaria: 2002 Manual, with chapters contributed by members of the Syngnathid Discussion Group. Chicago, John G. Shedd Aquarium, 56 p.
- Burns, C., 2007. Guía de enfermedades y tratamientos para caballitos de mar. (<http://www.ecoralia.com>). consultado 8/feb/2011.
- Cabrera, A. 2010. Reproducción y levante del caballito de mar. Revista EXPEDITIO 02.Mayo. Universidad Jorge Tadeo Lozano. ISSN: 2145-6836. 19 p.
- Carpenter, K.E. (ed.). The living marine resources of the Western Central Atlantic. Volume 2: Bony fishes part 1 (Acipenseridae to Grammatidae). FAO Species identification guide for fishery purposes and American Society of Ichthyol. and Herpetol. Special Publication No. 5. Rome, FAO. 2002. 601-1374.
- Carpio, V. y J. Cabello. 2008. Caballitos de mar en el Acuario marino: Club acuarios marinos. Foro en internet <http://www.acuarios-marinos.com/forums/showthread.php?14027-Caballitos-de-mar-en-el-acuario-marino-por-Victor-Carpio-y-Josep-Cabello>
- Castro-Espinosa, D.M. 1985. Fauna acuática de la Amazonia colombiana. En: "Primer Encuentro Nacional de Investigadores de la Amazonia". Colciencias (Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales "Francisco José de Caldas"), ICFES (Instituto Colombiano para el Fomento de la Educación Superior), Universidad de la Amazonia. Bogotá. Serie Memorias Eventos Científicos Colombianos. 38: 75-82.
- Cavalin, F.G. y C.R. Weirich. 2009. Larval performance of aquacultured Florida pompano (*T. carolinus*) fed rotifers (*B. plicatilis*) enriched with selected commercial diets. Aquaculture. 292: 67-73.
- CEINER. 1995. Reproducción y cría del caballito de mar (*Hippocampus reidi*) en el laboratorio. Boletín Informativo Centro de investigación de educación y recreación Oceanario Islas del Rosario. Cartagena. Colombia. 4: 6 p.
- CENAIM. 2010. Manual para la producción y uso de organismos zooplanctónicos. <http://www.cenaim.espol.edu.ec/publicaciones/artemia/13-15.pdf>. 28/dic/10.
- Cervigón, F. 1991. Los peces marinos de Venezuela. Vol I. Segunda edición. Fundación Científica Los Roques, Caracas. 425 p.
- Chamorro, A. y M. Planas. 2007. Diseño de acuarios para mantenimiento y reproducción en cautividad del caballito de mar *Hippocampus guttulatus* Cuvier 1829. XI Congreso Nacional de Acuicultura, 24-28 septiembre. Vigo, España. 1541-1544.
- Chang, M. y S.E. Southgate. 2001. Effects of varying dietary fatty acid composition on growth and survival of seahorse, *Hippocampus* spp., juveniles. Aquarium Sci. Conservation. 3: 205-214.
- Choo, C.K. y H.C. Liew. 2006. Morphological development and allometric growth patterns in the juvenile seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker. Journal of Fish Biology. 69: 426-445.
- CITES. 2004. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade Mazatlan (Mexico), February 2004. 3-5

- CITES, 2006. Apendice II. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna. <http://www.cites.org>
- Civera-Cerecedo, R., C.A. Álvarez-González y F.J. Moyano-López. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. En: Cruz, L.E., D. Rique, M.G. Nieto, D. Villareal y M. Scholz. 2004. Memorias del VII Simp. Int. de nutrición acuícola. México. 8-94.
- Claro, R. y K. Cantelar. 2003. Rapid assessment of coral communities of María la Gorda, Southeast Ensenada de Corrientes, Cuba (part 2: reef fishes). En J.C. Lang (ed.), Status of coral reefs in the Western Atlantic: Results of initial surveys, Atlantic and Gulf Rapid Reef Assessment (AGRRA) Program. Atoll. Res. Bul. 496: 278-293.
- Coll-Morales J. 1991. Acuicultura marina animal. Ediciones Mundi-Prensa. 3ª Edición. Madrid España. 522-567.
