



CENIACUA

Centro de investigación de la
Acuicultura de Colombia

MANUAL PARA EL LEVANTE DE ALEVINOS DE COBIA

**Mendoza – Rivera M.S., Martínez –Pardo X.,
Sierra de la Rosa J.F., Suárez C.A.**



Libertad y Orden

Departamento Administrativo de
Ciencia, Tecnología e Innovación
Colciencias

República de Colombia

ANTILLANA



**Corporación Centro de Investigación
de la Acuicultura de Colombia –
CENIACUA**

Cra. 9B No. 113 – 60. Bogotá D.C.
Tel: (57) (1) 6121466
www.ceniagua.org

Director Ejecutivo

Jorge Mario Díaz Luengas

Director Sede Cartagena

Carlos Andrés Suárez Navarrete

Directora Científica

Marcela Salazar Vallejo

Director Sanidad

Fernando Aranguren

Directora Diversificación

Mabel S. Mendoza Rivera

Bogotá, 2012

**Grupo de Investigación
Diversificación**

Ximena Martínez Pardo
Juan Felipe Sierra de la Rosa

Asistentes de Investigación

Vicente Micolta
Carlos Julio Rivera
Roger Benítez
Erlis González

**Entidad de Investigación y
Ejecutora:**

Corporación Centro de
Investigación de la
Acuicultura – CENIACUA

Entidad del Sector Productivo

C.I. Antillana

Entidad Financiadora

Departamento Administrativo
de Ciencia, Tecnología e
Innovación - COLCIENCIAS

Esta publicación es producto del proyecto de investigación titulado Implementación en condiciones locales del paquete tecnológico para maduración, desove, larvicultura y alevinaje de la Cobia”, el cual hace parte del Programa Implementación del cultivo de la Cobia (*Rachycentron canadum*) en el Caribe colombiano, con el apoyo financiero del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS (código 6507-403-20577) y la colaboración de C.I. Antillana S.A.

Fotografías tomadas por los investigadores

Fotografía portada: Ximena Martínez Pardo

Todos los derechos reservados, prohibida la reproducción total o parcial, incluyendo cualquier medio electrónico o magnético, con fines comerciales. Esta publicación es de divulgación científica y para fines de investigación.

Cítese como:

Mendoza – Rivera M.S., Martínez – Pardo X., Sierra de la Rosa J.F., Suárez C.A. 2012. Manual para el levante de alevinos de cobia. Bogotá. 61 pág.

PRESENTACIÓN

La acuicultura en general, y particularmente la maricultura, se están consolidando como actividades productivas de gran potencial como fuentes de producción de proteína animal de excelente calidad. Como consecuencia del evidente estancamiento del volumen de capturas provenientes de la pesca, la acuicultura marina es la opción más viable para responder a la creciente demanda por este tipo de productos.

Siempre hemos escuchado que a pesar de su privilegiada ubicación geográfica, Colombia no aprovecha eficientemente su enorme potencial marino. Sin embargo, el esfuerzo conjunto del estado, el sector privado y la comunidad científica están mostrando que hay opciones válidas de aprovechamiento de dicho potencial.

Desde el año 2007 la empresa C.I. Antillana S.A., la Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia, CENIACUA y el Centro de Investigaciones, Educación y Recreación – CEINER han capitalizado sus capacidades empresariales y científicas para hacer realidad el primer proyecto productivo a escala comercial de acuicultura marina alejada de la costa (“off-shore”) en Colombia. Gracias a las sinergias creadas en torno a esta iniciativa, el país está acumulando una valiosa experiencia en este tipo de acuicultura y sus resultados son actualmente reconocidos a nivel internacional.

Este manual refleja la rigurosidad científica, la visión emprendedora y el compromiso de empresarios e investigadores por aprovechar nuestro recurso marino. La recopilación de estos protocolos se constituye en una valiosa herramienta para la divulgación del conocimiento adquirido durante la ejecución del proyecto mencionado.

Con estos productos, CENIACUA reafirma su compromiso por contribuir al fortalecimiento de las capacidades científicas y tecnológicas y a la consolidación de nuevos emprendimientos orientados al desarrollo de la maricultura en Colombia.

**Jorge Mario Díaz L.
Director Ejecutivo**

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus más sinceros agradecimientos a Martín Echavarría, Gilbert Thiriez y Diego Ardila de C.I.ANTILLANA.

A Rafael Vieira, Jaime Rojas y Paola Pinzón del Centro de Investigaciones, Educación y Recreación – CEINER, por su sinergia y colaboración permanente.

Al grupo de investigadores de la Universidad de Miami liderados por Daniel Benetti, particularmente a Bruno Sardenberg y Aaron Welch III, por su capacitación y acompañamiento durante todo el proceso.

Al personal científico, administrativo, operativo y pasantes de CENIACUA.

CONTENIDO

PRESENTACIÓN.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
1. Acuicultura de Cobia	10
2. Biología.....	12
2.1 Descripción.....	12
2.2 Ciclo de vida	13
3. Infraestructura	14
3.1 Infraestructura de agua y aire	14
3.1.1 Bocatoma, sistema de filtración y calidad de agua.....	14
3.1.2 Producción y distribución de aire.....	16
3.2 Tanques	16
3.2.1. Volumen y adecuaciones.....	16
3.2.2 Limpieza, desinfección e instalación de elementos anexos.....	19
4. Alimento Vivo	20
4.1 Algas	20
4.1.1 Mantenimiento de cepas e inóculos.....	20
4.2 Rotíferos – <i>Bachionus plicatilis</i>	22
4.2.1 Requerimientos y preparación de tanques.....	22
4.2.2 Manejo de poblaciones, conteo y estimación de densidad.....	23
4.2.3 Preparación y suministro de alimento	25
4.2.4 Probióticos.....	27
4.3 Artemia.....	29
4.3.1 Requerimientos y preparación de tanques.....	29
4.3.2 Manejo de poblaciones, conteo y estimación de densidad.....	30
4.3.3 Preparación y suministro de alimento enriquecido	31
5. Reproducción	36
5.1 Reproductores.....	36
5.1.1 Tanques de desove.....	36

5.1.2	Madurez sexual	37
5.1.3	Manejo de reproductores	37
5.1.4	Manejo de ovas	40
5.1.5	Transporte de Ovas	41
6.2	Incubación	42
6.2.1	Recepción de huevos.....	42
6.2.2	Eclosión	42
7.	Larvicultura.....	44
7.1	Traslado y siembra en los tanques de larvicultura.....	44
7.2	Alimentación	45
7.2.1	Alimento vivo	45
7.2.2	Inicio de destete con alimento balanceado	48
7.3	Riesgos y controles durante la larvicultura	49
8.	Alevinaje.....	51
8.1	Alimentación	51
8.2	Cosecha y transporte	53
9.	Sanidad.....	56
9.1	Montajes en fresco.....	56
9.1.1	Branquias.....	56
9.1.2	Frotis de piel, mucus y aletas	57
9.2	Enfermedades	58
9.2.1	Amyloodiniosis – Enfermedad del terciopelo marino	58
9.2.2	Inflamación Branquial Proliferativa.....	59
	Bibliografía	61

Lista de Figuras

- Figura 1. Aspecto general de un ejemplar de cobia adulto (Fuente UMEH)
- Figura 2. Tanques de larvicultura con sus accesorios antes de proceder a la siembra de los alevinos.
- Figura 3. Cultivo de *Chaetoceros sp.*
- Figura 4. Estructuras del rotífero *Brachionus plicatilis* (Modificado de: BIOEC)
- Figura 5. Encierros de reproductores y tanques de desove en condiciones de semi cautiverio
- Figura 6. Canulación de un ejemplar adulto para determinar el sexo (Fuente: CEINER)
- Figura 7. Introducción del chip digital en el área dorsal y verificación con el lector del código en el reproductor (Fuente: CEINER)
- Figura 8. A. Encierros y corredor que conduce al tanque de reproductores; B. Compuerta de ingreso (Fuente CEINER)
- Figura 9. Apareamiento de los reproductores y fertilización de los huevos (Fuente: CEINER)
- Figura 10. Detalle del tanque con elementos de aireación para colectar ovas (Fuente CEINER)
- Figura 11. Medición de volumen para determinar el porcentaje de fertilización
- Figura 12. Huevos embrionados (Fuente CEINER)
- Figura 13. Nevera de 94 L de capacidad con artemia enriquecida
- Figura 12. Contenido estomacal en larvas de cobia A. Rotíferos en el 4 dpe; B. Artemias en el 7 dpe (Aumento 4x)
- Figura 15. Montaje del skimmer en el tanque de larvicultura
- Figura 16. Aspecto del tanque con alevinos cuando se suspende la aireación antes de suministrar la alimentación
- Figura 17. Esquema de alimentación en relación con la longitud del animal
- Figura 18. Canibalismo entre alevinos
- Figura 19. Cosecha con chayo
- Figura 20. Preparación bolsas de empaque

Figura 21. Tanque para selección de juveniles

Figura 22. Selección, conteo y empaque

Figura 23. Bolsas con juveniles

Figura 24. Saturación con oxígeno bolsas y empaque

Figura 25. Embalaje y transporte

Figura 26. Aspecto normal de una lamela branquial vista en el microscopio (4x)

Figura 27. Lamela branquial sobre la que se evidencia el estado trofante de *Amyloodinium ocellatum*

Figura 28. Aspecto de una lamela branquial en la que se observan A – Nódulos característicos de la lesión y B – Zonas hemorrágicas en las zonas distales.

Figura 29. Corte histológico de una lamela branquial en la que se observa las lesiones de la branquitis nodular multifocal.

Lista de Tablas

Tabla 1. Variables fisicoquímicas ideales para el cultivo

Tabla 2. Distribución de las derivaciones de aireación y oxígeno para cada tanque en las diferentes áreas del laboratorio

Tabla 3. Secuencia de cambio de las mallas de acuerdo al crecimiento de las larvas y alevinos

Tabla 4. Especificaciones preparación Medio Conway grado analítico

Tabla 5. Formato de registro diario de producción de rotíferos

Tabla 6. Determinación del factor alimenticio según la densidad del cultivo de rotíferos

Tabla 7. Ingredientes y porcentaje del alimento enriquecido que se proporciona a los rotíferos

Tabla 8. Formato registro de producción diaria de artemia

Tabla 9. Ingredientes y porcentaje del alimento enriquecido que se proporciona a la artemia

Tabla 10. Estimaciones de siembra en los tanques de larvicultura

Tabla 11. Densidad diaria de alimento vivo durante la larvicultura

Tabla 12. Matriz de identificación y control de riesgos en la etapa de larvicultura

Tabla 13. Ficha técnica del alimento balanceado Otohime

1. Acuicultura de Cobia

El cultivo comercial de la cobia se inició a principio de los años 90, con un desarrollo incipiente en Estados Unidos, Puerto Rico y Taiwán, logrando en los últimos años tecnificar los procesos de maduración y reproducción de la cobia en cautiverio (Hitzfelder 2006; Weirich *et al.*, 2006). Hace más de una década la etapa de larvicultura de cobia en Taiwán se efectuaba en estanques de agua marina y jaulas de pequeño tamaño, y ahora se desarrolla casi por completo en jaulas sumergidas, con una producción estimada de 1.500 toneladas/año (Su *et al.*, 2000).

