



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**CULTIVO DEL MICROCRUSTÁCEO *Moina sp* COMO ALTERNATIVA
ALIMENTARIA PARA EL CULTIVO EN LABORATORIO DE PEZ CEBRA (*Danio
rerio*) EN QUITO-ECUADOR.**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales**

AUTORA: JEYLA CRISTINA ROGEL ESPINOZA

TUTOR: CHRISTIAN FABRICIO LARENAS URÍA.

Quito-Ecuador

2023

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jeyla Cristina Rogel Espinoza con documento de identificación N° 1726434879 manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 20 de julio del año 2023

Atentamente,



Jeyla Cristina Rogel Espinoza
1726434879

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Jeyla Cristina Rogel Espinoza con documento de identificación No. 1726434879, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo experimental: “Cultivo del microcrustáceo *Moina sp* como alternativa alimentaria para el cultivo en laboratorio de pez cebra (*Danio rerio*) en Quito-Ecuador”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 20 de julio del año 2023

Atentamente,



Jeyla Cristina Rogel Espinoza
1726434879

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Christian Fabricio Larenas Uría con documento de identificación N° 1705586046, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: CULTIVO DEL MICROCRUSTÁCEO *Moina sp* COMO ALTERNATIVA ALIMENTARIA PARA EL CULTIVO EN LABORATORIO DE PEZ CEBRA (*Danio rerio*) EN QUITO-ECUADOR, realizado por Jeyla Cristina Rogel Espinoza con documento de identificación N° 1726434879, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 20 de julio del año 2023

Atentamente,



Christian Fabricio Larenas Uría Ph.D.
1705586046

DEDICATORIA

En primer lugar, quiero dedicar mi esfuerzo a Dios, autor principal de mi vida, por sus bendiciones diarias.

A mis abuelitos quienes han velado por mi bienestar desde mis dos añitos de vida, me han amado y apoyado como una hija, de ustedes aprendí grandes valores de vida que me han permitido ser una mujer de bien.

A mis tías Gladys y Ely por toda la confianza, amor incondicional y apoyo en cada etapa de mi vida, son fuente de motivación para alcanzar mis metas.

A mi madre Patricia, mi padre Wilar, y Collins por estar pendientes de mí, a pesar de la distancia, se cuánto me aman.

A toda mi familia; Edi, Gaby, Fausti, por estar en mis mejores momentos y en los peores también, de forma particular dedico mi esfuerzo a mis queridos primos: Kevin, David, Anahy, Estefany, Alejandra y Lucas, recuerden siempre que los sueños se cumplen, con disciplina, perseverancia, esfuerzo y amor.

Finalmente, a ti, mi ángel del cielo, siempre te recordaré, este logro también es para ti. (Penn ar roc'h).

*“En las caídas, no pierdas el coraje, reanímate para una nueva confianza y una más profunda humildad” (Padre Pío).
Querida familia sin ustedes nada de esto sería posible. Dios los Bendiga Infinitamente.*

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme salud, sabiduría, entendimiento, por permitirme llegar hasta aquí y llenar mi vida de infinitas bendiciones. A la Virgen María por caminar de mi lado como verdadera madre.

A mi tutor Ph.D. Christian Larenas y a quienes forman parte del Proyecto Inédita Senecyt, por depositar su confianza en mí para realizar este trabajo, por todo el apoyo, sugerencias, comentarios y observaciones emitidas, estaré siempre agradecida.

*Al Ing. David Lombeida por ser parte clave y fundamental en la realización de este trabajo, por sus observaciones y correcciones en el cultivo de *Moina sp.*, gracias por la paciencia y amistad brindada. Al Ing. Ariel, A. por su ayuda en el mantenimiento de los organismos y por las recomendaciones en la investigación.*

De manera especial agradezco al equipo técnico del Laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana: MSc. Laura Huachi, Ing. Irene Yugsi, Ing. Natalia Saravia, quienes, con mucho cariño, colaboraron en la ejecución de los ensayos bioquímicos.