- Corsten-Hulsmans, C.J.F. y A.J.A. Corsten. 1974. *Gramma loreto*, een hermafrodiete Koraalvis van Curacao: oecologische aspecten en gevolgen van bevissing. Katholieke Universiteit Nijmegen. Report. Zool. Lab. Dept. Dieroecologie. 92: 31-56.
- Costa, C.A.L., D.A. Farias, M.I. Zapparoli, A.L. Vendel, R.T. Pereira y R.I. Lucena. 2008. Assessing diet composition of seahorses in the wild using a non destructive method: *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) as a study-case. Neotropical Ichthyology. 6 (4): 637-644.
- Delgado, G. 1993. Guía para el cultivo de microalgas. Instituto Nal de pesca. Guayaquil. 50 p.
- Devlin, R. y Y. Nagahama. 2002. Sex Determination and Sex Differentiation in Fish: an Overview of Genetic, Physiological and Environmental Influences. Aquaculture. 208: 191-364.
- Dias, T.L.P. e I.L. Rosa. 2003. Habitat preferences of a seahorse species, *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil. Aquatic. 6 (4): 165-176.
- Douillet, P.A. 2000. Bacterial additives that consistently enhance rotifer growth under synxenic culture conditions: 1. Evaluation of commercial products and pure isolates. Aquaculture. 182: 249-260.
- Erdman, D.S. 1976. Spawning patterns of fishes from the northeastern Caribbean Common Wealth of Puerto Rico. Agric and Fish. Contr. Comm. Fish. Lab. 8: 1-36.
- Estudillo-del Castillo, C., R.S. Gapasin y E.M. Leaño. 2009. Enrichment potential of HUFA-rich thraustochytrid *Schizochytrium mangrovei* for the rotifer *B. plicatilis*. Aquaculture. 293: 57-61.
- Ejvemo, J.O. y O.Yngvar. 1999. Effect of food concentration on the growth and production rate of *Artemia franciscana* feeding on algae (T. iso). J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol. 242: 273-296.
- Ferreira, M., A. Maseda, J. Fábregas y A. Otero. 2008. Enriching rotifers with "premium" microalgae. *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO. Aquaculture. 279: 126-130.
- Figueiredo, J., R. van-Woesik, J. Lin y L. Narciso. 2009. *Artemia franciscana* enrichment model — How to keep them small, rich and alive? Aquaculture. 294: 212-220.
- Foyn, B. 1934a. Lebenszyklus, cytologie und sexualität der chlorophyceae *Cladophora subriana*, In: O. Kinne (Ed.). Mar. Ecol. III (I), London.
- Foyn, B. 1934b. Lebenszyklus und sexualität der chlorophyceae *Ulva lactuca*, In: O. Kinne (Ed.). Marine Ecology Vol. III, Part I, London.
- Freeman, S. y W. Alevizon. 1983. Aspects of territorial behavior and habitat distribution of the fairy basslet *G. loreto*. Copeia. 3: 829-832.
- Galvis-Vergara, G, J.I. Mojica-Corso, F. Provenzano-Rizzi, C. Lasso-Alcalá, D. Taphorn, R. Royero, C. Castellanos-Castillo, A. Gutiérrez, M. Gutiérrez, Y. López, L. Mesa, P. Sánchez-Duarte y C.A. Cipamocha-Castro. 2007. Peces de la Orinoquia colombiana con énfasis en especies de interés ornamental. En: Sanabria-Ochoa, A.I, P. Victoria-Daza e I.C. Beltrán (Eds). INCODER y Universidad Nacional de Colombia. Primera edición. Bogotá. 225 p.
- García-Cagide, A., R. Claro y B. Koshelev. 1994. Reproducción. En: Ecología de los peces marinos de Cuba. Claro, R. Ed., Instituto de Oceanología y CIQRO, México. 187-209.
- Garrick-Maidment, N. 1997. Seahorses conservation and care. Kingdom Books. England, U.K. 48 p.
- Garzón-Ferreira, J. 1989. Contribución al conocimiento de la ictiofauna de Bahía Portete, departamento de La Guajira, Colombia. Trianea. 3: 149-172.
- Giraldo, J. y P. Polanía. 2005. Cría de Caballito de Mar *Hippocampus reidi* bajo tres sistemas controlados en el Acuario Mundo Marino (Santa Marta, Colombia). Revista Científica U.D.C.A actualidad y divulgación científica. 8 (2): 77-84.