En Estados Unidos en los años sesenta se inició el estudio de las poblaciones naturales de esta especie con la evaluación de los ciclos reproductivos (Joseph *et al.*, 1964). Posteriormente, en los años noventa se identificó el potencial comercial de esta especie por las altas tasas de fecundidad (400.000 a 5'000.000 /hembra), el alto factor de condición (1,67) y ganancia anual en peso (4-6 kg). De esta forma se iniciaron estudios patrocinados por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica - NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) junto con el grupo de investigación de la Universidad de Miami y el Centro de Acuicultura de los Cayos de la Florida - ACFK -, para el desarrollo del paquete tecnológico en el manejo de reproductores, levante y cultivo en jaulas alejadas de la costa de esta especie en Bahamas y Puerto Rico (NOAA, 2006; Orhun *et al.*, 2005).

El desarrollo larval ha sido el principal cuello de botella en la producción industrial de esta especie en todos los países donde se realiza su cultivo, dado que son altamente susceptibles a las enfermedades particularmente en los sistemas super intensivos cuando se supera la densidad por encima de 10 larvas/litro (Schwarz, 2005, Hitzfelder, 2006). La larvicultura en los países orientales se desarrolla en estanques extensivos en sistemas de agua verde (mesocosmos), mientras que en los países occidentales se trabaja en tanques de agua clara bajo sistema intensivo (5 larvas/litro).

Cuando los alevinos han pasado el período de destete se separan por tamaño y se realiza el proceso de pre cría antes de pasar a jaulas en mar abierto para la etapa de engorde. Durante la etapa de engorde también se tienen reportes en el caso de China, que los acuicultores han trasladado a zonas más costeras las jaulas para evitar pérdidas de infraestructura y producción por acción de los tifones, no obstante, esto ha tenido como consecuencia que la calidad de la carne desmejore y también aumenten los casos de enfermedades por efecto de la contaminación de las aguas.

La etapa de engorde de cobia en jaulas ubicadas en mar abierto en Estados Unidos, Puerto Rico y Taiwán ha tenido un importante avance pasando de estructuras circulares flotantes a jaulas sumergidas de tipo octogonal y esférico protegidas contra depredadores (p.ej. tiburones) para proteger la producción, reduciendo el efecto ecológico que un escape masivo de esta especie pueda tener sobre las poblaciones nativas, teniendo en cuenta que la cobia es una especie de hábitos carnívoros. Además, se ha avanzado en la producción de alimento peletizado con un alto nivel de digestibilidad, monitoreando la alimentación al interior de las jaulas mediante circuito cerrado de televisión para evitar pérdida de alimento lo cual permite reducir los costos de los insumos. La supervivencia obtenida en la cosecha oscila entre 70 - 80 %. Lo anterior explica la expansión del cultivo de la cobia en los últimos años a nivel mundial con una alta participación de los países asiáticos que destinan gran parte del producto al mercado interno.

2. Biología

2.1 Descripción

La cobia, *Rachycentron canadum*, pez conocido también en nuestro país como bacalao, es la única especie de la familia Rachycentridae. Es bento pelágico y se encuentra ampliamente distribuido en los océanos tropicales y subtropicales del mundo así como en aguas estuarinas a excepción del Pacífico central oriental. Posee un cuerpo elongado, con una cabeza larga y comprimida en dirección dorso ventral, con una boca grande, terminal, y una mandíbula inferior protuberante: Presentan dientes villiformes en quijadas así como en paladar y lengua. La piel de coloración grisácea en el lomo, plateada en el costado y blanca en el vientre, es suave con pequeñas escamas. Una de las principales características es la aleta dorsal, que presenta una elevación en la parte anterior compuesta de ocho rayos espinosos unidos con una membrana (Figura 1). Se han reportado especímenes silvestres que han alcanzado hasta 61 kg con una vida máxima de 15 años¹.



Figura 1. Aspecto general de un ejemplar de cobia adulto (Fuente: UMEH)

Tolera rangos de temperatura que van desde los 16º C hasta los 32º C y en cuanto a salinidad prefiere rangos entre 24 y 35 UPS, aunque pueden estar en aguas de baja salinidad. Es de

¹ <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?id=3542>

hábitos migratorios por lo que puede recorrer grandes distancias, presentando preferencia por zonas de alta corriente, ya que a diferencia de otros peces no presenta vejiga natatoria y requiere la sustentación física del medio. En el medio natural tienden a asociarse con rayas, tortugas y peces grandes en aguas abiertas; por lo general viajan solas o en muy pequeños cardúmenes y se sientan atraídas por estructuras flotantes presentando incluso curiosidad por los botes o los buzos.

2.2 Ciclo de vida

Los reproductores de cobia se mantienen en temperaturas que oscilan entre los 24°C y los 30°C. En general las hembras tienen un crecimiento mayor y más rápido que los machos. En áreas tropicales cuando la temperatura del agua aumenta cerca de los 25°C se comienzan a formar pequeños grupos que pueden desovar tanto en aguas abiertas como costeras. En promedio una hembra madura está en la capacidad de producir de 400.000 a 5 millones de huevos siendo una especie muy prolífica, pero esto depende del tamaño del animal.

Los huevos viables tienden a flotar y tienen un período de incubación de 24 horas, al cabo del cual eclosionan las larvas que se distinguen por la rapidez con que cazan formas planctónicas al desarrollar muy pronto los apéndices natatorios. El ciclo larval de esta especie es realmente muy corto, encontrando que al cabo de 15 días se tienen alevinos y al cabo de 25 días post eclosión ya se tienen juveniles.

3. Infraestructura

Para la larvicultura intensiva en sistemas de agua clara como se desarrolla en CENIACUA, se deben tener en cuenta las siguientes recomendaciones para garantizar el éxito del cultivo.

3.1 Infraestructura de agua y aire

3.1.1 Bocatoma, sistema de filtración y calidad de agua

La bocatoma está conectada a una tubería ranurada de 12 pulgadas enterrada bajo el lecho marino, el cual actúa como filtro mecánico. El área de captación se encuentra en una zona protegida del oleaje donde a su vez garantiza un nivel de agua de buena calidad, en la medida de lo posible, libre de material particulado de gran tamaño. El agua llega a un pozo recolector por medio de vasos comunicantes. En el pozo se realiza la primera decantación del sedimento arenoso y se bombea a un reservorio para ser tratada con cloro y tiosulfato antes de su distribución a las diferentes áreas del laboratorio.

Cada vez que se realice limpieza de la tubería de bocatoma y se haga vacío sanitario en el pozo hay que verificar que el agua nueva quede libre de rastros de ácido o cloro, realizando pruebas con ortotoluidina, producto que en medio clorhídrico y en presencia de cloro libre se oxida, dando un compuesto de coloración amarilla. La prueba consiste en utilizar tubos de ensayo donde se colocan 10 ml del agua a analizar y 0,2 ml de reactivo dejando en reposo 5 o 10 minutos, en oscuridad. Si se observa viraje a color amarillo, es necesario neutralizar el agua con tiosulfato de sodio, y se aplica de nuevo la prueba hasta obtener una muestra incolora.

Un exceso de cloro ($>0.5 \mu\text{g/L}$) resulta tóxico para los peces y acabaría en cuestión de minutos con la producción, por eso reviste vital importancia, realizar las pruebas con ortotoluidina antes de entrar agua nueva al sistema (Alvarez-Lajonchère y Hernández, 2001).

En el área de alimento vivo se instalan filtros de cartucho de 20 micras, los cuales deben ser cambiados con frecuencia para evitar su colmatación. Los filtros deben lavarse regularmente de acuerdo al uso con agua dulce a presión para retirar la mayor cantidad de material particulado, a continuación se colocan en un tanque con hipoclorito 2 ppm de 12 a 24 horas, y

se pasan a un tanque con tiosulfato 50 ppm por una hora, a continuación se enjuaga con agua dulce a presión y se le realiza una prueba con ortotoluidina, para luego dejarlos secar al sol.

En la sala de larvicultura se tienen filtros de cartucho de 5 micras en la salida de agua y bolsas de 10 micras para cada tanque, las cuales deben ser cambiadas en la mañana y en la tarde todos los días durante el ciclo de producción. Ambos elementos deben ser lavados con agua dulce a presión para retirar la mayor cantidad de material particulado, a continuación se colocan en un tanque con hipoclorito 200 ppm diluido por 2 horas, y se pasan a otro tanque con tiosulfato 50 ppm por una hora, a continuación se enjuaga con agua dulce a presión y se le realiza una prueba con ortotoluidina, para luego dejarlas secar al sol.

En sistemas intensivos de cultivo se requiere un monitoreo permanente de los parámetros fisicoquímicos del agua para garantizar que se mantengan los valores en los rangos establecidos por el laboratorio

Durante las primeras etapas de desarrollo, los parámetros de calidad del agua deben ser medidos rutinariamente. Se deben mantener entre los rangos ideales la temperatura, la salinidad, los niveles totales de amoníaco, las concentraciones de oxígeno disuelto (O.D.) y el pH (Tabla 1).

Tabla 1. Variables fisicoquímicas ideales para el cultivo

Variables	Rango
Oxígeno Disuelto	$\geq 5\text{mg/L}$
Amoníaco	$\leq 0.1\text{ mg/L}$
Temperatura	$28.5 - 32\text{ }^{\circ}\text{C}$
pH	7.5 - 8

Lo ideal, es que el agua de mar usada para la incubación y el levante larval sea de excelente calidad, libre de parásitos y bacterias. Es recomendable filtrar el agua a través de un filtro de arena y luz ultravioleta.

3.1.2 Producción y distribución de aire

El laboratorio de pie de cría de cobia requiere la operación de blowers (sopladores) de diferente capacidad para la producción de aire, según los requerimientos de las diversas áreas. Por ejemplo, en el área de cultivo de alimento vivo e incubación la aireación es más suave que la que se requiere en el área de larvicultura.

El aire se distribuye a través de un sistema de tuberías de PVC reguladas con válvulas y se dispone de una serie de derivaciones de acuerdo a la ubicación de los tanques. Paralelo al sistema de aireación y en el caso específico de la cobia que es una especie tan exigente que requiere niveles de oxígeno disuelto superiores a 5 mg/L, es necesario contar con un sistema de distribución de oxígeno puro en la medida que aumenta el tamaño de los animales y en las horas de la noche cuando se registran los mayores descensos (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de las derivaciones de aireación y oxígeno para cada tanque en las diferentes áreas del laboratorio

Área	Aireación	Oxígeno
Incubación	1 derivación	1 derivación
Larvicultura	3 derivaciones	1 derivación
Alimento vivo	1 derivación	1 derivación

3.2 Tanques

3.2.1. Volumen y adecuaciones

Los tanques para la incubación son cilíndrico cónicos con un volumen nominal de 1 tonelada, lo cuales cuentan con un tubo central que porta una malla de 300 micras, y cuenta con otro tubo perforado ajustable para facilitar el recambio y mantener el volumen entre 800 - 900 L. En la parte inferior del tanque se instala un tubo de P.V.C. y una válvula para evacuar permanente el agua y los desechos cuando se produce la eclosión.

