

Tutoriales prácticos de aplicación en Alimentación, Nutrición y Trazabilidad en Acuicultura



Universidad
de La Laguna

Práctica 1.1. Manejo y recuento de presas vivas



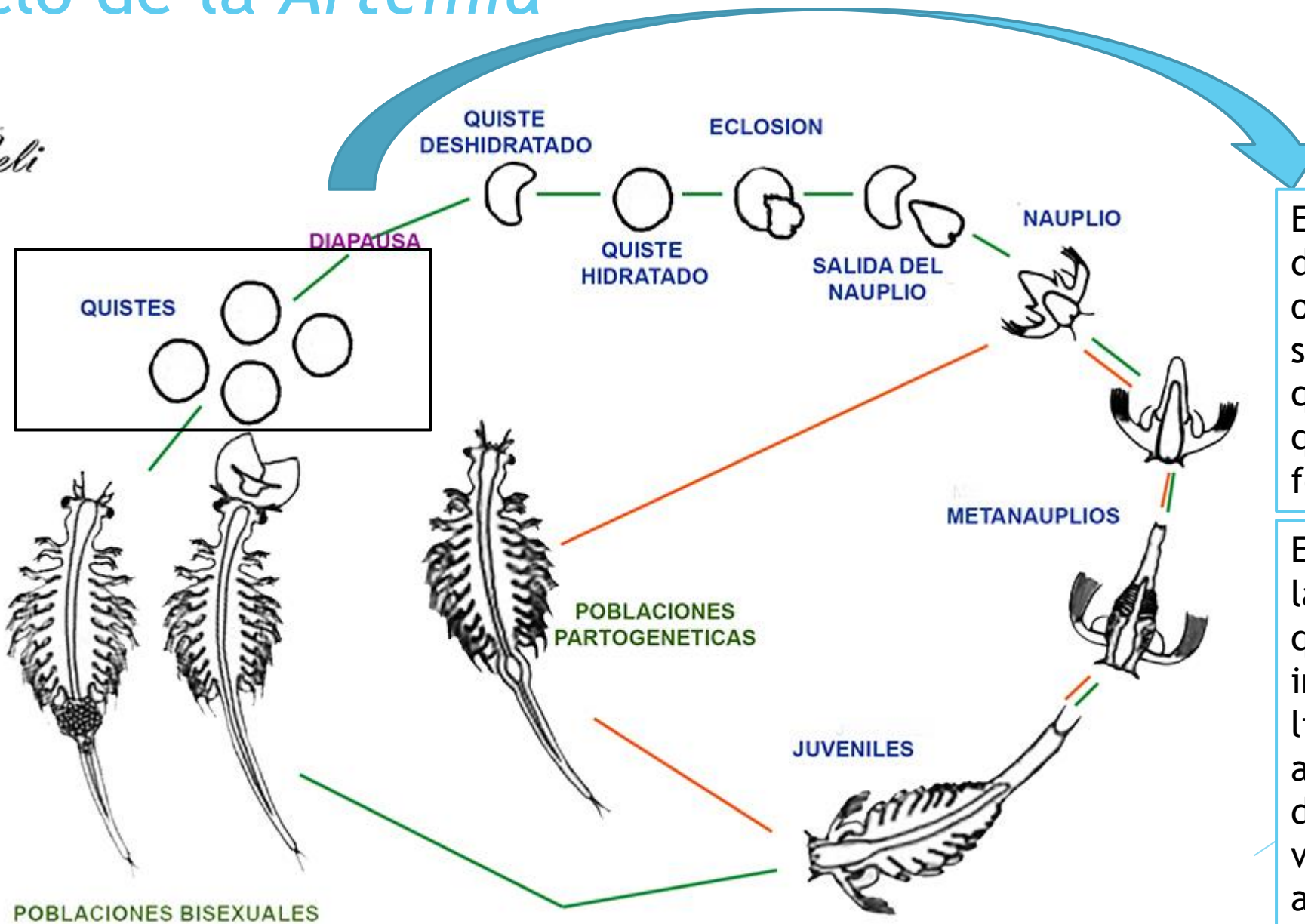
The background of the slide is a microscopic image of several Artemia nauplius larvae. These larvae are small, translucent, and pinkish-orange in color. They have a characteristic body shape with a head, three pairs of legs, and a long, thin tail. The larvae are scattered across the frame, some in focus and some blurred. The text is overlaid on this background.