- Gómez, A. 1972. Estudio comparativo de la ictiofauna acompañante del camarón rojo, *Penaeus duorarum notialis*, Pérez-Farante y *Penaeus brasiliensis* Latreille; y el camarón blanco, *Penaeus schmitti* (Burkenroad) en zonas costeras al sur de Cartagena. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Bogotá. 132 p.
- González, H.E., M.C. Guevara, A. Alcalá y R. Selema. 2004. "Algunos aspectos biológicos sobre el Caballito de Mar Narizón (*Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933) en cautiverio". Acuario Nacional (Cuba). CIVA. Internet: (<http://www.civa2004.org>), consultado 12/ene/2011.
- Gutiérrez, L. y M. Báez-Hidalgo. 2002. Reproducción y alimentación del loreto *G. loreto* Poey, 1868 (Pisces, Grammidae), en la costa norte de la Habana, Cuba. Rev. Invest. Mar. 23 (3): 195-201.
- Hamre, K., T.A. Mollan, O. Sæle y B. Erstad. 2008. Rotifers enriched with iodine and selenium increase survival in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. Aquaculture. 284: 190-195.
- Han, K., I. Geurden y P. Sorgeloos. 2000. Enrichment strategies for Artemia using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. Aquaculture. 183: 335-347.
- Harel, M., W. Koven, I. Lein, Y. Bar, P. Behrens, J. Stubblefield, Y. Zohar y A.R. Place. 2002. Advanced DHA, EPA and ARA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. Aquaculture. 213: 347-362.
- Helm, M.M., N. Bourne y A. Lovatelli. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Doc. Téc. 471. Roma. 182 p.
- Hirata, H. 1975. Preliminary report on the photoperiodic acclimation for growth of Chlorella cells in synchronized culture. Mem. Fac. Fish. Kagoshima, Univ. 24: 1-6.
- Hoff, F. y T. Snell. 2004. Plankton Culture Manual. Florida Aqua farms, Inc, Florida. 183 p.
- Hora, M.S. y J.C. Joyeux. 2009. Closing the reproductive cycle: growth of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei, Syngnathidae) from birth to adulthood under experimental conditions. aquaculture. 292: 37-41.
- Hora, M.S. y J.C. Joyeux. 2007. Cultivo de cavalo marinho, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae). XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR Florianópolis. 15 a 19 de abril de 2007.
- Hu, H. y K. Gao. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO2 concentration. Biotechnol Lett. 28: 987-992.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. 34-77. En: Lasker, R. (Ed.). Marine fish larvae: morphology, ecology and relation to fisheries. U. of Washington press, Seattle. 131 p.
- Indiviglio, F. 2002. Seahorses a complete pet owner's manual. Barrons Educational Series. USA. 95 p.
- Indiviglio, F. 2001. Seahorses: Everything about history, care, nutrition, handling and behaviour. 95 p. ISBN 0-7641-1837-4.
- Koldewey, H. 2005. Syngnathid husbandry in public aquariums. 2005 manual. Zoological society of London and Project seahorse. London, UK. 137 p.
- Koldewey, H., J. Heather y K.M. Martin-Smith. "A global review of seahorse". 2009. Aquaculture. 302: 131-152.
- Landines-Parra, M.A. 2001. Algunas experiencias de cultivo de peces ornamentales. En: Rodríguez-Gómez H., P. Victoria-Daza y M. Carrillo-Ávila (Eds). Fundamentos de acuicultura continental. 2 Ed. Bogotá, Colombia. INPA. 437 p.
- Lavens, P. y P. Sorgeloos, 1996. Manual of the production and use of live food for aquaculture. FAO. Technical paper 361. Rome, Italy. 295 p.
- León, J.A. y A. Jáuregui. 2001. "Ensayos alimentarios en juveniles de *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) con fines de levante, mediante la implementación de dietas basadas en microalgas (Chaetoceros y Spirulina) y nauplios de Artemia, acuario mundo marino". IX Congreso Latinoamericano sobre ciencias del mar. San Andrés Islas. Internet: <http://www.alicmar.org/congresos/documentos/noveno/Recursos%20pesqueros,%20maricultura,%20biotecnologia%20y%20productos%20naturales/Maricultura/409.PDF>.