Los tanques para la larvicultura son de fibra de vidrio con volúmenes nominales de 6 y 8 toneladas, cuentan con un tubo central perforado de 3 pulgadas, por el que se efectúa el recambio, además en el fondo se le coloca un anillo de aireación para evitar que las larvas se

peguen a la malla (Figura 2). El volumen del tanque se controla con un tubo exterior que a su vez contiene otro tubo de menor diámetro con el que obstruye la salida de agua. Cada tanque cuenta con un fraccionador de proteína conectado a la tubería de aireación que se coloca en el momento de iniciar el destete con alimento seco.

Antes de cualquier siembra en tanques estos deben ser lavados con hipoclorito diluido, tiosulfato y agua dulce utilizando utensilios de limpieza exclusivos para cada uno. Así mismo es recomendable inocular algas en el tanque por espacio de dos días para retirar excedentes tóxicos después de realizar vacío sanitario.



Figura 2. Tanques de larvicultura con sus accesorios antes de proceder a la siembra de los alevinos

Para facilitar la captura de las presas vivas en los primeros de desarrollo de las larvas es recomendable que los tanques tengan paredes de color azul y fondo blanco que crean contraste.

En la medida que avanza la larvicultura y los animales aumentan su tamaño se van cambiando la mallas del tubo central como se describe a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Secuencia de cambio de las mallas de acuerdo al crecimiento de las larvas y alevinos

Ojo de malla	DPE
55 micras	2 - 8
150 micras	8 - 10
300 micras	11 - 14
500 micras	15 - 20
1000 micras	21 - 32
>1000 micras	33 - 40

3.2.2 Limpieza, desinfección e instalación de elementos anexos

Antes de iniciar cada ciclo se deben lavar mangueras, piedras difusoras, terminales y fraccionadores de proteína, separando cada componente y sumergiéndolos en baldes con hipoclorito diluido 2 ppm en agua dulce por espacio de un día, luego se pasan a un balde limpio con tiosulfato (10% volumen) para neutralizar el cloro por una media hora; a continuación se enjuagan con agua dulce soplando las mangueras y las piedras difusoras y se verifica que no queden rastros de cloro realizando una prueba con ortotoluidina, y se dejan secar todos los componente en un sitio ventilado. La tubería de PVC también debe pasar por un proceso de vacío sanitario, haciendo circular hipoclorito 200 ppm por 48 horas, ácido por 24 horas y luego tiosulfato 5 ppm abriendo y cerrando las válvulas, para posteriormente dejar secar todo el sistema. En el momento de empezar el ciclo se hace correr agua por toda la tubería y se toman muestras para realizar pruebas con ortotoluidina

Al momento de conectar de nuevo las mangueras y las piedras hay que asegurar que no existan escapes de aire y en tal caso se debe reforzar con cinta de teflón. Se debe verificar que las mangueras queden ubicadas lejos de las paredes de los tanques y que las piedras difusoras queden a media agua.

4. Alimento Vivo

El alimento vivo es el grupo de organismos que componen el plancton (fitoplancton y zooplancton), siendo la unidad básica de producción de la materia orgánica en los ecosistemas acuáticos, y es necesario su cultivo y su suministro antes de que las larvas agoten sus reservas vitelinas. En este capítulo se describen los métodos de cultivos de cada uno de los ítems alimenticios que se les suministran a las larvas de cobia.

4.1 Algas

Las algas se requieren en dos procedimientos de la larvicultura de cobia 1) Se inoculan directamente en los tanques de larvicultura antes de la siembra de las larvas, en ese caso se utiliza *Nannochloropsis oculata*, 2) Para el mantenimiento y crecimiento de una cepa de rotíferos resulta mejor suministrar algas que contribuyen a suplir los requerimientos nutricionales como es el caso del alga *Chaetoceros sp.*

4.1.1 Mantenimiento de cepas e inóculos

Se debe contar con un área aislada donde no se presenten corrientes de aire y el personal labore con guantes y mascarillas, además todo el material debe ser previamente esterilizado en autoclave y el mesón de trabajo debe limpiarse con alcohol antiséptico. El agua de los medios de cultivo se pasa a través de filtros de 5, 1 y 0.22 micras, así como por luz ultravioleta (UV) antes de ser llevada a autoclave por espacio de una hora. Al momento de manipular las cepas y los inóculos se debe mantener prendido el mechero. La cepa seleccionada se siembra en cajas con agar enriquecido o en tubos de ensayo con agua nutrida con medio Conway grado analítico (Tabla 4).

Para realizar la purificación se dispone de una serie tres de tubos de ensayo con 9 mL de medio de cultivo, a uno de estos se le adiciona 1 mL de la muestra inóculo que contiene el alga, homogeneizando el contenido, a continuación se realiza una serie de diluciones de este tubo repitiendo el paso anterior y así sucesivamente en los siguientes tubos hasta obtener

diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000. Estas diluciones se pueden replicar para contar con un buen stock de cepas.

Tabla 4. Especificaciones preparación Medio Conway grado analítico

Reactivos (g)	Volumen de agua					
	100 mL	1.0 L	1.5 L	2.0 L	2.5 L	3.0 L
EDTA	4.5	45	67.5	90	112.5	135
Ácido bórico	3.36	33.6	50.4	67.2	84	100.8
Nitrato de sodio	10	100	150	200	250	300
Fosfato de sodio	2	20	30	40	50	60
Cloruro de Manganeseo	0.036	0.36	0.54	0.72	0.9	1.08
Cloruro Férrico	0.13	1.3	1.95	2.6	3.25	3.9
Nitrato de Potasio	11.6	116	158	232	290	348

***Se usa 1 mL de medio Conway por cada litro de agua de mar



Figura 3. Cultivo de *Chaetoceros sp.*

La temperatura del área debe estar alrededor de los 22 °C, pasados siete días después de hacer la siembra de inóculos, estos se transfieren a frascos de 125 mL con medio enriquecido durante 4 días y luego pasan a volúmenes de 3 L por otros 4 días (Figura 3).

Cuando se pasa mayor volumen se utiliza medio Conway grado industrial, manteniendo por 3 días en volúmenes posteriores de 25 L, cilindros de 250 L y tanques exteriores de 2000 L.

4.2 Rotíferos – *Brachionus plicatilis*

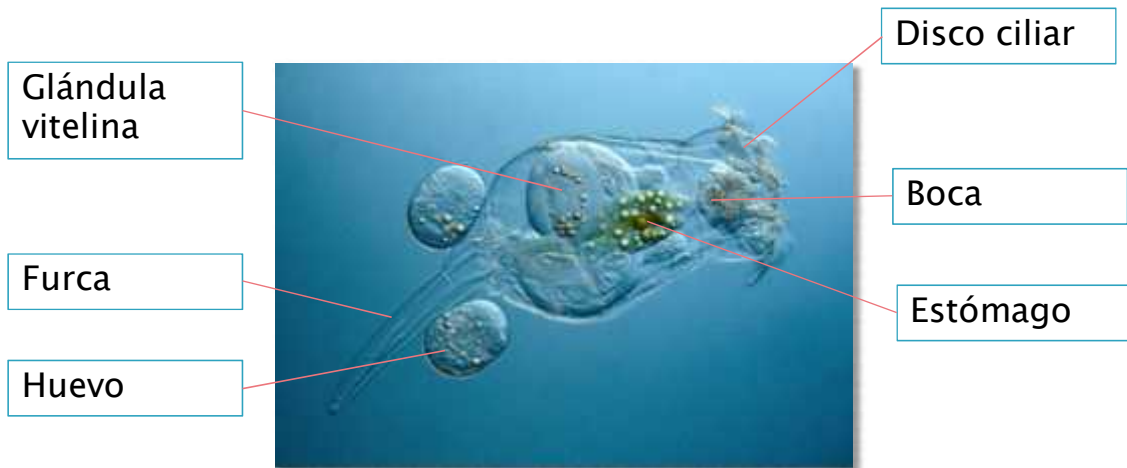


Figura 4. Estructuras del rotífero *Brachionus plicatilis* (Modificado de: BIOEC)

4.2.1 Requerimientos y preparación de tanques

Se debe contar con un área exclusiva para el manejo de rotíferos (Figura 4), evitando el traslado de elementos con otras áreas además de contar con utensilios de limpieza de uso exclusivo para esta zona.

A continuación se enumeran los principales elementos que se requieren:

- Tanques de 250 y 1000 litros en fibra de vidrio con válvula inferior de 1 pulgada.
- Suministro de aire tanque (una piedra difusora y manguera por cada uno)
- Cosechador con malla de 55 micras
- Tanque plástico para el lavado y concentración de rotíferos
- Sistema de UV
- Cartuchos y filtros de 10 micras
- Cloro
- Tiosulfato (10% volumen)

Un día antes de efectuar la siembra de una cepa de rotíferos, a los tanques se les realiza limpieza con agua, cloro y cepillo después se enjuaga con agua dulce y tiosulfato disuelto, abriendo y cerrando la válvula inferior. Adicionalmente y dado que algunas bacterias tienden a formar biofilms, es recomendable dejar los tanques lleno con una concentración de cloro de 20 ppm por espacio de 2 horas. A continuación se le coloca al tanque la aireación y se lleva a un volumen inicial de 100 L con agua de mar, teniendo en cuenta que la salinidad óptima está entre 22-28 Unidades Prácticas de Salinidad (UPS), la cual se verifica con un refractómetro.

4.2.2 Manejo de poblaciones, conteo y estimación de densidad

A diario se deben tomar los registros de temperatura y oxígeno disuelto así como el volumen del tanque, y cada dos días se toman las lecturas de pH y amonio registrando los valores en el formato respectivo (Tabla 5)

Los elementos que requiere esta actividad son:

- Microscopio binocular
- Cámara Sedgwick Rafter
- Pipeta 1 ml
- Bomba pipeteadora
- Lugol
- Contador de organismos
- Balanza semi analítica

Para estimar la densidad de la población se toma 1 mL de muestra con la pipeta cerca de la burbuja de aireación y se sirve sobre la placa de Sedgwick Rafter, la cual consiste de una lámina con una cuadrícula de 50 filas por 20 columnas. Se fija el objetivo del microscopio en 10x o 20x y se realiza una observación general de los organismos registrando motilidad, presencia de alimento o algas, y de ciliados en el formato establecido. Con una pipeta se le agrega a la placa una gota de yodo, se homogeniza y una vez cesa la actividad de los organismos, se procede a hacer el conteo de toda la placa registrando el número total de rotíferos y simultáneamente el de aquellos que presentan huevos con un contador digital, es recomendable tomar entre 2 a 3 alícuotas y promediar las lecturas.