1. Manejo y recuento de *Artemia*

Ciclo de la Artemia

©2015

Neli



En condiciones adversas o de estrés (alimento, oxígeno, temperatura, salinidad, etc..) se generan quistes/cistes de resistencia que pueden durar años de forma latente

Estos cistes que flotan en lagos salados y salinas, o que se producen en instalaciones, se recogen, limpian, deshidratan, almacenan y empaquetan de forma comercial para su venta y uso en acuicultura y acuariología

Para poder realizar uso de estos quistes, es recomendable realizar un proceso de descapsulación para eliminar la membrana externa o corion. El embrión libre de corion y sus fases posteriores (nuplios, metanauplios, Instar I, II, ...adultos) son utilizados en alimentación de diversas fases y especies de organismos acuáticos.



Descapsulación de *Artemia*

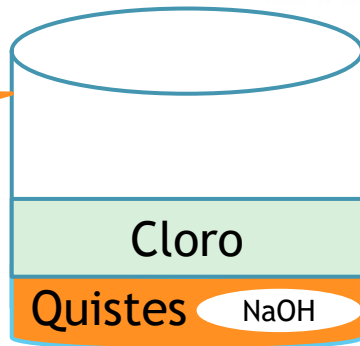
1. Pesar 1g de quistes



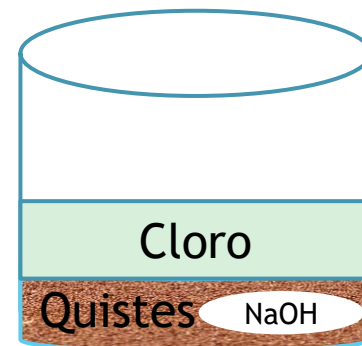
2. Hidratación: 5 mL de agua de mar 15 min (aprox) (activa el embrión).



3. Añadir 0,5g de cloro. Usar lejía (sin detergente). Calcular los mL necesarios según los gramos de cloro activo/L (información en la etiqueta).



5. Agitar manualmente hasta que desprenda calor y se vuelva de color naranja intenso (máximo 3-4 min).



4. Añadir 1 piedra de NaOH



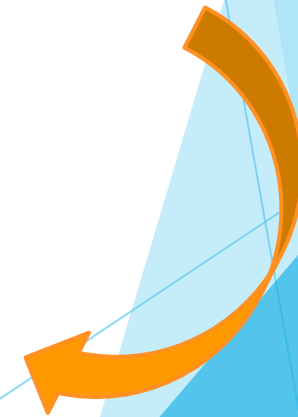
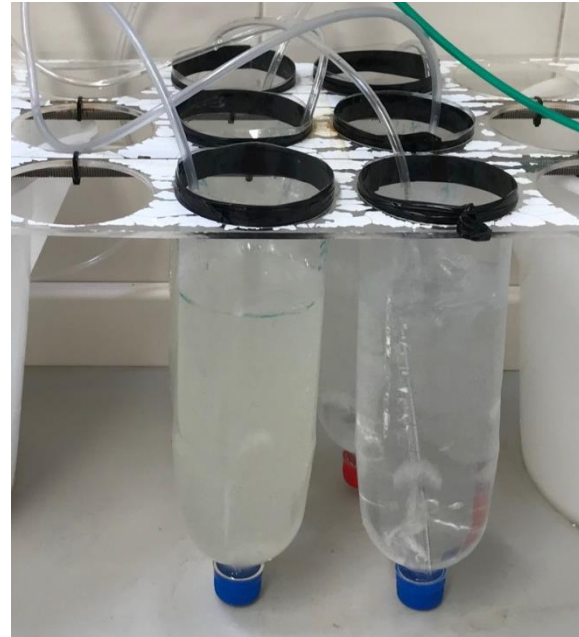
6. Filtrar y lavar con agua de mar para frenar la reacción y retirar bien el cloro.

7. Neutralizar restos de cloro de los embriones en un vaso de precipitado añadiendo 100 mg de tiocianato de sodio $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ + 500 mL agua de mar/10g de cistes.