- Lourie, S.A., S.J. Foster, E.W.T. Cooper y A.C.J. Vincent. 2004 A guide to the identification of seahorses. Project Seahorse and TRAFFIC North America, Washington D.C.: University of British Columbia and World Wildlife Fund. 114 p. ISBN 0-89164-169-6
- Lourie, S.A., A.C.J. Vincent y H.J. Hall. 1999. Seahorse: An Identification Guide to the World's Species and Their Conservation. Londres: Project Seahorse. 214 p.
- Martinez-Cardenas, L. y G.J. Purser. 2007. Effect of tank colour on Artemia ingestion, growth and survival in cultured early juvenile pot-bellied seahorses (*H. abdominalis*). Aquaculture. 264: 92-100.
- Masonjones, H. y S. Lewis. 1996. Courtship behavior in the dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae*. Copeia. 3: 634-640.
- McEvoy, L.A., J.C. Navarro, J.G. Bell y J.R. Sargent. 1995. Autoxidation of oil emulsions during the Artemia enrichment process. Aquaculture. 134: 101-112.
- Melo, A.F. 2010. Efecto de la temperatura y la salinidad en la supervivencia y crecimiento de crías de *Hippocampus reidi* en cautiverio. INVEMAR. 36 p.

- Mejía, L. y J. Garzón. 2000. Estructura de comunidades de peces arrecifales en cuatro atolones del archipiélago de San Andrés y Providencia (Caribe Sur Occidental). *Rev. Biol. Trop.* 48 (4): 883-896.
- Mejía, M., W.J. Plantinga, D.A. Diazgranados, A. Ortiz y A. De Mendoza. 1979. Socio-economía. En "La Amazonia colombiana y sus recursos". PRORADAM (Proyecto Radargramétrico del Amazonas, Colombia), fotografías, mapas (1:500.000). IGAC, (Instituto Geográfico Agustín Codazzi), Bogotá.
- Montolio, M. y E. González. 2008. Caballitos de mar. *Acuario Nacional de Cuba. Serie Conozcamos el mar.* 9: 28 p.
- Morales, C.J. 1982. Acuicultura marina animal. Tesis doctoral. Massachusetts Institute of Technology. 670 p.
- Muller-Feuga, A. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *J. Appl. Phycol.* 12: 527-534.
- Naegel, L. 1999. Controlled production of Artemia biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae Chaetoceros. *Aquacultural Engineering.* 21: 49-59.
- Olivier, K., 2003. World trade in ornamental species. In: Cato, J. y C. Brown. (eds.). *Marine Ornamental Species.* Blackwell Publishing. 49-64.
- Olivotto, I., M.A. Avella, G. Sampaolesi, C.C. Piccinetti., P. Navarro Ruiz y O. Carnevali. 2008. Breeding and rearing the longsnout seahorse *H. reidi*: Rearing and feeding studies. *Aquaculture.* 283: 92-96.
- Olsen, A.I., Y. Attramadal, K. Christie, T.H. Birkbeck, J. Skjermo y O. Vadstein. 2000. Effects of short term feeding of microalgae on the bacterial flora associated with juvenile *Artemia franciscana*. *Aquaculture.* 190: 11-25.
- Ortega, A. 1991. Zooplankton: su cultivo. Alva a Coruña Impresores. Xunta de Galicia, España. 30 p.
- Pajaro, M.G. y A.C.J. Vincent. 1996. Seahorse Conservation in the Central Philippines: A community Based Approach. *Sea Wind.* 10 (4): 7-12.
- Paniagua, M., Buckle, J., Granados L.F., Loya y C., Daniel H. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. Informe OC-89-01, CICESE, Ensenada Nuevo México, México. 67 p.
- Parsons, T.R., K. Stephens y D.H. Strickland. 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Board. Can.* 18 (6): 1001-1016.
- Pastor, L. y M. Báez-Hidalgo. 2002. Reproducción y alimentación del loreto *Gramma loreto* Poey, 1868 (Pisces, Grammidae) en la Costa Norte de la Habana Cuba. *Rev. Inv. Mar.* 23 (3): 195-201.