A continuación se estima y se registra:

$$\% \text{ Fertilidad} = \frac{\text{No. rotíferos con huevos}}{\text{No. total de rotíferos}} \times 100$$

Tabla 5. Formato de registro diario de producción de rotíferos



PROGRAMA DE DIVERSIFICACIÓN

REGISTRO DE LA PRODUCCIÓN DE ROTÍFEROS LAB. PUNTA CANOA

TANQUE:

MES:

Fecha	Día cultivo	Rot/ml	Rot huevo /mL	% Fertilidad	Vol TQ (L)	Total Rot (x10 ⁶)	Factor alimento	Total alimento	O.D (mg/L) AM/PM	T° C AM/PM	Recambio L (- / +)	Salinidad	Probiótico	NH ₄	Amquel (g)	Notas:
1																
2																
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																
11																
12																
13																
14																
15																
16																
17																
18																
19																
20																
21																
22																
23																
24																
25																
26																
27																
28																
29																
30																
31																

Cuando la fertilidad se encuentra por debajo del 15% puede indicar que hay un ascenso en los niveles de amonio NH₃-N, por lo que es conveniente añadir un quelante de amonio, cloro y cloraminas conocido como AmQuel^{®2} que es 100% hidroximetanosulfonato de sodio, en una relación de 1-2 g por cada 60 L de cultivo, a su vez se realiza un recambio diario del 30% del agua de cultivo para controlar este parámetro y un sifón del fondo retirando la aireación del tanque y realizando un vortex, pasado quince minutos se extrae el precipitado de materia orgánica y se lava en el tanque de cosecha antes de retornarlo al tanque de origen.

A diario se realiza un recambio del 30-50% del agua con ayuda de un tambor y un casco con malla de 55 micras, lo cual mejora la calidad de agua y ayuda a disminuir las poblaciones de ciliados.

4.2.3 Preparación y suministro de alimento

A partir de la información de densidad de la población se procede a calcular:

$$Total\ rotíferos (* 10^6) = No.\ total\ de\ rotíferos * Volumen\ del\ tanque\ (L) * 10^{-3}$$

$$Total\ alimento\ (g) = Total\ rotíferos (* 10^6) * Factor\ alimenticio$$

El factor alimenticio va de 0,1 a 0,7, pero se sugiere usarlo bajo el siguiente criterio según la densidad que se tenga en el cultivo. (Tabla 6)

Tabla 6. Determinación del factor alimenticio según la densidad del cultivo de rotíferos

Densidad	Factor Alimenticio
< 100 rotíferos / mL	0.5
100 – 200 rotíferos / mL	0.4
200 – 700 rotíferos / mL	0.3
>700 rotíferos / mL	0.2

² Kordon LLC. 2242 Davis Court, Hayward, CA 94545-1114, U.S.A. www.kordon.com

El total de alimento se prepara con los elementos enriquecedores³ (Tabla 7) que fortalecen el sistema inmune y digestivo de las larvas, los cuales se describen brevemente a continuación.

- Algamac 3050: alga *Schizochytrium*, deshidratada y en presentación de hojuelas. Alto contenido (43%) de ácidos grasos esenciales poli insaturados (DHA) de la serie omega-3 (22:6w3).
- Protein Plus: mezcla de especies fototróficas y heterotróficas. Células inactivadas y secadas, presentación en polvo. Proporciona 411 cal/100g.
- ARA: ácido araquidónico obtenido a partir del hongo filamentoso *Mortierella alpina*. Ácido graso esencial poli insaturado de la serie omega-6.
- AstaRose: pigmento astaxantina en presentación de polvo rojo oscuro.

Tabla 7. Ingredientes y porcentaje del alimento enriquecido que se proporciona a los rotíferos

Enriquecedor	Porcentaje
Levadura	45
3050	42.5
Protein Plus	2.5
ARA	5
AstaRose	2.5
Algas instantáneas	2.5

Cuando sólo se requiere mantener el cultivo de rotíferos se les prepara alimento con Protein Plus (90%) y 3050 (10%), realizando un recambio diario del 80% con algas *Chaetoceros*.

Todos los ingredientes se pesan en una balanza semi analítica y se colocan en una licuadora a excepción de las algas y se mezcla por espacio de un minuto, se vierte en una jarra plástica de 3 L de capacidad y se le adiciona el concentrado de algas. La alimentación se distribuye en seis raciones cada una de 500 mL que se dan cada cuatro horas en los horarios de 12:00, 16:00, 20:00, 00:00, 04:00 y 8:00.

³ Aquafauna Bio-Marine, Inc., PO Box 5, Hawthorne, California 90250 USA www.aquafauna.com

Todos los días se prepara el alimento de acuerdo a los conteos, y se limpian las paredes de los tanques y se sifonea el fondo para evitar acumulación de alimento, se enjuagan, las piedras difusoras y las mangueras de alimentación. En caso de detectarse una contaminación por ciliados o manchas en el fondo del tanque de color rosado, es necesario cosechar el tanque usando un colector con una malla de 55 micras, antes de sembrarlo de nuevo en un tanque.

Cuando se requiere cosechar el tanque para alimentar las larvas de cobia se abre la válvula inferior y se concentra por una malla de 55 micras, enjuagando con agua salada filtrada y esterilizada con UV. Los rotíferos se llevan a una nevera de 94 L la cual se ha llenado previamente con 5 L de agua de mar y por medio de una manguera se transfieren suavemente a esta, se completa el nivel a 75 L y se colocan tres botellas de agua congelada para mantener bajo el metabolismo mientras se van dando las raciones estipuladas para el día.

4.2.4 Probióticos

Como uso alternativo a los antibióticos, a nivel mundial se está probando el uso de probióticos, los cuales han demostrado su efectividad con diversas especies ícticas (Pirarat *et al.*, 2006, Piccietti *et al.*, 2009), favoreciendo no sólo la respuesta inmune frente a los principales agentes infecciosos sino además promoviendo el crecimiento de los animales y mejorando la calidad de agua. Los principales mecanismos de los microorganismos que son considerados probióticos son:

1. Antagonismo frente a cepas patógenas, debido a su capacidad de producción de sustancias antimicrobiales como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno o sideróforos entre otros.
2. Capacidad de colonizar y adherirse al tracto gastrointestinal.
3. Resistir las condiciones del intestino y estómago en cuanto a sales biliares, pH y temperatura con un mayor crecimiento que bacterias oportunistas o potencialmente patógenas.

En el laboratorio se usa un probiótico comercial conocido como EcoAqua⁴ el cual es una fórmula de cepas de bacterias seleccionadas de *Bacillus subtilis*, *B. laterosporus*, *B. licheniformis*, y *B. megaterium*, nutrientes esenciales, aminoácidos y vitaminas.

⁴ EcoMicrobials LLC, 7003 N. Waterway Drive, # 214, Miami, FL 33155 USA www.ecomicrobials.com

Ya sea en la etapa de enriquecimiento como en la de mantenimiento al cultivo de rotíferos a diario se le suministran 1 mL de probiótico por cada litro de alimento que se prepara y 1 mL por cada 100 L del tanque de cultivo.

4.3 Artemia

4.3.1 Requerimientos y preparación de tanques

Se debe contar con un área exclusiva para el manejo de artemia, evitando el traslado de elementos con otras áreas además de contar con utensilios de limpieza de uso exclusivo para esta zona.

A continuación se enumeran los principales elementos que se requieren:

- Tanques cilíndrico cónicos de 500 litros en fibra de vidrio con válvula inferior
- Balanza semi analítica
- Suministro de aire por tanque (una piedra difusora y manguera por cada uno)
- Lámpara 110 voltios
- Tanque para el lavado y concentración de artemia
- Sistema de UV
- Cartuchos y filtros de 10, 5 y 1 micra
- Cloro
- Tiosulfato (10% volumen)
- Hipoclorito (7%)
- Detergente líquido

Cada día de acuerdo a los requerimientos de producción en larvicultura se estima la cantidad de gramos de artemia a decapsular teniendo en cuenta que para *A. franciscana* un gramo de cistos produce de 300.000 a 330.000 nauplios de artemia en un período de 16 horas, mientras que para *A. salina* un gramo de cistos produce de 220.000 a 250.000 nauplios de artemia en promedio después de 24 horas. Se inicia el proceso de hidratación en un tanque de 300 L con fuerte aireación y 50 mL de hipoclorito, observando el cambio de color del corión de marrón a naranja, después de una hora se enjuagan con agua para eliminar los restos de hipoclorito y se llevan a un tanque de incubación, el cual se llena con 900 L de agua de mar filtrada manteniendo fuerte la aireación, a este tanque previamente se le han agregado 35 mL de hipoclorito, 20 g de tiosulfato y 175 g de bicarbonato, este último para control de pH.

Pasado el tiempo estimado se cosecha la artemia, retirando la aireación y se agrega una gota de detergente líquido, se coloca una lámpara encima para que los nauplios suban a la superficie mientras se precipitan los restos de corión, después de 15 minutos se abre la válvula inferior del tanque para eliminar estos restos y se vuelve a cerrar. Se tapa el tanque y se coloca la lámpara en la parte inferior del mismo, de forma que los nauplios se dirijan hacia esta, se abre de nuevo la válvula inferior y los nauplios se colectan en un cosechador de 200 micras.

A la artemia también se le proporciona el probiótico Ecoaqua en el tanque de eclosión y de enriquecimiento, a razón de 1 mL por cada 10 L de volumen en los tanques. Después de cada cosecha ya sea para proporcionar nauplios o artemia enriquecida, se recomienda un baño de formol comercial (37%) a 400 ppm por 5 minutos, pasado este tiempo se enjuaga con abundante agua antes de pasarlas a las neveras.

4.3.2 Manejo de poblaciones, conteo y estimación de densidad

Los elementos que requiere esta actividad son:

- Neveras de 94 L litros de capacidad con aireación
- Estereoscopio binocular
- Cámara circular de conteo con cuadrícula
- Frasco de vidrio 100 ml
- Pipeta pasteur

La población cosechada se lleva a un termo rectangular en el área de larvicultura con aireación y botellas de agua congelada con el fin de bajar la temperatura para disminuir el metabolismo de los nauplios.

Para estimar la densidad de la población se toma una muestra con un frasco transparente cerca de la burbuja de aireación. Se toma 1 ml de la muestra después de homogeneizar y se lleva a observación a un estereoscopio colocándola en una cámara circular para su conteo. Si la muestra está muy concentrada se divide en sub muestras.