8. Filtrar y lavar con agua de mar.

9. Pasar a un incubador con forma cilíndrica.
18-24 h a 29°C con aireación y luz intensa y constante.

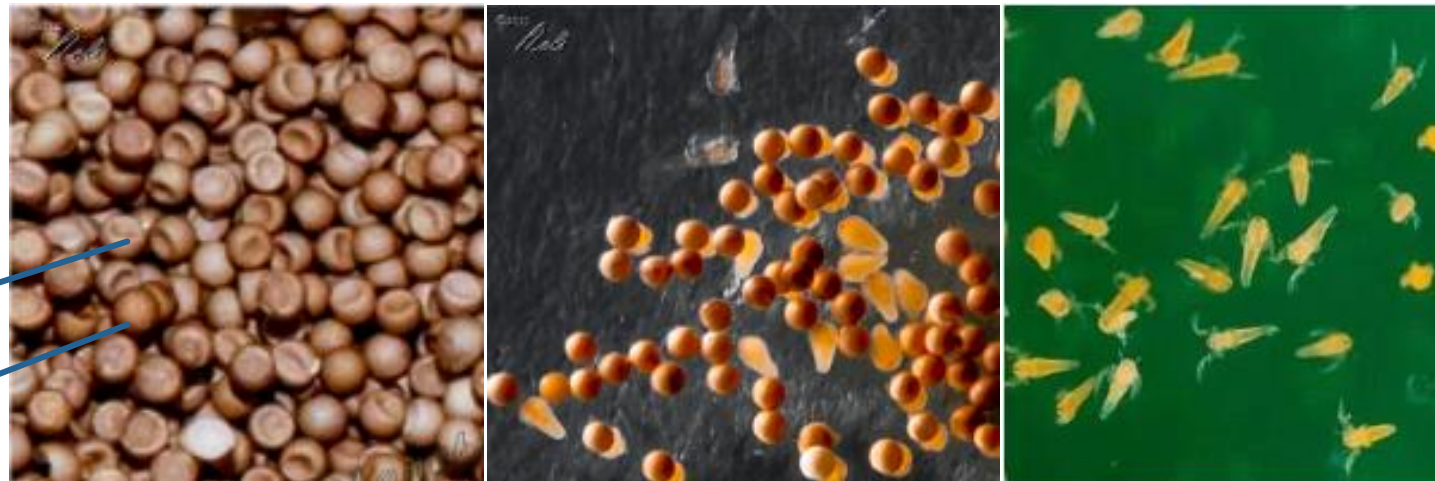


A las 18-24 h...

- ▶ Recuento de *Artemia* en la lupa y cálculo del porcentaje de eclosión.
- ▶ El fabricante proporciona un porcentaje de eclosión determinado que se debe parecer al que obtenemos en nuestra eclosión.
- ▶ Contar los nauplios eclosionados en 1 mL y extrapolarlo a nuestro volumen total del incubador.