- Payne, M.F. y R.J. Rippingale. 2001. Rearing west Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched Artemia. *Aquaculture.* 188: 353-361.
- Peña-Aguado, F., S. Nandini y S.S.S. Sarma. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologia.* 35: 298-303.
- Petracini, R. 2001. Enfermedades de los peces: Como diagnosticar una enfermedad. Internet: (<http://www.elacuaria.com/secciones/enfermedades.htm>), consultado 7/feb/2011.
- Piecemo, 2008. Programa de investigaciones en Ecología y Especies marinas de ornato. <http://www.piecemo.org/lineas/otras/grammaloreto.htm>
- Pilson, M.E.Q. 1998. An Introduction to the Chemistry of the Sea. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ. 431 p.
- Planas, M. e I. Cunha. 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture.* 177: 171-190.
- Planas, M., J. Pintado, P. Quintana, A. Blanco y S. Valladares. 2006. Biología del "caballito de mar". Proyecto *Hippocampus*. Instituto de investigaciones marinas (CSIC). Vigo, España.
- Pro, S. 2008. Marine ich *Cryptocarium irritans*, a discussion of this parasite and the treatment options available, Part I. Reefkeeping online magazine. Internet: (<http://reefkeeping.com/translations/spanish/2003-08/sp/index.php>), consultado 28/enero/2011.
- Prieto-Acosta, L.R. 2001. Uso de filtros biológicos en larvicultura de camarón *Penaeus vannamei*. Trabajo de grado Escuela Superior Politécnica. Guayaquil. 80 p.
- Provasoli, L. 1968. Media and prospect for the cultivation of marine algae. En: Watanabe, A. y A. Hattory. (Eds.). *Culture and collections of algae.* Proc. US-Japan Conf. Hakone, Sept 1966. *Jap. Soc. Pl. Physiol.* 63-75.
- Reglamento de Pesca de Puerto Rico. 2004. Departamento de Recursos Naturales y Ambientales. San Juan, Puerto Rico. Núm. Reglamento: 6768. Fecha Radicación: 11 de febrero de 2004. 36 p.
- Ritar, A.J., G.A. Dunstan, M.M. Nelson, M.R. Brown, P.D. Nichols, C.W. Thomas, E.G. Smith, B.J. Crear y S. Kolkovski. 2004. Nutritional and bacterial profiles of juvenile Artemia fed different enrichments and during starvation. *Aquaculture.* 239: 351-373.
- Rodrigues, N.R.A. 2000. Aspectos morfológicos do trato digestório do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Percomorpha, Gasterosteiformes, Syngnathidae). Trabalho para a obtenção de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas. Santos, Brazil. 14 p.
- Rollefsen, G. 1939. Artificial rearing of fry of seawater fish. Preliminary communication. *Rapp. Proc.-Verb. Reun. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.* 109-133.
- Salgado, I. 2001. La artemia y su cultivo en el Perú. Universidad Nacional de Piura, Dpto. Académico de Ciencias Biológicas. Piura, Perú. 113 p.
- Scaratt, A.M. 1995. Techniques for rising lined seahorses (*Hippocampus erectus*). *Aquarium Frontiers.* 3: 24-29.
- Schöne, H.K. y A. Schöne. 1982. MET 44: A weekly enriched-sea water medium for ecological studies on marine plankton algae, and some examples of its application. *Bot. Mar. XXV:* 117-122.
- Seale, A. 1933. The brine shrimp (Artemia) as a satisfactory live food for fishes. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 63: 129-130.
- Sheng, J.Q., Q. Lin, Q.K. Chen, Y.L. Gao, L. Shen y J.Y. Lu. 2006. Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three spot juveniles *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture.* 256: 596-607.
- Shimek, R. 2008. The toxicity of some freshly mised artificial sea water; a Bad beginning for a reef aquarium. <http://reefkeeping.com/translations/spanish/2003-03/rs/feature/index.php>
- Silveira, R.B. 2000. Comportamento reprodutivo e desenvolvimento inicial de *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 em laboratório. *Biociências.* 8 (1): 115-122.