A continuación se estima y se registra:

$$\text{Densidad } \left(\frac{\text{art}}{\text{ml}}\right) = \frac{\text{No. total de artemias}}{1 \text{ ml}}$$

$$\text{Total artemia } (x 10^6) = \text{No. total de artemias} \times \text{Volumen del tanque (litros)} \times 10^{-3}$$

Se compara la densidad final con la esperada (Tabla 8), y se alimentan las larvas según los horarios y requerimientos establecidos para el día.

4.3.3 Preparación y suministro de alimento enriquecido

De acuerdo a la cantidad de artemia estimada para eclosión se procede a calcular:

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

El factor alimenticio va de 0,1 a 0,7, pero se sugiere trabajar con 0,4.

El total de alimento se prepara con los elementos enriquecedores que fortalecen el sistema inmune y digestivo de las larvas (Tabla 9)

Tabla 9. Ingredientes y porcentaje del alimento enriquecido que se proporciona a la artemia

Enriquecedor	Porcentaje
3050	85%
ARA	10%
AstaRose	2,5%
Algas instantáneas	2,5%

Después de pesarlos se colocan todos los ingredientes en una licuadora a excepción de las algas y se mezcla por espacio de un minuto, se vierte en un frasco de vidrio y se le adiciona el concentrado de algas, y se procede a llevar al tanque eclosionador de artemia por espacio de 8 horas. Este alimento se puede preparar con unas horas de anterioridad siempre y cuando se mantenga refrigerado. En caso de no contar con algas instantáneas se pueden suministrar entre 1 a 2 L de algas concentradas al tanque de enriquecimiento.

La artemia se cosecha utilizando un concentrador con malla de 150 – 200 micras utilizando agua que ha pasado por UV, e inmediatamente se lleva a una nevera de 94 L con aireación fuerte , en la que previamente se han colocado 5 L de algas, preferiblemente *Nannochloropsis oculata*. A continuación con una manguera se pasa la artemia suavemente, se completa el volumen con agua de mar y se le adicionan tres botellas de agua congelada para disminuir el metabolismo.

Es recomendable programar dos cosechas en el día de forma que se den tres raciones en la mañana y dos en la tarde, ya que en alta densidad (>1000 art/mL) en la nevera se puede perder la producción de artemia por baja de oxígeno .

Tabla 8. Formato registro de producción diaria de artemia



Mes/Año: _____

Fecha	Hora de siembra	Cantidad sembrada (gr de cistos)	Art * 10 ⁶ esperada	Total alimento enriquecido (gr)	Conteos submuestras						Art * 10 ⁶ real	% de eclosión
					1	2	3	4	5	6		
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												
28												
29												
30												
31												

5. Reproducción

5.1 Reproductores

5.1.1 Tanques de desove

Son tanques en fibra de vidrio reforzados en concreto con una capacidad nominal de 130 toneladas y cuentan con 120 orificios distribuidos por los costados para permitir el constante recambio al interior de los mismos ya que se encuentran semi sumergidos en el mar. Cuentan con una compuerta en la parte inferior por donde entran los animales seleccionados a partir del área de encierro y sobre ellos se coloca una malla polisombra (Figura 5).



Figura 5. Encierros de reproductores y tanques de desove en condiciones de semi cautiverio (Fuente: CEINER)

Cuando se confirma que hay un posible desove, se procede a sellar todos los orificios del tanque permitiendo que suba el nivel del agua al interior del tanque. Posee un tanque accesorio de 300 L adosado a un costado donde se instalan filtros de 1000 micras con un anillo de aireación en el fondo para evitar que se maltraten los huevos.

5.1.2 Madurez sexual

En el medio natural los machos alcanzan la madurez sexual a los dos años mientras que las hembras la alcanzan a los tres años cuando superan los 10 kg de peso, lo que permitiría obtener una medida indirecta de la edad de los animales (Kaiser & Holt, 2005; Álvarez-Lajonchere & Hernández, 2001). No obstante, en jaulas de engorde se ha podido constatar que las hembras alcanzan su madurez sexual en menos de un año e incluso se observan machos silvestres que comienzan a acercarse a la jaula atraídos por estas (Bunkley-Williams & Williams, 2006).

5.1.3 Manejo de reproductores

Los reproductores son mantenidos en semi-cautiverio en el CEINER y se seleccionan de acuerdo a su origen buscando cruzar individuos no consanguíneos. Cada uno de los animales porta un chip electrónico en la parte dorsal y se lleva un registro pormenorizado de talla, edad estimada y origen. Para introducir el chip se acondicionan dos tanques de 500 L con oxígeno, uno contiene agua de mar y eugenol - aceite de clavo como anestésico (García, 2002) a una concentración de 7 ppm, y otro tanque con agua dulce como tratamiento profiláctico para favorecer el desprendimiento de ectoparásitos por choque osmótico. Los animales que superan los 4 kg son capturados con una malla de algodón suave y se depositan en una bolsa oscura plástica que porta en el extremo un gancho que se sujeta a una balanza para estimar el peso, posteriormente se llevan los animales al tanque con anestésico y se espera de cinco a diez minutos hasta que surte efecto, se realiza la determinación de sexo del ejemplar manteniendo la cabeza dentro del agua tapando los ojos con un paño y se procede a insertar una cánula ($\Phi = 2\text{mm}$) en el poro genital deslizándola suavemente y aspirando al mismo tiempo, se retira la cánula y a simple vista se puede constatar la presencia de huevos en la cánula o de líquido seminal, no obstante, se confirma con un microscopio (Figura 6).



Figura 6. Canulación de un ejemplar adulto para determinar el sexo (Fuente: CEINER)

A continuación se coloca por medio de una aguja el chip, se verifica con un lector digital el código (Figura 7), inmediatamente se toma la medida de longitud estándar y total del ejemplar y se lleva suavemente al otro tanque donde se espera por espacio de dos minutos observando si hay desprendimiento de parásitos. Una vez finalizado el tratamiento se llevan de nuevo al tanque o al encierro seleccionado para reproductores revisando que despierten completamente de la anestesia.



Figura 7. Introducción del chip digital en el dorso y verificación con el lector del código en el reproductor (Fuente: CEINER)



**Figura 8. A. Encierros y corredor que conduce al tanque de reproductores; B. Compuerta de ingreso
(Fuente CEINER)**

Quando se programa un desove los animales seleccionados son conducidos por un corredor que comunica a una compuerta en la parte inferior del tanque de desove (Figura 8), por lo general se colocan dos machos por cada hembra. Los animales no son inducidos con hormonas ni manejo de fotoperíodo. Los ejemplares son monitoreados a diario para determinar si hay comportamiento de apareamiento, el cual se hace evidente en las primeras horas de la mañana cuando la hembra que se encuentra apta comienza a tragar constantemente agua con el fin de hidratar los huevos exhibiendo dilatación abdominal mientras que los machos comienzan a seguirla durante todo el día, cerca del cenit o primeras horas de la noche aumenta el cortejo, y finalmente la hembra libera los huevos lo que estimula a los machos para liberar el esperma (Figura 9).



Figura 9. Apareamiento de los reproductores y fertilización de los huevos (Fuente CEINER)

Los huevos viables tienden a flotar y por rebose llegan al tanque accesorio (Figura 10) donde son colectados suavemente con mallas finas y se depositan en tanques de 20 L de capacidad.



Figura 10. Detalle del tanque con elementos de aireación para colectar ovas (Fuente CEINER)

5.1.4 Manejo de ovas

Se toman muestras de los tanques que portan las ovas con una jarra plástica a un volumen conocido observando la formación de dos capas, una oscura que se ubica arriba y que corresponde a los huevos viables, y una capa traslúcida que corresponde a los huevos no fértiles que se precipitan en el fondo (Figura 11). Se toma lectura de ambos volúmenes y se determina el porcentaje de fertilización teniendo en cuenta que para la especie se ha determinado un total de 420 huevos por cada mL.



Figura 11. Medición de volumen para determinar el porcentaje de fertilización

A continuación se separan con cuidado los huevos fértiles y se colocan en una incubadora a una densidad de 300 ovas/L, el tanque tiene en el centro una malla de 500 micras, y una vez se siembran los huevos se aplica un tratamiento profiláctico con formol comercial (37 %) a una concentración de 100 ppm, manteniendo la aireación pero sin recambio durante 1 hora. Es recomendable realizar este tratamiento antes del envío de ovas al laboratorio de CENIACUA o antes de comenzar la incubación en el CEINER. Una vez finalizado el tratamiento se restablece el recambio a una tasa del 500%.

5.1.5 Transporte de Ovas

Para el envío de huevos se preparan bolsas dobles con capacidad de 18 L en los que se colocan a una densidad de 10.000 a 20.000 huevos/L. Los huevos se colectan con redes de algodón suave y en forma rápida se colocan en el agua registrando salinidad, temperatura y concentración de oxígeno disuelto, enviando estos datos con la remisión, posteriormente se introduce una manguera conectada a una bala de oxígeno y se satura hasta 25 mg/L, sellando inmediatamente. Las bolsas se colocan en una caja con revestimiento de icopor y se envían a primera hora en la mañana posterior al desove.

6.2 Incubación

6.2.1 Recepción de huevos

Los huevos embrionados (Figura 12) se reciben en horas de la tarde en el laboratorio de CENIACUA, donde en forma previa se han acondicionado los tanques cilíndricos cónicos de incubación con aireación suave, un tubo central que porta una malla de 500 micras así como un anillo de aireación en la base. Mientras dura la incubación se mantiene un recambio diario del 100%.

Se abren inmediatamente las cajas y se toman los parámetros de temperatura y oxígeno, procediendo a realizar la aclimatación tomando agua del tanque de incubación con una jarra plástica y agregándolo suavemente por las paredes de la bolsa, hasta que se igualen los parámetros antes de vaciar el contenido en el tanque a una densidad de 300 huevos/L.



Figura 12. Huevos embrionados (Fuente: CEINER)

6.2.2 Eclosión

Se espera que la eclosión se presente en las 24 horas posteriores al desove, aunque puede presentarse antes si la temperatura del agua supera los 28° C. Al tanque se le coloca un fraccionador de proteína conectado a la aireación con el fin de retener los coriones que se desprenden cuando ocurre la eclosión y que se retiran suavemente con una jarra plástica.

Cuando se observa que han eclosionado las larvas es importante interrumpir la aireación y crear un vortex suave al interior del tanque, esperando por espacio de 10 minutos que se detenga el agua, con el fin de recolectar del fondo por medio de sifón los restos de coriones, esto evita que se deteriore la calidad del agua en el tanque por descomposición del material proteico, una vez finalizado este paso se restablece de nuevo la aireación y el recambio.

En la mañana del primer día post eclosión (dpe) se realiza la estimación de larvas en el tanque, tomando con un beaker graduado de 50 – 100 mL muestras en diversos puntos. Las larvas presentan fototropismo positivo, por lo que es conveniente mezclar con suavidad el agua para lograr una estimación más acertada. De acuerdo al número de huevos sembrados y el número de larvas estimadas se procede a calcular el porcentaje de eclosión.