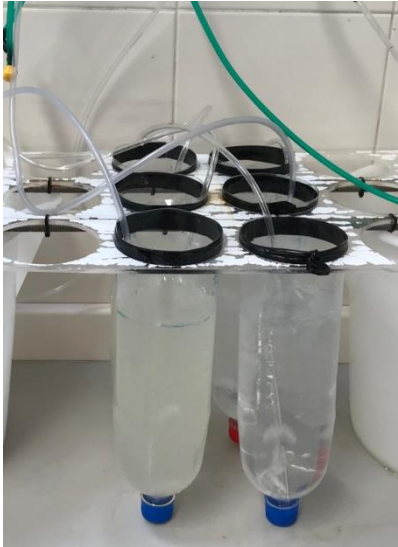
Quiste
hidratado

Quiste
deshidratado



Proceso de recuento

1. Coger una pequeña muestra de nuestro incubador en un vasito.



2. Con una pipeta, coger 1 mL del vasito, burbujeando y removiendo bien para evitar la sedimentación de la *Artemia*.

1 mL

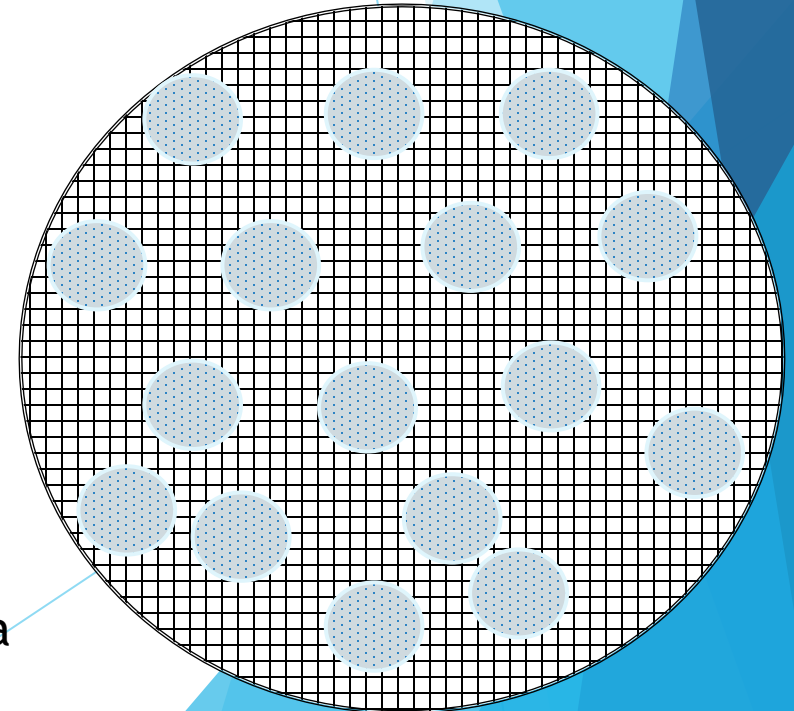


3. Repartir el mL en una placa de Petri reticulada, en gotitas muy pequeñas, para facilitar su recuento. Usar lugol para inmovilizar, si es necesario.

Nota: Es aconsejable contar diferentes muestras y hacer un promedio para aumentar la fiabilidad.



4. Observación y recuento en la lupa



2. Manejo y recuento de Rotífero



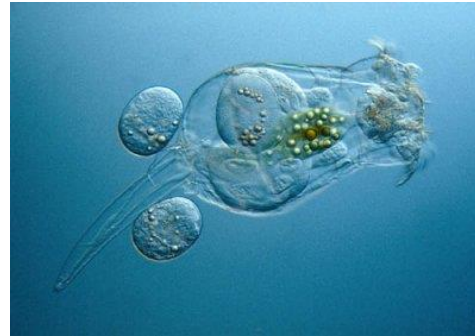
Cultivo de rotíferos



Densidad:
150-250
rot/mL

Llave inferior para cosecha y para la purga diaria (eliminar restos de levadura y de rotíferos en descomposición).

Agua de mar rebajada (25-30‰) a 19-22°C
Iluminación débil pero constante,
aireación no muy intensa.



Contaje

- Nº rotíferos/mL
- % ovígeras
- Total de rotíferos .

Levadura: (de panadería) 0,7-1,3g/millón de rotíferos y día, repartida en varias tomas.

Fitoplancton: 1-10 millones células/mL según finalidad y cepa de fito.

Cosecha/renovación
de medio diaria en
fase de crecimiento



15-25%



Reponer volumen extraído
con agua de mar filtrada y
fitoplancton (4:1)

Síntomas
Deterioro
del cultivo



Mal olor

Pérdida de movilidad

Se vuelven transparentes al no comer
Ovígeras descenden (no suben de 15-20% durante
días consecutivos, o incluso valores inferiores)

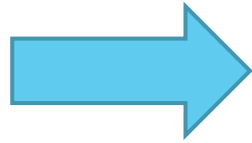
Filtrar tanque, arrancar de nuevo el cultivo en agua
y fitoplancton (4:1), a unos 50 rotíferos por mL.
Renovar el medio cuando la población empieza a
crecer de nuevo, manteniendo 150-250 rot/mL y
ovígeras al menos 20-30%.



(Foto: J.B.Leonardsen)

Proceso de recuento

1. Coger una pequeña muestra de nuestro tanque en un vasito.

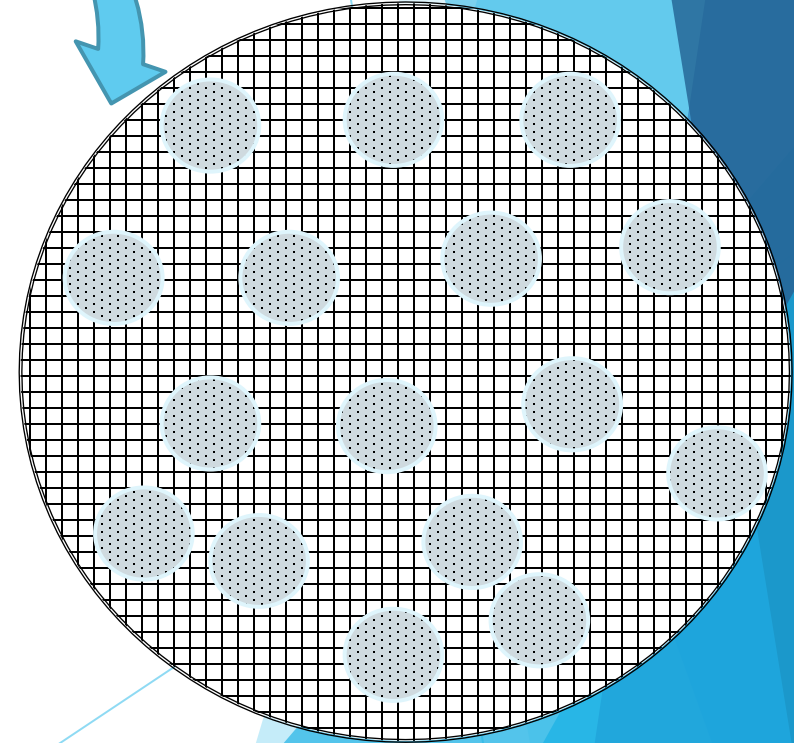


2. Con una pipeta, coger 1 mL del vasito, burbujeando y removiendo suavemente para evitar soltar los huevos y la sedimentación del rotífero.