- SISFFA, 1964. Cultivation of live food organisms in the Yashima Station I. Fertilizers for Marine Phytoplankton Culture. *Saibai News.* 3 (4): 1-8
- Smith, G.G. A.J. Ritar, C.F. Phleger, M.M. Nelson, B. Mooney, D.D. Nichols y P.R. Hart. 2002. Changes in gut content and composition of juvenile Artemia after oil enrichment and during starvation. *Aquaculture.* 208: 137-158.
- Sobolewski, A. 1997. Breeding the fat bellied seahorse. *Austasia Aquaculture.* 11 (4): 71-72.
- Sorgeloos, P., P. Lavesne, P. Lé, W. Tackaert y D. Versichele. 1986. Manual para el cultivo y uso de artemia en acuicultura. FAO. Doc. Campo No.10. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB474S/AB474S00.htm>. Consultado: 6/ene/11.
- Srivastava, A., K. Hamre, J. Stoss, R. Chakrabarti y S.K. Tonheim. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture.* 254: 534-543.
- Storero, L.P. y R.L.A. González. 2009. Prey selectivity and trophic behavior of the Patagonian Seahorse, *Hippocampus patagonicus*, in captivity. *J. World Aquacul. Society.* 40 (3): 394-401.
- Suantika, G., P. Dhert, M. Nurhuda y P. Sorgeloos. 2000. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. *Aquacultural engineering.* 21: 201-214.
- Suchar, V.A. y P. Chigbu. 2006. The effects of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. *J. of Experimental Marine Biol. and Ecol.* 337: 96-102.
- Sukenik, A., O. Zamora y Y. Carmeli. 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. *Nannochloropsis* sp. *Aquaculture.* 117 (3-4): 313-326.
- Stein, J.R. 1979. Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements. Cambridge, Univ. Pres. 446 p.
- Timmons, M.B., J.M. Ebeling, F.W. Wheaton, S.T. Summerfelt, y B. Vinci. 2002. Sistemas de recirculación para la acuicultura. Fundación Chile, Santiago. 748 p.
- Toonen, R. y C. Wee. 2009. An experimental comparison of sandbed and plenum based systems. Part 1: Controlled lab dosing experiments. <http://www.advancedaquarist.com/2005/6/afeature>
- Torrentera, L. y A. Tacon. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura, una diagnosis. FAO, Proyecto GCP/RLA/075/ITA. Project reports. 12: 90 p.
- Urneyashi, O. 1975. Practical culture of microalgae. En: *Culture of marine life textbook for marine research course.* Japan International Cooperation Agency, Government of Japan. 6:131-144.
- Van Hauwaert, A., C. Nijs, T. De Wolf y P. Candreva. 2007. Progresos en larvicultura de peces marinos en nutrición, sanidad y técnicas de producción. 1101-1104. En: Cerviño, A., A. Guerra y C. Pérez. (Eds.). *Nutrición Animal.* XI Cong. Nal. Acuicul. Vigo, España. 1570 p.
- Velasco, L.A., S. Carrera y J. Barros. 2008. Producción de microalgas como alimento para pectínidos. 31-63. En: Velasco, L.A. (Ed.). *Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia.* Editorial Unimagdalena. Santa Marta. 258 p.

- Victoria, P. y D.P. Gómez. 1984. Nuevos registros de peces para la isla de San Andrés (Mar Caribe colombiano). An. Inst. Inv. Mar. Punta de Betín. 14: 115-132.
- Villamizar, N. 2001. Aspectos preliminares sobre la etología general y reproductiva del caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 bajo condiciones de cautiverio en el Acuario Mundo Marino Universidad Jorge Tadeo Lozano - UJTL. Tesis Biol. Mar., UJTL. Santa Marta. 79 p.
- Villamizar, N. y J.G. Domínguez. 1999. Aspectos preliminares sobre el comportamiento del caballito de mar *Hippocampus reidi* bajo condiciones de cautiverio. Seminario de Investigación. Universidad Jorge Tadeo Lozano. 35 p.
- Villegas Figueroa, P. 2007. Sistemas de recirculación de aguas y su rol en la acuicultura sustentable. Tesis de maestría. Iquique, Chile. 116 p.
- Vincent, A.C.J. 1996a. The international trade in seahorses. Traffic International, Cambridge. 163 p.