7. Larvicultura

La larvicultura comprende el período en el cual las larvas reabsorben su saco vitelino y han experimentado metamorfosis hasta alcanzar la forma definitiva. Algunos autores señalan que además se ha desarrollado completamente su tracto digestivo y están aptas para iniciar su destete con dieta seca. Para el caso de la cobia, esto puede ocurrir a partir del 8 dpe (Faulk *et al.*, 2007) o incluso prolongarse más allá del 16 dpe dependiendo del crecimiento el cual está condicionado por la temperatura a la cual se desarrollan (Benetti *et al.*, 2008).

7.1 Traslado y siembra en los tanques de larvicultura

En el 2 dpe se comienzan a llenar los tanques de larvicultura con agua filtrada hasta el nivel requerido adicionando 100 L de *Nannochloropsis oculata* con el fin de simular las condiciones naturales y estimular la producción de enzimas en el tracto digestivo (Civera-Cerecedo *et al.*, 2004), este suministro de algas se mantiene durante tres días. Antes de cualquier siembra es preferible realizar una prueba de unas pocas larvas en un beaker con agua de los tanques, observando si no existe una respuesta desfavorable. En el laboratorio se cuenta con seis tanques en los que se siembran las larvas a una densidad aproximada de 5 animales/L (Tabla 10).

Tabla 10. Estimaciones de siembra en los tanques de larvicultura

No. Tanque	Volumen (Ton)	Total larvas
1	4.5	22.960
2	6.5	32.910
3	4.5	22.960
4	6.5	32.910
5	6.5	32.910
6	6.5	32.910

Se disponen una serie de seis baldes de 20 L previamente lavados, a los que se les adicionan 2 L de agua de mar filtrada para recibir las larvas, y con un beaker graduado de 1000 L se sacan

las larvas del tanque de incubación, es recomendable homogeneizar suavemente el agua de la incubadora para garantizar que los baldes lleven la misma cantidad de larvas. De acuerdo a la cantidad de larvas que se siembra en cada tanque se realiza el cálculo del número de baldes que se deben llevar, y se distribuye un balde por tanque en cada ronda hasta completar la cantidad estipulada.

7.2 Alimentación

7.2.1 Alimento vivo

La alimentación con alimento vivo se distribuye en cinco raciones que se dan cada tres horas en los horarios de 6:00, 9:00, 12:00, 15:00 y 18:00. Para cada día se programa la cantidad de litros de rotíferos enriquecidos que se deben cosechar, así como los gramos de cistos de artemia que se deben sembrar para cumplir con los requerimientos de las larvas (Tabla 11). Cada ítem alimenticio se dispone en neveras de 94 L de capacidad donde se coloca el producto de la cosecha (Figura 11) y se realiza un conteo para verificar que cumple con las densidades estimadas. El alimento vivo se proporciona con jarras plásticas de 4 L de capacidad y se distribuye por todo el tanque introduciendo el extremo superior de la jarra deslizándola suavemente.

Tabla 11. Densidad diaria de alimento vivo durante la larvicultura

DPE	Ítem alimenticio	Densidad al final del día
2	Rotífero	2.5 /mL
3	Rotífero	5 - 6 /mL
4	Rotífero	7 - 8 /mL
5	Rotífero	7 - 8 /mL
6	Rotífero	8 -10 / mL
	Nauplio <i>A. franciscana</i>	0.1 - 3 / mL
7	Rotífero	1 - 3 / mL
	Nauplio <i>A. franciscana</i>	1 - 3 / mL
8	Rotífero	0.7 - 1 /mL
	Nauplio <i>A. salina</i>	0.1 - 3 /mL
9	Rotífero	0.5 - 0.7 / mL
	Nauplio <i>A. salina</i>	0.1 - 3 /mL
10	Rotífero	0.01 - 0.5 /mL
	Nauplio <i>A. salina</i>	0.1 - 3 /mL
11	<i>A. salina</i> enriquecida	1 - 3 /mL
12	<i>A. salina</i> enriquecida	1 - 3 /mL
13	<i>A. salina</i> enriquecida	1 - 3 /mL
14-28	<i>A. salina</i> enriquecida	1 - 3 /mL

***Los días de inicio de un alimento u otro pueden variar de acuerdo al desarrollo de la larva influenciado por la temperatura del agua.



Figura 13. Nevera de 94 L de capacidad con artemia enriquecida

En la tarde del 2 dpe se adicionan rotíferos enriquecidos a una densidad de 2.5 rotíferos/mL, ya que de acuerdo a la temperatura del cultivo, algunas larvas ya han comenzado a reabsorber su reserva vitelina y comienzan a abrir la boca, razón por la cual la presa viva debe estar presente para suplir sus necesidades nutricionales. La densidad de rotíferos se va incrementando día tras día hasta alcanzar 10 rotíferos/mL pero en la medida que se adiciona artemia comienza a disminuir hasta que se suspende en el 11 dpe.

La densidad del alimento vivo se verifica todos los días tomando a las 08:00 y a las 14:00 horas cuatro muestras por tanque con una pipeta graduada de 1 mL para los rotíferos y con beaker de 100 mL para las artemias. Los rotíferos se fijan con solución lugol y se cuentan en una placa Sedgewick Rafter usando el microscopio; las artemias se filtran en un colector de 150 micras, y también se fijan con 2 mL de solución lugol realizando el conteo en estereoscopio. Adicionalmente se toman cinco individuos al azar para medir el crecimiento y observar su contenido estomacal (Figura 14).

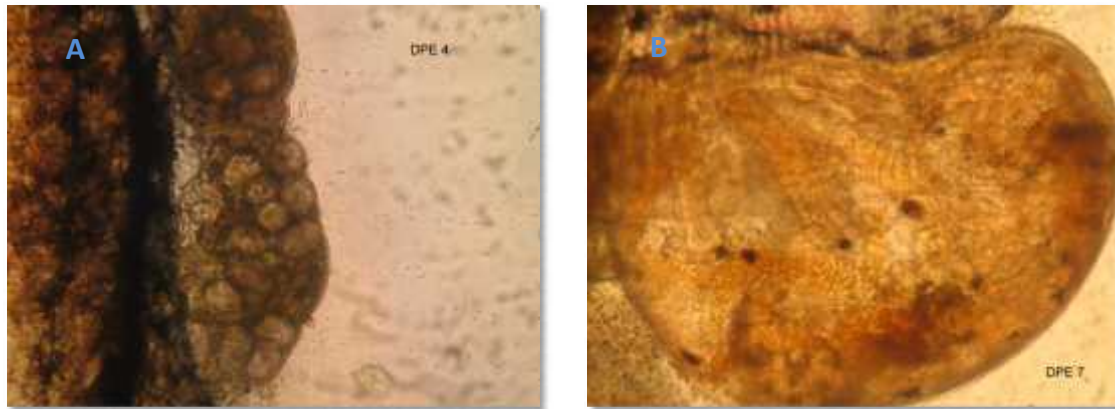


Figura 14. Contenido estomacal en larvas de cobia A. Rotíferos en el 4 dpe; B. Artemias en el 7 dpe (Aumento 40x).

En los primeros diez días la aireación de los tanques es muy suave para evitar que las larvas sean empujadas hacia las paredes de los tanques donde se pueden quedar adheridas, además esto posibilita que el alimento ingerido sea aprovechado en su crecimiento y no se gaste en un nado excesivo.

A partir del 5 dpe se comienza a realizar el sifón del fondo muy suavemente para eliminar detritos y larvas que pueden haber muerto durante el proceso de metamorfosis cuando pasan de respiración cutánea a branquial. Durante el sifón se dispone de un anillo de PVC con pequeñas perforaciones alrededor del tanque, el cual se conecta a la entrada de agua para evitar que durante el descenso del nivel las larvas se adhieran a la pared del tanque. Una vez finalizado el sifón se repone de nuevo el volumen con agua filtrada.

Entre el 6 y 7 dpe teniendo en cuenta las observaciones diarias del contenido estomacal se adicionan nauplios de *Artemia franciscana*, la cual se caracteriza por un menor tamaño (<430 micras), siendo ideal para el tamaño de la boca de la larva; la densidad de artemia en los tanques debe estar entre 0.01 a 3 artemias/mL, posteriormente se realiza la transición a nauplios de *A. salina* con la misma densidad.

El recambio a una tasa del 150% diario comienza a partir del 11 dpe cuando cesa la alimentación con rotíferos e inicia la alimentación con *A. salina* enriquecida. Antes de abrir el recambio en este día es conveniente realizar un primer tratamiento con formol a una concentración de 50 ppm, para lo cual se debe suspender la alimentación a las 09:00 horas, realizar el sifón del fondo para evitar excesos de materia orgánica que reaccionen con el

formol disminuyendo la concentración de oxígeno disuelto y abrir el registro de la red de oxígeno verificando que las derivaciones de este en cada tanque estén funcionando adecuadamente. Durante el tratamiento que dura 1 hora se monitorea el oxígeno disuelto el cual se debe mantener por encima de 5 mg/L, pasado el tiempo se abre el recambio para renovar rápidamente el agua.

7.2.2 Inicio de destete con alimento balanceado

El destete se inicia con alimento balanceado B1 de Otohime⁵ entre el 11 y 13 dpe, en la ración correspondiente a las 09:00 horas antes de suministrar artemia enriquecida, se suspende la aireación en el tanque y a continuación se distribuye suavemente por toda la superficie y se observa si es aceptado por las larvas, después de 15 minutos se vuelve a restablecer la aireación y se suministra la artemia enriquecida. Este procedimiento se realiza durante dos días en los horarios establecidos para alimentación, y se coloca el skimmer que consiste en una estructura de PVC semicerrada conectada al sistema de aireación (Figura 15) donde se acumula el material grasoso y la fracción final del alimento no consumido, de forma que se pueda eliminar fácilmente con una jarra.



Figura 15. Montaje del skimmer en el tanque de larvicultura

⁵ Reed Mariculture, 871 East Hamilton Ave, Suite #D, Campbell, CA 95008 www.reedmariculture.com

Una vez se inicia destete el sifón del fondo debe realizarse mañana y tarde para evitar que se acumule materia orgánica en el fondo, dado que provoca el descenso en los niveles de oxígeno disuelto el cual se consume en el proceso de descomposición de la misma, y además se convierte en sustrato para bacterias y parásitos patógenos.

7.3 Riesgos y controles durante la larvicultura

Durante esta etapa hay que prestar atención a factores de riesgos asociados con el manejo en sí de las larvas, mantenimiento de los tanques y la alimentación. A continuación (Tabla 12) se enuncian algunos identificados junto con los respectivos controles.