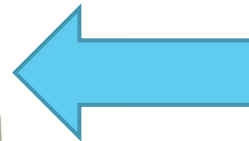
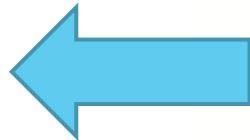
1 mL



3. Repartir 1 mL en una placa de Petri reticulada, en gotitas, para facilitar su recuento.



Nota: Es aconsejable contar diferentes muestras y hacer un promedio para aumentar la fiabilidad.



4. Observación y recuento en la lupa. Debido a su movilidad, se puede añadir Lugol, para inmovilizarlos y facilitar el conteo.

A microscopic view of a dense population of phytoplankton cells, likely a diatom or similar unicellular organism, showing their characteristic circular or oval shapes and internal structures. The cells are arranged in a somewhat regular pattern, with some showing distinct internal organelles and cell walls. The background is a light, slightly textured greyish-blue.

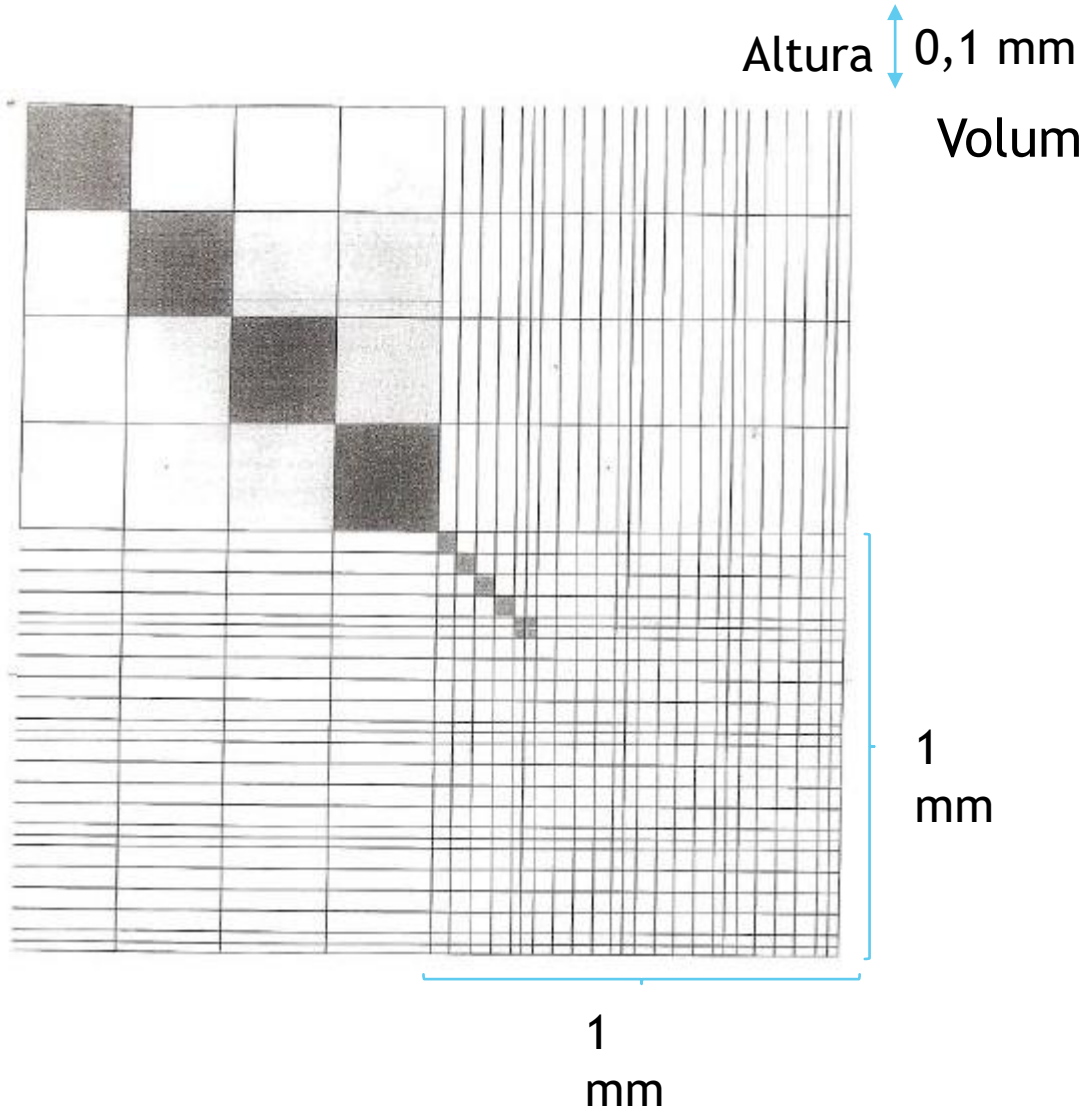