- Vincent, A.C.J. 1996b. Seahorse conservation in the central Philippines: A community-based approach. Sea Wind. 10 (4): 7-12.
- Vincent, A.C.J. 1995. Exploitation of seahorses and pipefishes. Naga, the ICLARM quarterly newsletter. 18 (1): 18-19.
- Vincent, A.C.J. y M.G. Pajaro. 1997. Community-based management for a sustainable seahorse fishery. En: Developing and sustaining world fisheries resources – The state of Science and Management. 2nd World Fisheries Congress. Eds: Hancock, D.A., D.C. Smith, A. Grand y J.P. Beumen. 761-766.
- Vincent, A. y L. Sadler. 1995. Faithful pair bonds in wild seahorses, *Hippocampus whitei*. Animal behavior. 50: 1557-1569.
- Walne P.R. 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria*, and *Mytilus*. Fish. Invest. 26: 1-62.
- Wabnitz, C., M. Taylor, E. Green y T. Razak. 2003. From Ocean to Aquarium. UNEP-WCMC, Cambridge, UK. http://www.unepwcmc.org/resources/publications/UNEPWCMC_bio_series/17.htm. 2/02/10.
- Webster, M. 2004. Density Dependence via Intercohort Competition in a Corral-Reef fish. Ecology. 85 (4): 986-994.
- Webster, M. 2003. Temporal Density Dependence and Population Regulation in a Marine Fish. Ecology. 84 (3): 623-628.
- Webster, M. y A. Hixon. 2000. Mechanisms and Individual Consequences of Intraspecific Competition in a Coral Reef Fish. Marine Ecology Progress Series. 196: 187-194.
- Wheaton, W.F., N.J. Honchheimer, E.G. Kaiser, J.M. Kronen, S.G. Libey y C.C. Easter. 1994. En Timmons, M.B. y T.M. Losordo (ed.). Nitrification filter principles. Aquaculture water reuse systems: Engineering design and management. USA. 125 p.
- Wittenrich, M. 2007. The complete illustrated breeder's guide to marine aquarium fishes: Mating, spawning and rearing methods for over 90 species. T.F.H. Publications. New Jersey. 304 p.
- Woods, C.M.C. 2000. Preliminary observation on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Syngnathidae) in captivity. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 34: 475-485.
- Wooten, W. 2004. A guide to the most common seahorse diseases and medical conditions. Internet: (<http://www.seahorse.org/library/articles/diseaseguide.shtml>), consultado 8/febrero/2011.
- World Bank. 2006. Aquaculture: Changing the Face of the Waters Meeting the Promise and Challenge of Sustainable Aquaculture. http://siteresources.worldbank.org/INTARD/Resources/Aquaculture_ESW_vGDP.pdf 148 p.
- Yanase, R. y T. Imai. 1968. The effects of light intensity and temperature on the growth of several marine algae useful for rearing molluscan larvae. Tohoku J. Agr. Res. 19: 75-82.
- Yoshimura, K., K. Tanaka y T. Yoshimatsu. 2003. A novel culture system for the ultra-high-density production of the rotifer, *B. rotundiformis*—a preliminary report. Aquaculture. 227: 165-172.
- Zea, S. 1994. Patterns of coral and sponge abundance in stressed coral reefs at Santa Marta, Colombian Caribbean, en: Soest, R.W.M. van, T.M.G. Kempen van y J.C. Braekman (eds.). Sponges in Time and Space. Ed. Balkema, Rotterdam. 257-264.
- Zhang, D.M., T. Yoshimatsu y M. Furuse. 2005. Effects of l-carnitine enrichment on the population growth, egg ratio and body size of the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. Aquaculture. 248: 51-57.
- Zuluaga-Arévalo, J.A. 2010. Influencia de frecuencia de nacimientos, morfometría y disponibilidad de alimento en reproductores sobre la viabilidad en juveniles de *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 bajo condiciones controladas (Acuario Mundo Marino, Santa Marta, Colombia, 2009-2010). Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Programa de Biología Marina. Santa Marta. 90 p.