Tabla 12. Matriz de identificación y control de riesgos en la etapa de larvicultura

REGISTRO DE RIESGOS



NOMBRE PROYECTO **IMPLEMENTACIÓN DEL CULTIVO DE COBIA EN EL CARIBE COLOMBIANO**
 PROGRAMA INVEST **DIVERSIFICACIÓN**
 ACTIVIDAD **Larvicultura**

ITEM	DESCRIPCIÓN DEL RIESGO	CONSECUENCIA	CONTROLES EXISTENTES	CONTROLES NECESARIOS
1	Residuos de cloro en elementos del laboratorio	Mortalidad masiva de animales	Inmersión en tiosulfato de sifones, mangueras, filtros	Pruebas de ortotoludina a cada elemento antes de su uso
2	Subalimentación con rotíferos o artemias	Desnutrición y disparidad de tallas		Conteo en cuatro puntos de cada tanque a las 8:00 am y a las 2:00 pm Examinar diariamente el contenido estomacal de cinco larvas tomadas al azar de cada tanque
3	Contaminación del alimento balanceado	Proliferación de bacterias gram positivas patógenas	Muestreo microbiológico del alimento	Separar porciones por cada ciclo y empacar en bolsas nuevas selladas al vacío lo que no se va a usar. Sacar el aire de las bolsas antes de cerrarlas de nuevo Mantener el alimento refrigerado en nevera
4	Sobrealimentación con alimento balanceado	Deterioro en la calidad del agua y proliferación	Observación directa del comportamiento alimenticio	Sifón en la mañana desde 4 dpe al 13 dpe Sifón mañana y tarde desde 13 dpe Pesaje del alimento en la mañana y en la tarde
5	Pérdida de animales por sifón	Disminuye la densidad de individuos Algunos peces se lastiman o mueren contra la malla	Anillos de PVC perforados que se conectan a la entrada del agua para que rocién suavemente las paredes del tanque durante el sifón	Los animales recuperados se deben llevar a tanques anexos de 1 tonelada y no regresarlos al tanque de origen
6	Canibalismo	Disminuye la densidad de individuos		Realizar selección de tallas desde el 13 dpe
7	Pérdida de nivel en el tanque cuando no hay recambio	Mortalidad de larvas en paredes		Llenar los tanques el 1 DPE y observar fugas antes de sembrar

8. Alevinaje

8.1 Alimentación

El alimento balanceado se da a razón de un 10 – 15 % de la biomasa, observando el comportamiento alimenticio de la larva y el desarrollo de las mismas, realizando la transición entre uno y otro de acuerdo al tamaño de la boca. Este alimento está específicamente formulado para suplir los altos requerimientos de proteína y lípidos que requiere la especie (Tabla 13).

Tabla 13. Ficha técnica del alimento balanceado Otohime

Composición% Tamaño	B1 (200-360 µ)	B2 (360-620 µ)	C1 (620-920 µ)	C2 (920-1410 µ)	EP1 (1..5 mm)	EP2 (2..3 mm)
Proteína cruda	55.5	55.5	58.4	58.4	51.0	51.0
Lípidos	14.5	14.5	13.9	13.9	13.7	13.7
Fibra	2.1	2.1	2.0	2.0	1.2	1.2
Cenizas	13.1	13.1	13.4	13.4	12.6	12.6
Otros	6.8	6.8	6.6	6.6	5.4	5.4

El suministro de oxígeno debe ir acorde con el crecimiento y necesidades de la producción por lo que es conveniente después del 21 dpe abrir la red de oxígeno 15 – 20 minutos cada dos horas en la noche para evitar que este parámetro se encuentre por debajo de los 5 mg/L.



Figura 16. Aspecto del tanque con alevinos cuando se suspende la aireación antes de suministrar el alimento peletizado

El alimento se pesa por ración en vasos independientes de icopor y se da retirando la aireación (Figura 16), esparciéndolo con una cuchara sobre toda la superficie del tanque y desplazándose alrededor de este para garantizar que todos los alevinos se alimenten *ad libitum* observando el comportamiento alimenticio; hasta el 28 dpe se sigue suministrando artemia enriquecida sirviendo las raciones, como se describió en la larvicultura, después de dar el alimento balanceado. En caso que el alimento no sea consumido en su totalidad hay que revisar los niveles de amonio y descartar que la inapetencia se deba a la presencia de un parásito u otro agente etiológico. Durante esta etapa el recambio en los tanques aumenta paulatinamente hasta ubicarse en un 500% diario.

A partir de las observaciones realizadas en el laboratorio de los contenidos estomacales y de la longitud promedio de las larvas se realizó el siguiente esquema de alimentación, que es más acertado para decidir el cambio de una alimentación a otra (Figura 17).

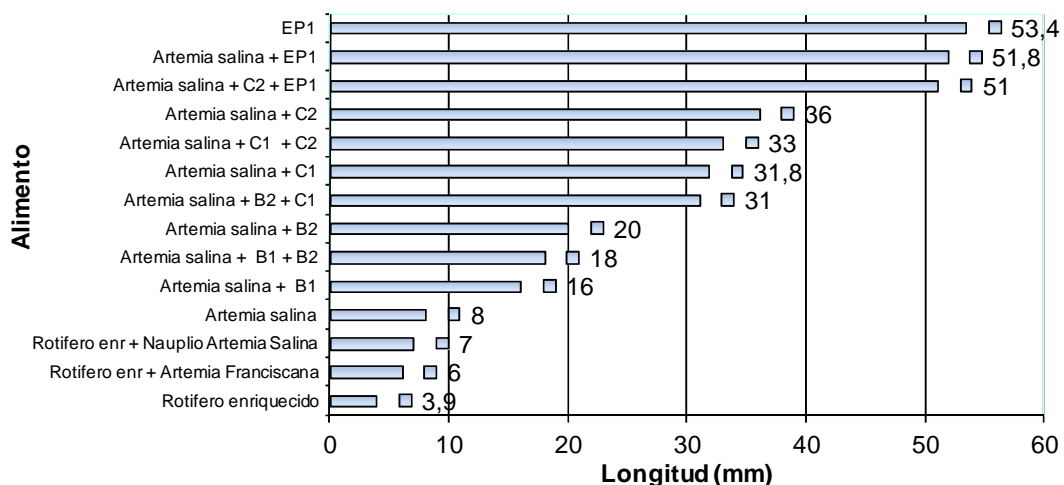


Figura 17. Esquema de alimentación en relación con la longitud del animal

Esta especie presenta un alto canibalismo durante la etapa de destete (Figura 18) por lo que se recomienda realizar a partir del 13 dpe una selección manual removiendo los individuos más pequeños de cada tanque, tomando una jarra plástica y una cuchara por tanque seleccionando hasta grupos de 50 individuos por conteo que se llevan a tanques de 1 tonelada.



Figura 18. Canibalismo entre alevinos

8.2 Cosecha y transporte

El día anterior a la cosecha se suspende la alimentación en los tanques para evitar que se dañe el agua de transporte por excretas, así mismo es conveniente realizar un tratamiento con formol comercial (37%) a una concentración de 100 ppm, activando la red de oxígeno y cerrando el recambio durante 1 hora, al finalizar se reinicia el recambio a una tasa del 500% para eliminar rápidamente el formol.

En la noche se conecta el enfriador de agua y se bombea el agua a una temperatura de 15°C a un tanque reservorio de 1000 L. En el día de la cosecha se disponen 3 tanques de 500 L para conteo con una muselina en la parte superior para la recepción de los animales; el agua en estos tanques debe estar 2°C por debajo de la temperatura del tanque de alevinos.

El nivel del tanque de alevinos se baja hasta 1000 L, y se adiciona eugenol - aceite de clavo a 7 ppm y se espera a que estén ligeramente sedados antes de pescarlos con el chayo (Figura 19), no es recomendable pescar grandes cantidades pero si llevarlos en el menor tiempo posible sin maltratarlos a los tanques de conteo; en estos últimos usando guantes se cuentan las larvas completando grupos de 45 a 50 individuos, descartando aquellos animales que presenten algún grado de malformación.



Figura 19. Cosecha con chayo

Aparte se disponen cajas plásticas de 60 L previamente lavadas o en su defecto cajas de cartón, en las que se colocan de bolsas dobles de 20 L de capacidad llenándolas con 9 L de agua de mar a una temperatura menor en 2°C a la que se tiene en los tanques de conteo colocando en estas los animales previamente contados , a continuación se le agregan otros 9 L de agua con 1°C menor a la temperatura que ya tenía la caja y se procede a saturar con oxígeno hasta 20 mg/L sellando las bolsas (Figuras 20, 21, 22, 23, 24, 25). Este descenso progresivo de temperatura permite que todo el proceso cause el menor grado de estrés posible en los animales.



Figura 20. Preparación bolsas de empaque



Figura 21. Tanque para selección de juveniles



Figura 22. Selección, conteo y empaque



Figura 23. Bolsas con juveniles



Figura 24. Saturación con oxígeno y empaque



Figura 25. Embalaje y transporte

9. Sanidad

El éxito de la producción depende del constante monitoreo del estado sanitario de los animales mediante observaciones diarias del comportamiento alimenticio y nado, complementado con montaje en fresco para observar el aspecto de branquias y piel.

9.1 Montajes en fresco

Se realizan en el área de larvicultura y se debe contar con los siguientes elementos:

- Microscopio binocular
- Tijeras
- Pinzas
- Bisturí
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Guantes
- Jeringas de insulina
- Alcohol antiséptico
- Algodón

Los montajes en fresco son preparados removiendo el tejido objetivo (branquias, piel, aletas y mucus) y colocándolo en una gota de solución salina estéril o agua de mar estéril sobre un portaobjetos, luego son extendidos suavemente con un cubreobjetos y observados en el microscopio.

9.1.1 Branquias

Se remueve la segunda laminilla del arco branquial y con una pinza se extrae una porción de la laminilla branquial realizando la extensión sobre el portaobjetos (Figura 22). En aumento de 4x y 10x en el microscopio se puede observar la presencia de parásitos en medio de las laminillas branquiales que pueden ser *Tricodina sp.*, *Dactilogyrus sp.*, *Amyloodinium sp.*, calificando el grado de infestación según la presencia y cantidad.

También se determina si existe acumulación de materia orgánica sobre las lamelas o si hay nódulos granulares que pueden indicar acumulación de bacterias y rickettsias.



Figura 26. Aspecto normal de una lamela branquial vista en el microscopio (Aumento 4x)

9.1.2 Frotis de piel, mucus y aletas

Se realiza un suave raspado con una cuchilla estéril de bisturí sobre la piel del animal, removiendo parte de la capa superficial y mucus, llevando la muestra al microscopio como se ha indicado anteriormente. En aumento de 4x y 10x se pueden visualizar parásitos externos calificando el grado de infestación según la presencia y cantidad.

También se pueden observar a simple vista lesiones producidas por hongos, las cuales se confirman añadiendo una gota de azul de lactofenol que permite visualizar las hifas.