A mis queridos docentes de la facultad de Biotecnología de los Recursos Naturales de la Universidad Politécnica Salesiana, por transmitirme sus conocimientos para culminar esta etapa con éxito y obtener mi título de Ingeniería.

Al Doc. Patricio C, Ing. Santiago G. por su amistad, cariño, confianza y apoyo, pese a la distancia, estuvieron cuando más lo necesité, gracias por sus observaciones y recomendaciones en la redacción de este trabajo. A mi mejor amiga, Doc. Andrea S. gracias por motivarme siempre y estar presente en mi vida durante todos estos años.

A Estefy, mi querida ahijada, quien con mucho amor me alentó en momentos de alegría y tristeza durante la ejecución de este trabajo.

A Normita y a su hijo por el cariño y todo lo compartido, cada gesto de amor lo sabre recordar, fueron grandes maestros de vida.

A Sor Mary R., Sor Mary G. y al Padre Carlos D., por sus recomendaciones, y su apoyo espiritual. Finalmente, a los Heraldos del Evangelio por sus podcasts, aquellos días de desvelo, me transmitieron mucha paz.

Dios los bendiga, gracias por confiar en mí.

“El Señor es mi fuerza y mi escudo, mi corazón confiaba en él, y me socorrió, por eso mi corazón se alegra y le canto agradecida” Salmo 28: 7

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	5
2.1. Estado del Arte	5
2.2. Bases teóricas	6
2.2.1. <i>Zooplankton</i>	6
2.2.2. <i>Zooplankton de agua dulce</i>	6
2.2.2.1. Valor Nutricional	7
2.2.3. <i>Cladóceros</i>	8
2.2.3.1. Importancia de los cladóceros	9
2.2.4. <i>Alimento vivo para peces y su importancia</i>	9
2.2.5. <i>Genero Moina sp</i>	10
2.2.5.2. Distribución y habitad	10
2.2.5.3. Aspectos morfológicos.....	10
2.2.5.4. Reproducción	12
2.2.5.5. Alimentación.....	12
2.2.5.6. Valor nutricional	13
2.2.6. <i>Levadura</i>	13
2.2.6.1. Generalidades de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13
2.2.6.2. Taxonomía	14
2.2.6.3. Ciclo biológico.....	14
2.2.6.4. Valor nutricional	15
2.2.7. <i>Spirulina sp</i>	16
2.2.7.1. Generalidades de <i>Spirulina sp</i>	16
2.2.7.2. Taxonomía	16
2.2.7.3. Valor nutricional	17
2.2.8. <i>Descripción del pez cebra</i>	18
2.2.8.1. Taxonomía	18
2.2.8.2. Características morfológicas y anatómicas	18

2.2.8.3.	Desarrollo y reproducción	19
2.2.8.4.	Habitud y ecología.....	20
2.2.8.5.	Alimentación.....	21
2.2.8.6.	Identificación de enfermedades	22
2.2.9.	<i>Fundamentación legal</i>	22
2.2.9.1.	Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua ..	22
2.2.9.2.	Normas ISO	23
2.2.9.3.	Normativa general para promover y regular la producción orgánica, ecológica, biológica en el Ecuador	24
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1.	Lugar de ensayo	25
3.2.	Material experimental	25
3.3.	Condiciones experimentales	25
3.3.1	<i>Obtención de la cepa Moina sp</i>	25
3.3.2	<i>Identificación del microcrustáceo</i>	25
3.3.3	<i>Materiales para la identificación de Moina sp</i>	26
3.3.4	<i>Cultivo de Moina sp a nivel de laboratorio (Fase I)</i>	26
3.3.4.1	Unidades experimentales.....	27
3.3.4.2	Mantenimiento de las unidades experimentales	27
3.3.4.3	Alimentación de <i>Moina sp</i>	27
3.3.4.4	Evaluación de las diferentes dietas en <i>Moina sp</i>	28
3.3.5	<i>Análisis bioquímico de Moina sp (Fase II)</i>	29
3.3.5.1	Proceso de extracción de proteína	29
3.3.5.2	Cuantificación de proteínas por el método de Lowry	30
3.3.5.3	Preparación del reactivo	31
3.3.5.4	Protocolo para cuantificación de proteína	31
3.3.6	<i>Cultivo escalar de Moina sp</i>	33
3.3.7	<i>Cultivo de pez cebra (Danio rerio) (Fase III)</i>	33
3.3.7.1	Obtención y aclimatación de peces cebra (<i>Danio rerio</i>)	33
3.3.7.2	Instalación de las peceras.....	33