3. Recuento de fitoplancton

Recuento de fitoplancton

Para alimentar al rotífero, hay que llevar un recuento de fitoplancton (ya sea *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp....). Para ello usamos la Cámara de Neubauer o Thoma.



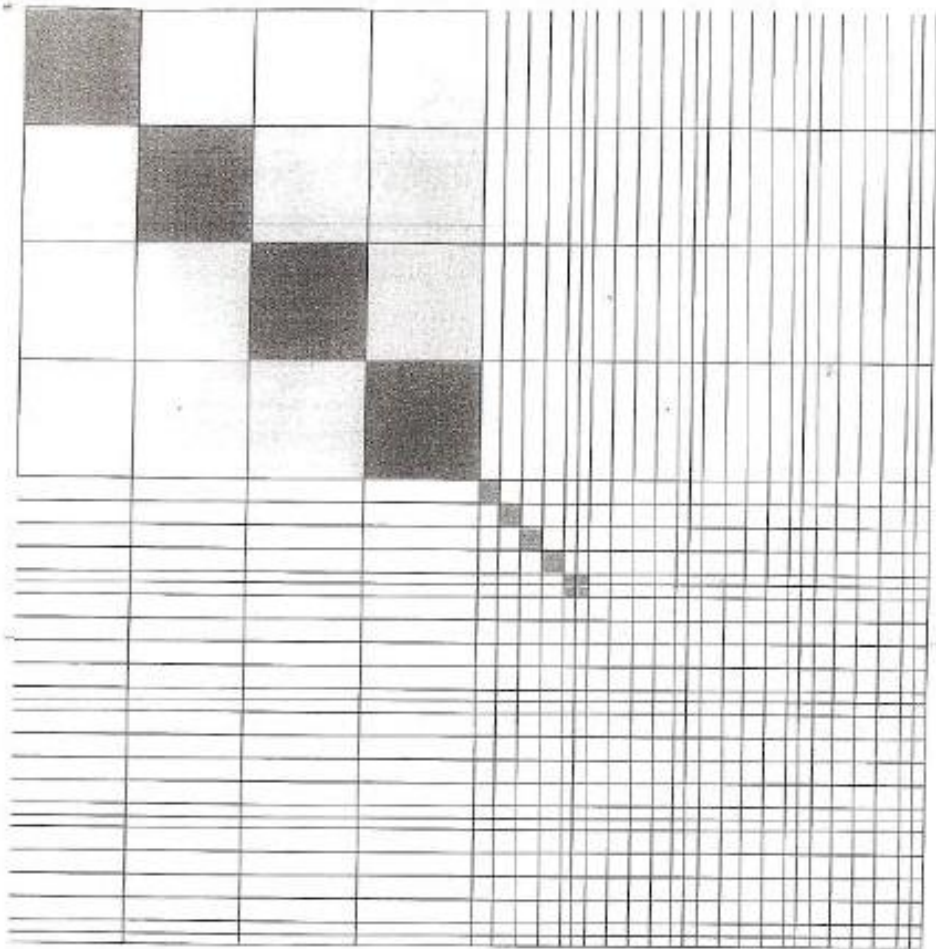
Uso de la cámara de Neubauer/Thoma



Volumen cuadrado: $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm} = 0,1 \text{ mm}^3 = 0,1 \mu\text{L}$

- ▶ La cámara está formada por cuadrados grandes
- ▶ Los cuadrados grandes, están divididos en 16 cuadrados medianos, cada uno de ellos con 25 cuadrados pequeños en su interior.
- ▶ El recuento se puede realizar
 - Cámara de Neubaer: tanto en el cuadrado grande como en los medianos, dependiendo del tamaño de las células en estudio.
 - Cámara de Thoma: En los cuadrados medianos