Para confirmar la presencia de bacterias en mucus se puede utilizar tinción de gram, fijando la muestra con calor y agregando una solución de cristal violeta por un minuto, a continuación se lava con agua, se le agrega una solución de lugol por un minuto, nuevamente se lava, se agrega una solución de alcohol acetona por 15 segundos, se lava y se deja secar al aire, por último se le agrega fucsina de gram por 45 segundos, se lava de nuevo y se examina al microscopio con el objetivo 100x. Si se observan bacilos, cocobacilos o cocos de color rosado se considera un resultado positivo para bacterias gram negativas, en caso que la coloración sea de color morado se interpreta como un resultado positivo para bacterias gram positivas.

9.2 Enfermedades

9.2.1 Amyloodiniosis – Enfermedad del terciopelo marino

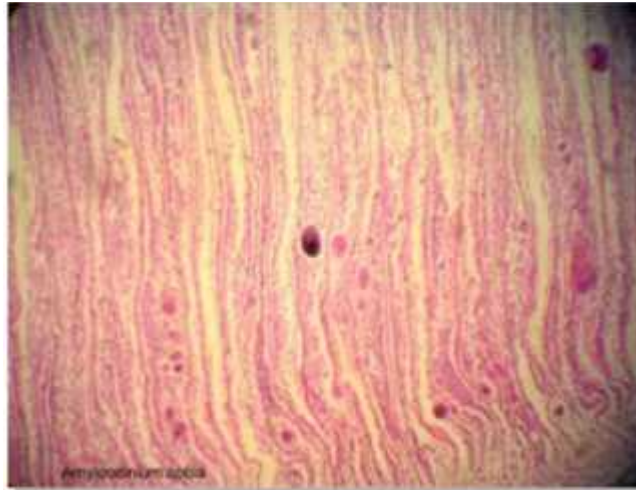


Figura 27. Lamela branquial sobre la que se evidencia el estado trofante de *Amyloodinium ocellatum*

Su agente causal es el estado parasitario o trofante⁶ de *Amyloodinium ocellatum* (Figura 23), dinoflagelado fotosintético y mótil que mide entre (80-350 micras) (Fuentes *et al*, 2001). Su identificación se realiza por análisis en fresco de muestras de branquiales, piel y aletas. Los animales portadores se observan letárgicos, con dificultad para respirar, o aumento en su frecuencia respiratoria, pérdida del apetito, nado errático, y en infestaciones severas se observa cambios en la coloración de la piel (piel de terciopelo).

Se pueden realizar tratamientos por inmersión en agua dulce, aumento en el recambio de agua, baños con formol. No obstante, los alevinos resultan muy susceptibles frente a estos tratamientos. Se recomienda usar de forma preventiva filtración con cartuchos de 5 micras en la derivación de tubería que va a cada tanque, además del sifón diario en la mañana y en la tarde para evitar que el dinoflagelado desarrolle su estado bentónico sobre el alimento no

⁶ Dentro del ciclo de vida del *Amyloodinium* la fase parasitaria tiene una duración de 72 a 96 horas.

consumido antes de pasar al estado trofante. Esta enfermedad no se ha presentado durante la etapa de larvicultura pero si afectó a unos reproductores en condiciones de cautiverio. Algunos productores que usan sistemas de recirculación en la larvicultura consideran que este es el principal obstáculo que deben enfrentar (Kaiser y Holt, 2005).

9.2.2 Inflamación Branquial Proliferativa⁷

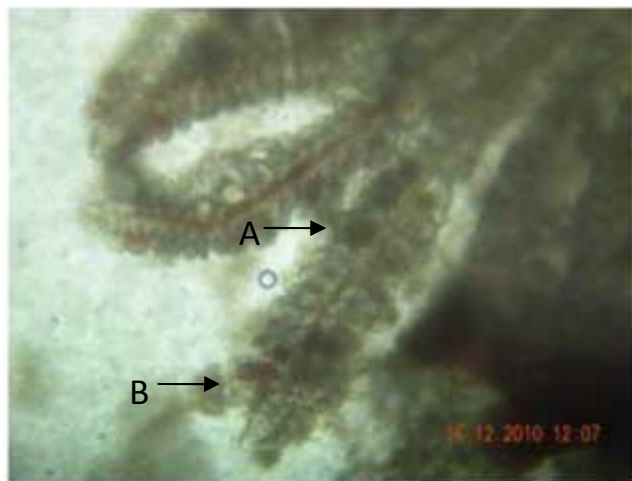


Figura 28. Aspecto de una lamela branquial en la que se observan A – Nódulos característicos de la lesión y B – Zonas hemorrágicas en las zonas distales (10x)

Los animales que han presentado la enfermedad durante el ciclo de larvicultura exhiben un aumento de la frecuencia respiratoria, inapetencia y la región craneal se torna de color rojizo. Al realizar el montaje en fresco se observan una serie de agregados bacterianos o nódulos en las lamelas branquiales y cuando la infección es crónica se distinguen zonas hemorrágicas en las mismas (Figura 24): en las placas histológicas se hacen evidentes lesiones multifocales de agregados bacterianos de cuerpos basófilos pequeños dentro de las células epiteliales de las branquias que causan hiperplasia e inflamación (Figura 25)..

Para la identificación del agente etiológico se tomaron muestras de animales sintomáticos y se amplificaron los genes ribosomales 16S de procariotes, el producto amplificado fue analizado con enzimas de restricción y secuenciado; las secuencias fueron alineadas con el programa BLAST (Basic Local Alignment Tool) en las bases de datos del NCBI y de Ribosomal Database

⁷ PGI – Proliferative Gill Inflammation

Project obteniendo una similaridad de 99.9% con *Endozoicomonas elysicola* una bacteria Gram negativa, halofila, endosimbiótica. Posteriormente se diseñaron iniciadores específicos y se implementó la técnica de PCR para la detección de la bacteria que permite hacer un diagnóstico temprano (Güiza *et al.*, 2011).

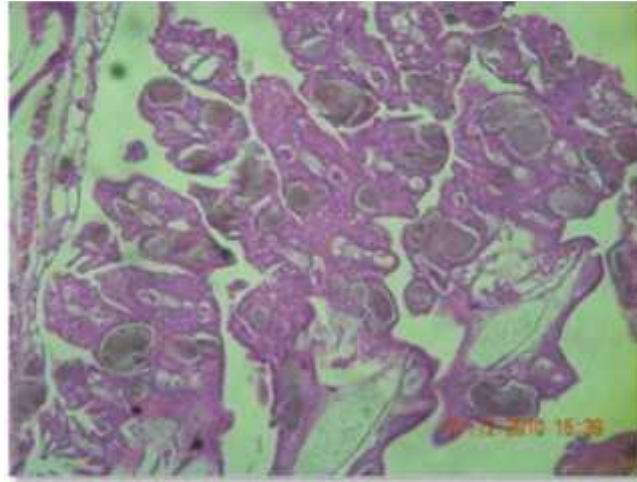


Figura 29. Corte histológico de una lamela branquial en la que se observa las lesiones de la bronquitis nodular multifocal (10x)

Bibliografía

Álvarez-Lajonchère L. y O.G. Hernández. 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, LA. 424 pp.

Benetti, D., M.R. Orhun, B. Sardenberg, B. O' Hanlon, A. Welch, R. Hoenig, I. Zink, J.A. Rivera, B. Denlinger, D. Bacoat, K. Palmer & F. Cavalin. 2008. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture Research*. 2008. Vol. 37 Issue 7. 701-711 pp.

Bunkley-Williams, L., and E., Williams. 2006. New records of parasites for culture Cobia *Rachycentron canadum* (Percyformes: Rachycentridae) in Puerto Rico. *Revista Biología Tropical*. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 54 (Suppl. 3): 1-7.

Civera-Cerecedo R., C.A. Álvarez-González y F.J. Moyano-López. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. En: Cruz Suárez L.E., D. Ricque Marie, Nieto López M.G., D. Villarreal, U. Scholz y M. González. 2004. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. México.

Faulk, C.K., D. Benninghoff and G.J. Holt. 2007. Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Rachycentron canadum* (L.). *J.Fish.Biol.* 70, 567-583.

Fuentes, J.L., D.E. Dezón, C.R. González y E.G. Fermín. 2001. Ciclo de vida de *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellata: Oodiniidae). *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente*. 40: 83 - 89.

García A. 2002. Utilización del aceite de clavo, *Syzygium aromaticum* L. (Merr. & Perry), como anestésico eficaz y económico para labores rutinarias de manipulación de peces marinos cultivados *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18 (1-4). pp 21-23.

Güiza L., Martínez X., Mendoza M., Caraballo X., Acosta X. y Salazar M. 2011. Agregados bacterianos en branquias de alevinos de cobia "*Rachycentron canadum*" causantes del síndrome de inflamación branquial proliferativa. *Revista Entornos*. ISSN 0124-7905. Suplemento Especial. p 106.

Hitzfelder, G.M., J. Holt, J.M. Fox, D.A. McKee. 2006. The effect of rearing density on growth and survival of cobia. *Journal of Aquaculture Society*. World Aquaculture Society. Vol. 37, number 2, 2006. 204-209 pp.

Joseph E., J. Norcross and W. Massmann. 1964. Spawning of the Cobia, *Rachycentron canadum*, in the Chesapeake Bay area, with observations of juvenile specimens. En: *Chesapeake Science*. Vol. 5 No. 1-2. pp 67-71.

Kaiser, J.B., Holt, G.J. 2005. Species profile: Cobia. Southern Regional Aquaculture Center, Stoneville, Mississippi.(SRAC) Publication No. 7202, August 2005.

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration and National Marine Initiative. 2006. Hatchery production of mutton snapper (*Lutjanus analis*) and other high value marine food fish. Progress Report October 1, 2001 - September 30, 2002. DOC/NOAA/NMAI Grant No. 06RG-0068.

Orhun, R., Benetti, D., Zink, I, Collins, J, Rice, P., Cavalin, F., Sardenberg, B, Douillet, P. 2005. Progress in hatchery development of cobia (*Rachycentron canadum*) at the University of Miami Experimental Hatchery (UMEH). The 2nd international sustainable marine fish culture conference, 2005 at Harbor Branch Oceanographic Institution (HBOI).

Picchietti S., A.M. Fausto, E. Randelli, O. Carnevali, A.R. Taddei, F. Buonocore, G. Scapigliati & L. Abelli. 2009. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L). *Fish & Shellfish Immunology* 26: 368-376.

Pirarat N., T. Kobayashi, T. Katagiri, M. Maita & M. Endo. 2006. Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental

Edwardsiella tarda infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113: 339-347.

Schwarz M., E. McLean, S. Craig and M. Silva. 2006. Study on cobia research: Larval growth, nutrition and general physiology. *Panorama Acuicola Magazine*. Sep - Oct. pp 24 - 29.

Weirich Ch., A. Stokes, T. Smith, W. Jenkins and M. Denson. 2006. Outdoor tank and pond spawning of Cobia, *Rachycentron canadum*, in Coastal South Carolina. *Journal of Applied Aquaculture*. Vol. 18. No. 3. pp 1- 16.