3.3.7.3	Condiciones del cultivo de pez cebra (<i>Danio rerio</i>).....	34
3.3.7.4	Alimentación.....	34
3.3.7.5	Longitud y peso de los peces.....	35
3.3.8	<i>Análisis estadístico</i>	37
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1	Descripción general de <i>Moina sp</i>	38
4.2	Crecimiento poblacional en los distintos tratamientos.....	38
4.3	Tasa instantánea de crecimiento (TCE)	42
4.4	Tiempo de duplicación	43
4.5	Determinación de proteína.....	44
4.6	Parámetros de crecimiento en peces.	47
4.6.1	<i>Determinación de peso</i>	48
4.6.2	<i>Determinación de longitud</i>	49
4.6.3.	<i>Relación entre la longitud y peso en el pez cebra</i>	51
5	CONCLUSIONES	57
6	RECOMENDACIONES	59
7	BIBLIOGRAFÍA	60
8	ANEXOS	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición bioquímica (%) de varias especies de zooplancton, usado en acuicultura.	8
Tabla 2. Especies de alimento vivo de mayor uso en acuicultura para alimentar (crustáceos y peces)	9
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Moina sp</i>	10
Tabla 4. Taxonomía de la Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
Tabla 5. Análisis proximal de la composición química de la levadura, del extracto y de la pared celular de la levadura	16
Tabla 6. Taxonomía de <i>Spirulina sp</i>	16
Tabla 7. Composición general de <i>Spirulina sp</i>	17
Tabla 8. Taxonomía de <i>Danio rerio</i>	18
Tabla 9. Etapas de embriología del pez cebrá (<i>Danio rerio</i>)	20
Tabla 10. Diferencias en el comportamiento y aspecto físico de un pez sano y enfermo.....	22
Tabla 11. Materiales para identificación de <i>Moina sp</i>	26
Tabla 12. Alimentación de <i>Moina sp</i>	28
Tabla 13. Reactivos, equipos y materiales para la cuantificación de proteínas	31
Tabla 14. Volúmenes de agua, solución patrón, muestra problema para determinación de proteínas.	32
Tabla 15. Alimentación cultivo de pez cebrá (<i>Danio rerio</i>) para cada tratamiento	34
Tabla 16. Cálculo del alimento comercial para pez cebrá (<i>Danio rerio</i>)	35
Tabla 17. Promedio (\pm D.S.) del número de organismos de <i>Moina sp</i> según la dieta experimental y día de muestreo.	39
Tabla 18. Número de organismos de <i>Moina sp</i> al finalizar el ensayo según el tratamiento ...	39
Tabla 19. Análisis de varianza del crecimiento poblacional de los tratamientos <i>Moina sp</i>	41
Tabla 20. Valores promedio de la tasa instantánea de crecimiento (\pm D.S.) de los tratamientos <i>Moina sp</i>	42