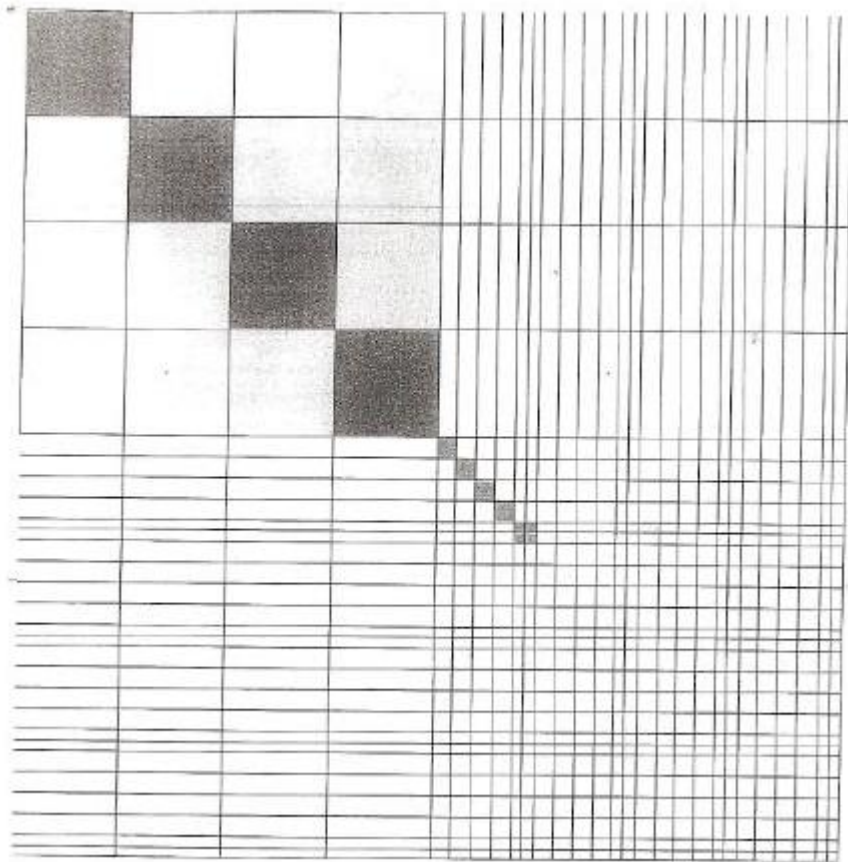
Uso de la cámara de Neubauer/Thoma



- ▶ Es aconsejable elegir un criterio para contar todas las células que están dentro de cada cuadrado y aquellas que están tocando, por ejemplo, los lados superior y derecho de dicho cuadrado (aunque estén parcialmente fuera). Pero no se contarán las que toquen los lados izquierdo e inferior superior.
- ▶ Si hemos contabilizado N células en uno de los cuadrados grandes (o sea, en 25 cuadrados medianos), la concentración de nuestra muestra será: $N \times 10^4$ cel/mL
- ▶ Si para hacer el recuento hemos tenido que concentrar o diluir la muestra inicial, hemos de tener en cuenta este factor de concentración-dilución.

Uso de la cámara de Neubauer

Según el área que elijamos contar, calcularemos nuestro número de células/mL de diferentes formas teniendo en cuenta el volumen de la cámara