Serie de Documentos Generales de INVEMAR

1. Programa Nacional de Investigación en Biodiversidad Marina y Costera PNIBM, 2000.
2. Referencias bibliográficas publicadas e inéditas de la Ciénaga Grande de Santa Marta I y II, 1996.
3. Política nacional ambiental para el desarrollo sostenible de los espacios oceánicos y las zonas costeras e insulares de Colombia, 2001.
4. Ojo con Gorgona. Parque Nacional Natural, 2001.
5. Libro rojo de peces marinos de Colombia, 2002.
6. Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia, 2002.
7. Las aguas de mi Ciénaga Grande, 2002.
8. Informe del Estado de los Recursos Marinos y Costeros en Colombia, 2001.
9. Guía práctica para el cultivo de bivalvos; madreperla, ostra alada, concha de nacar y ostiones, 2003.
10. Aproximación al estado actual de la bioprospección en Colombia, 2003.
11. Plan Nacional de Bioprospección, 2003.
12. Conceptos y guía metodológica para el Manejo Integrado de zonas costeras en Colombia, Manual 1: Preparación, caracterización y diagnóstico, 2003.
13. Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos: aguas, sedimentos y organismos, 2003.
14. Una visión de pesca multiespecífica en el Pacífico colombiano, 2003.
15. Amenazas naturales y antrópicas, 2003.
16. Atlas de paisajes costeros de Colombia, 2003.
17. Atlas de la calidad de las aguas marinas y costeras de Colombia, 2004.
18. Manual del sistema de información pesquera del INVEMAR, 2005.
19. Cartilla bacterias marina nativas, 2006.
20. Política Nacional del océano y los espacios Costeros PNOEC, 2007.
21. Manual metodológico sobre el monitoreo de los manglares del Valle del Cauca y su fauna asociada, 2007.
22. Lineamientos y estrategias de manejo de la Unidad Ambiental Costera (UAC) del Darién, 2008.
23. Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera - UAC Llanura Aluvial del Sur, Pacífico colombiano, 2008.
24. Cartilla lineamientos y estrategias para el manejo integrado de la UAC del Darién, Caribe colombiano, 2008.
25. Cartilla etapas para un cultivo de bivalvos marinos (pectínidos y ostras) en sistema suspendido en el Caribe colombiano, 2009.
26. Programa Nacional de investigación para la prevención, mitigación, y control de la erosión costera en Colombia – PNIEC, 2009.
27. Modelo de uso ecoturístico de la bahía de Neguanje Parque Nacional Natural Tayrona, 2009.

28. Criadero de postlarvas de pectínidos de interés comercial en el Caribe Colombiano, 2009.
29. Viabilidad de una Red de Áreas marinas Protegidas en el Caribe colombiano, 2009.
30. Ordenamiento Ambiental de los manglares del Archipiélago San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Caribe colombiano, 2009.
31. Ordenamiento ambiental de los manglares en La Guajira, 2009.
32. Ordenamiento ambiental de los manglares del municipio de Timbiquí, Cauca (Pacífico colombiano), 2009.
33. Ordenamiento ambiental de los manglares del Municipio de Guapi, Cauca, 2009.
34. Ordenamiento ambiental de los manglares del Municipio de López de Micay, Cauca, 2009.
35. Avances en el manejo Integrado de Zonas Costeras en el departamento del Cauca, 2009.
36. Ordenamiento Ambiental de los Manglares de la Alta, Media y Baja Guajira, 2009.
37. Aprendiendo a conocer y cuidar el agua en la zona costera del Cauca, 2009.
38. Guía de bienes y servicios del Old Point Regional Mangrove Park, 2009.
39. Aves del estuario del río Sinú, 2010.
40. Cultivo de pectínidos en el Caribe colombiano, 2010.
41. Planificación ecorregional para la conservación in situ de la biodiversidad marina y costera en el Caribe y Pacífico continental colombiano – Informe Técnico, 2010.
42. Guía para el reconocimiento de corales escleractinios juveniles en el Caribe, 2010.
43. Viabilidad socioeconómica del establecimiento de un AMP: la capacidad adaptativa de la comunidad de Nuquí (Chocó), 2010.
44. Guía metodológica para el manejo integrado de zonas costeras en Colombia. Manual 2: Desarrollo etapas I y I, 2010.
45. Pianguando: estrategias para el manejo de la piangua, 2010.