Tabla 21. Análisis de varianza de la tasa instantánea de crecimiento (TCE) de los tratamientos <i>Moina sp.</i>	42
Tabla 22. Valores promedio de la tasa instantánea de crecimiento (\pm D.S.) de los tratamientos <i>Moina sp.</i>	43
Tabla 23. Análisis de varianza de la tasa del tiempo de duplicación (TD) de los tratamientos <i>Moina sp.</i>	43
Tabla 24. Resumen de resultados para el cultivo <i>Moina sp.</i>	44
Tabla 25. Valor de la absorbancia para la curva estándar	44
Tabla 26. Valor promedio de la absorbancia en cada tratamiento del cultivo <i>Moina sp.</i>	45
Tabla 27. Análisis de varianza de absorbancia de proteínas	45
Tabla 28. Valor promedio de la concentración de proteínas presente en cada tratamiento	46
Tabla 29. Análisis de varianza de la cuantificación de proteínas.....	46
Tabla 30. Porcentaje de proteína para cada tratamiento.....	47
Tabla 31. Información general del ensayo en peces cebra (<i>Danio rerio</i>)	47
Tabla 32. Promedios (\pm D.S.) del peso alcanzado por los peces cebra (<i>Danio rerio</i>)	48
Tabla 33. Valores promedio del peso según el tratamiento al finalizar el ensayo	49
Tabla 34. Análisis de varianza del peso al finalizar el ensayo	49
Tabla 35. Promedios (\pm D.S.) de la longitud en cada tratamiento	49
Tabla 36. Valores promedio de longitud según el tratamiento al finalizar el ensayo	50
Tabla 37. Análisis de varianza de la longitud al terminar el ensayo	50
Tabla 38. Relación longitud y peso evaluados a los 30 días	51
Tabla 39. Relación longitud y peso evaluados a los 45 días	51
Tabla 40. Determinación del Factor K	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista detallada de <i>Moina sp</i>	11
Figura 2. Aspecto morfológico de <i>Danio rerio</i>	19
Figura 3. Representación de la fase larval y adulta del pez cebra.....	20
Figura 4. Diagrama de distribución de tratamientos y repeticiones del cultivo de <i>Moina sp</i>	26
Figura 5. Proceso de extracción de proteínas	30
Figura 6. Curva de tendencia promedio del crecimiento poblacional de <i>Moina sp</i> alimentada con <i>Spirulina</i>	40
Figura 7. Curva de tendencia promedio del crecimiento poblacional de <i>Moina sp</i> alimentada con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	40
Figura 8. Curva de tendencia promedio del crecimiento poblacional de <i>Moina sp</i> alimentada con <i>Spirulina</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	41
Figura 9. Curva estándar solución de <i>Daphnia</i> liofilizada	45
Figura 10. Concentración proteica de cada uno de los tratamientos.....	46
Figura 11. Peso promedio al finalizar el ensayo para cada tratamiento.....	48
Figura 12. Longitud promedio al finalizar el ensayo	50

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Tasa instantánea de crecimiento	28
Ecuación 2 Tiempo de duplicación	29
Ecuación 3 Concentración de proteína	32
Ecuación 4 Biomasa	34
Ecuación 5 Alimento por día.....	34
Ecuación 6 Ración.....	34
Ecuación 7 Tasa de alimentación	35
Ecuación 8 Relación entre el peso y longitud	36
Ecuación 9 Factor de condición de Fulton (K).....	36
Ecuación 10 Tasa de crecimiento específica (%)	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Convenio específico	81
Anexo 2 Obtención del microcrustáceo <i>Moina sp</i>	91
Anexo 3 Eclosión de <i>Moina sp</i>	92
Anexo 4 Aislamiento capilar de <i>Moina sp</i>	93
Anexo 5 Descripción de <i>Moina sp</i>	94
Anexo 6 Materiales para el cultivo de <i>Moina sp</i>	95
Anexo 7. Instalación del cultivo de <i>Moina sp</i>	95
Anexo 8 Alimento para cada tratamiento	96
Anexo 9 Conteo de organismos <i>Moina sp</i>	96
Anexo 10 Cultivo de <i>Moina sp</i>	97
Anexo 11 <i>Moina sp</i> alimentada con <i>Spirulina</i> en polvo.....	98
Anexo 12 <i>Moina sp</i> alimentada con levadura de panadería.....	99
Anexo 13 <i>Moina sp</i> alimentada con dieta combinada	100
Anexo 14 Embriones de <i>Moina sp</i>	101
Anexo 15 Reactivos para la cuantificación de proteína.....	102
Anexo 16 Soluciones Folin- Lowry	102
Anexo 17 Muestras para lectura en el espectrofotómetro.....	103
Anexo 18 Cultivo escalar <i>Moina sp</i>	103
Anexo 19 Cultivo escalar <i>Moina sp</i> dieta combinada.....	104
Anexo 20 Alimento vivo <i>Moina sp</i> y alimento comercial para el pez (<i>Danio rerio</i>).....	105
Anexo 21 Cultivo de <i>Danio rerio</i>	106
Anexo 22 Insumos para mantenimiento del cultivo (<i>Danio rerio</i>).....	107
Anexo 23 Parámetros a evaluar en el pez cebra (<i>Danio rerio</i>).....	107