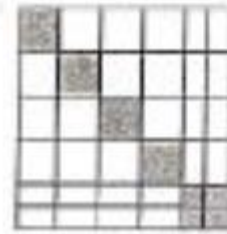
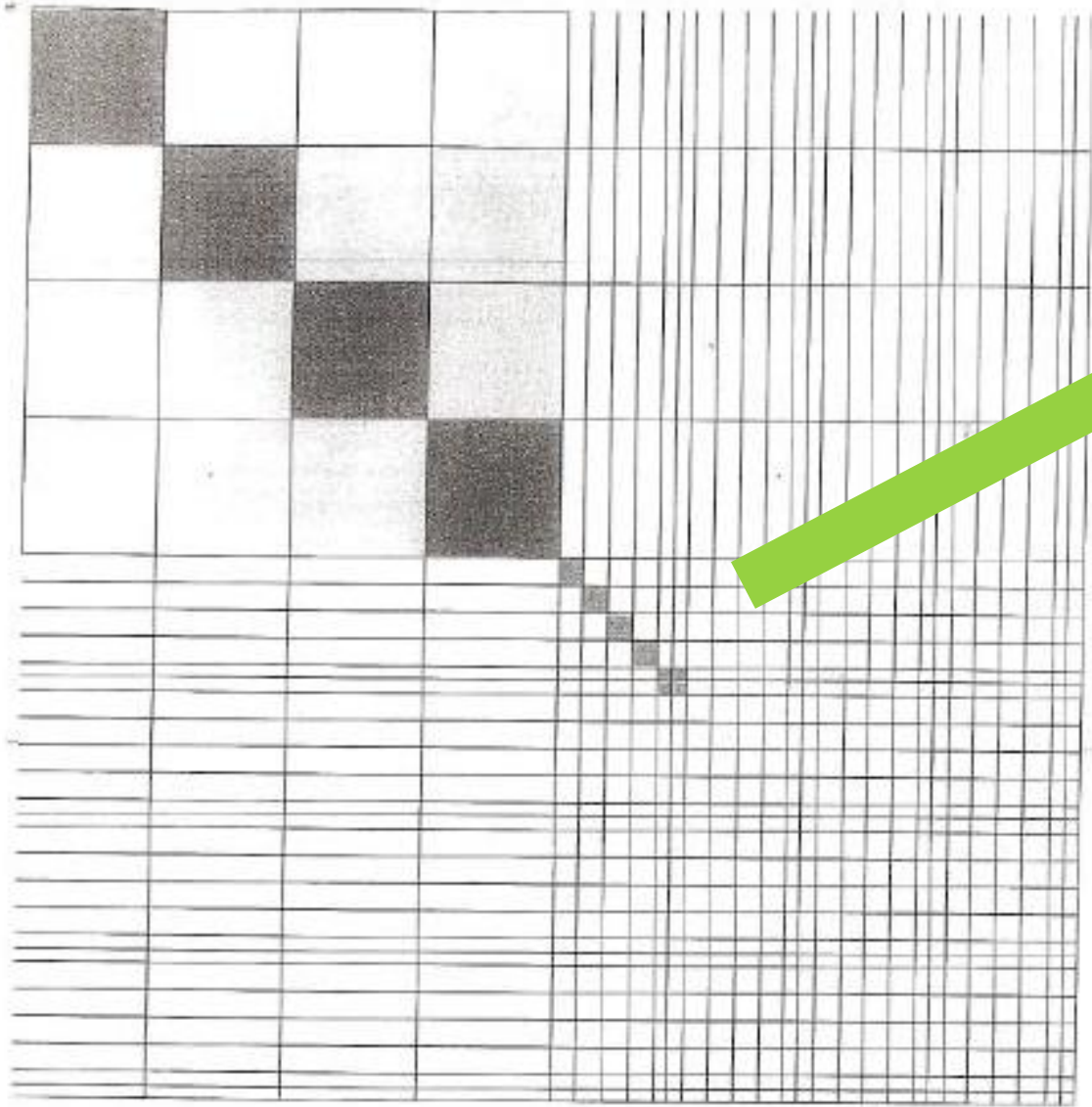
Cuadro completo $\times 10^4$



Diagonal $\times 4 \times 10^4$



1 Cuadrto $\times 16 \times 10^4$



Cuadro completo $\times 16 \times 10^4$



Diagonal $\times 5 \times 16 \times 10^4$



1 Cuadrito $\times 25 \times 16 \times 10^4$

Metodología de recuento

1. Extraer un volumen de fitoplancton (50-100 mL) del cultivo madre y mantenerlo con aireación.



2. Trasvasar 2-3 mL del cultivo a un tubo de ensayo



3. Preparar la cámara de recuento: quitar las patillas, colocar el cubreobjetos bien centrado y sujetarlo con las patillas.



4. Cargar una pipeta automática con un vol. pequeño de la suspensión celular. Deslizar la suspensión en las zonas frontales de la cámara hasta que la muestra entre por capilaridad entre cámara y cubreobjetos, cubriendo toda la superficie de recuento.



5. Observar a diferentes aumentos (según tamaño células). Proceder al contaje según criterios explicados.





Universidad
de La Laguna



Tutorial realizado por:



Dra. Covadonga Rodríguez



Dra. Ana Galindo



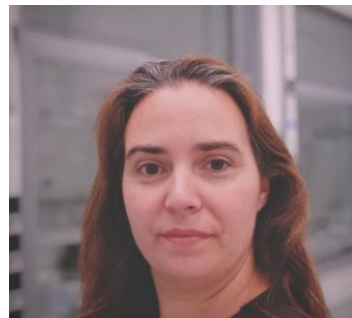
Dr. Manuel Marrero



Dr. José A. Pérez



Dra. Deiene Rodríguez



Dra. Diana B. Reis



Jesús Villora



Nieves G. Acosta