Anexo 24	Incremento de longitud y peso del pez cebra (<i>Danio rerio</i>) con dieta combinada	108
Anexo 25	Generación de sedimento al fondo de las peceras del cultivo (<i>Danio rerio</i>)	108
Anexo 26	Parámetros de crecimiento del pez cebra (<i>Danio rerio</i>) para cada tratamiento	109
Anexo 27	Parámetros de crecimiento del pez cebra (<i>Danio rerio</i>) al finalizar el ensayo	110

RESUMEN

El presente trabajo busca aportar al conocimiento científico mediante el cultivo del microcrustáceo *Moina sp* como alternativa alimentaria para el cultivo en laboratorio de pez cebra (*Danio rerio*) en Quito-Ecuador, para cumplir con este propósito, se estableció un protocolo de cultivo, usando 9 recipientes de plástico de 2L de capacidad, cada frasco abastecido con 1,5L de agua acondicionada a una temperatura de (20 ± 2) y pH de 7, cada tratamiento fue alimentado con dietas diferentes: *Spirulina* en polvo a una concentración de 0.001 g/mL, *Saccharomyces cerevisiae* de 0.002 g/mL y una tercera dieta combinada a una proporción del 50%.

Establecidos los cultivos, se evidenció un mayor crecimiento poblacional en T3 (2417 ± 15.28), seguido por el T1 (1790 ± 36.06) y T2 (613 ± 6.43), de igual manera, la tasa de crecimiento poblacional y la tasa de duplicación mostró que el T3 fue el mejor, de acuerdo al análisis de varianza existió diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

Mediante el método de Lowry, se determinó el porcentaje de proteína, obteniendo un mayor porcentaje proteico en el tratamiento (T3) con un 68% de proteína, en comparación con el (T1) 50,3% y (T2) 11% , posteriormente, se probó tres dietas diferentes en peces cebra (*Danio rerio*) en etapa juvenil, al suministrar la dieta combinada (T3) los resultados fueron positivos en el desarrollo del pez cebra, con una longitud promedio de $(3.55\text{cm}\pm 0.12)$ y peso $(0,40\text{g}\pm 0.03)$, de acuerdo con el análisis de varianza no existió diferencia significativa entre el T1 y T2 , por otro lado, la ganancia máxima del peso y longitud se registró en el T3 a los 45 días, en el T1 y T2 la ganancia del peso son iguales a los 30 días, en el T1 a los 30 y 45 días la ganancia de longitud es mayor al T2.

Se concluye que, el cultivo de *Moina sp* si puede ser utilizado como alimento en la nutrición del pez cebra (*Danio rerio*), por su aporte nutricional y por la respuesta favorable en los peces, además, al usar una dieta comercial enriquecida con *Moina sp* mejora los índices de crecimiento en el pez.

Palabras clave: Alimento vivo, zooplancton, partenogénesis, *Spirulina*, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

The present work seeks to contribute to scientific knowledge through the cultivation of the microcrustacean *Moina sp* as a food alternative for the laboratory culture of zebrafish (*Danio rerio*) in Quito-Ecuador, to fulfill this purpose, a culture protocol will be established, using 9 plastic containers of 2L capacity, each bottle supplied with 1.5L of conditioned water at a temperature of (20 ± 2) and pH of 7, each treatment was fed with different diets: *Spirulina* powder at a concentration of 0.001 g/ mL, *Saccharomyces cerevisiae* of 0.002 g/mL and a third combined diet at a ratio of 50%.

Once the cultures were established, a greater population growth was evidenced in T3 (2417 ± 15.28), followed by T1 (1790 ± 36.06) and T2 (613 ± 6.43), in the same way, the population growth rate and the doubling rate shown that T3 was the best, according to the analysis of variance there was a significant difference ($p < 0.05$) between the treatments.

Using the Lowry method, the protein percentage was extended, obtaining a higher protein percentage in the treatment (T3) with 68% protein, compared to (T1) 60% and (T2) 14%, subsequently, three different diets were tested in zebrafish (*Danio rerio*) in the juvenile stage, when supplying the combined diet (T3) the results were positive in the development of zebrafish, with an average length of $(3.55\text{cm} \pm 0.12)$ and weight ($0.40\text{g} \pm 0.03$), according to the analysis of variance, there was no significant difference between T1 and T2, on the other hand, the maximum weight and length gain was dissolved in T3 at 45 days, in T1 and T2 the weight gain is the same at 30 days, in T1 at 30 and 45 days the length gain is greater than T2.

It is concluded that the culture of *Moina sp* can be used as food for the nutrition of zebrafish, (*Danio rerio*), due to its nutritional contribution and the favorable response in the fish, in addition, using a commercial diet enriched with *Moina sp* improves the growth rates of the fish.

Keywords: Live food, zooplankton, parthenogenesis, *Spirulina*, *Saccharomyces cerevisiae*

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el informe de la FAO, (2020) un elevado porcentaje de los recursos pesqueros marinos se encuentran en estado de deterioro o sobreexplotación, el porcentaje de las poblaciones explotadas aumentó del 10% en 1974 al 34,2% en el año 2017, frente a esto la acuicultura ha sido una opción viable, al proveer medios seguros para la producción intensiva de organismos acuáticos en condiciones controladas (Bondad et al., 2012).

La acuicultura Latinoamericana ha tenido un gran alcance y evolución en los últimos años, sin embargo, actualmente atraviesa ciertos obstáculos ampliamente relacionados con la alimentación y nutrición de peces, siendo uno de los principales problemas, la ausencia de alimento propicio y constante en las primeras etapas de vida de los peces en cultivo, lo que ha conllevado a tener una alta tasa de mortalidad en peces (Castro Mejía et al., 2003; Toledo Pérez et al., 2019; Wurmman G, 2019)

Una correcta salud y desarrollo en los peces se alcanza con una alimentación balanceada, este aspecto influye en las funciones fisiológicas, inmunológicas, en el crecimiento y reproducción del animal, la composición de la dieta puede llegar afectar la estructura intestinal y su microbiota, ocasionando enfermedades y daños en el sistema digestivo del pez , por ello, es necesario tomar en cuenta la calidad de los ingredientes, macronutrientes, vitaminas, minerales y aditivos de la formulación del mismo (Encarnaçao, 2016; Scholar et al., 2019).

Algunos alimentos comerciales no contribuyen con suficientes nutrientes para el desarrollo de los peces; el desarrollo de las larvas se ve retrasado, la talla se alcanza en un mayor tiempo y la coloración corporal disminuye (Luna Figueroa et al., 2019), este estudio, coincide con Wizilla et al., (2022), quien menciona que las dietas artificiales no llegan a cumplir totalmente con los requisitos de ciertas especies, llegando a tener un crecimiento más lento y tasas de

supervivencia más bajas, debido a la escases de nutrientes presente en las dietas los organismos tienden a tener un sistema digestivo poco desarrollado, estudios de Ronge, (2018) reportan que el uso de micro-pellet, rotíferos y *Artemia* generan inconvenientes, no solo por la falta de calidad nutricional, también, por la cantidad de residuos libres de materia orgánica que se genera, condiciones propicias para el desarrollo de bacterias oportunistas y patógenos.

De acuerdo con Luthada Raswiswi et al., (2021), la harina de pescado ha sido ampliamente utilizada como una fuente esencial de proteína en la dieta de peces, no obstante, la calidad de este alimento presenta grandes riesgos , por ello , actualmente se busca remplazar su uso por otras fuentes de proteína animal que demuestren efectos positivos en la tasa de crecimiento, peso y tasa de supervivencia de diferentes especies acuáticas, por otra parte, Abo Taleb et al., (2021) menciona que el uso de zooplancton en la dieta de los peces es muy requerido debido al aporte proteico y la abundancia en nutrientes esenciales.

Al ser la alimentación una actividad crucial durante toda la vida de un organismo, es fundamental encontrar nuevas alternativas de producción de alimento, utilizando nuevas tecnologías de cultivo y especies.

El microcrustáceo *Moina sp* es ampliamente utilizado para alimentar peces de agua dulce por sus grandes beneficios (Harvey et al., 2017), sin embargo, en Ecuador, es escaso el estudio de este microcrustáceo como alternativa alimentaria para el pez cebra (*Danio rerio*) y otras especies. El pez cebra es una de las especies más comercializadas a nivel mundial, en las últimas décadas ha sido ampliamente utilizado como modelo biológico especialmente en el campo de la biomedicina y la acuicultura (Bambino & Chu, 2017).

Por su fácil manejo, fecundidad, tamaño y rápido desarrollo, es una gran alternativa en comparación con otros modelos biológicos, gracias a este modelo se han realizado estudios de

toxicología, genética, regeneración de tejidos, descubrimiento de fármacos y conocimiento de biología humana, actualmente se conoce que el 70% de los genes humanos tienen un homólogo de esta especie, y los genes asociados a enfermedades humanas son de un 84% (Cassar et al., 2020; Marques et al., 2019; Metz et al., 2014).

A medida que aumenta el número de investigaciones usando al pez cebra como modelo biológico, existe la necesidad de monitorizar con frecuencia, la salud y el desarrollo del animal, por ello, es de suma importancia que el alimento, la calidad de agua, la fuente de donde se obtiene a los animales entre otros factores sean adecuadas, de lo contrario puede existir consecuencias significativas en los resultados de las investigaciones (Collymore et al., 2016).

Basado en lo antes mencionado, se precisa buscar nuevas fuentes de alimentación indispensables para un buen desarrollo y salud en los peces, que cumpla los requerimientos nutricionales de la especie, que se pueda adquirir a un costo accesible y en el menor tiempo posible, favoreciendo a la acuicultura y de forma particular al cultivo en laboratorio de peces cebra (*Danio rerio*) usado para fines biomédicos en diferentes laboratorios universitarios.

En tal virtud, el cultivo de *Moina sp* sería una gran opción frente a este problema debido a su alta tasa de reproducción, la respuesta de alimentación en las larvas de peces, su perfil nutricional, principalmente sus enzimas digestivas que actúan como exoenzimas en el intestino de las larvas de peces, y su gran tolerancia a la temperatura (Wizilla et al., 2022; Grainger, 2016).

Para llevar a cabo esta investigación, el cultivo de *Moina sp* y la evaluación de crecimiento en peces cebra (*Danio rerio*), se realizó en un bioterio domestico instalado al sur de Quito, respecto a, los análisis bioquímicos se realizaron en el laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana Quito.

Dada la gran importancia del microcrustáceo *Moina sp* en la acuicultura y al ser un tema de gran acogida científica y económica en el país; El objetivo general de esta investigación fue cultivar el microcrustáceo *Moina sp* como alternativa alimentaria para el cultivo en laboratorio de pez cebra (*Danio rerio*) en Quito-Ecuador.

Los objetivos específicos fueron: Implementar un protocolo de cultivo del microcrustáceo *Moina sp* en condiciones ambientales de la ciudad de Quito; Evaluar el efecto de tres dietas balanceadas en la producción de biomasa del microcrustáceo *Moina sp*; Evaluar los parámetros típicos de crecimiento del pez cebra (*Danio rerio*) alimentados con el microcrustáceo *Moina sp*.

Finalmente, en la presente investigación se pretende responder la siguiente pregunta: ¿El cultivo de *Moina sp* cumple con los requerimientos necesarios como alternativa alimentaria para el cultivo en laboratorio de pez cebra (*Danio rerio*)?

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. Estado del Arte

Según López et al. (2018) en Ecuador se han estimado 34 especies de cladóceros en aguas dulces pertenecientes a 7 familias y 23 géneros, el número de especies identificadas es menor en comparación a otros países de América debido a la falta de información, Ramos y Napa (2018) mencionan que en el pacífico Ecuatorial los cladóceros conforman el 6.38%, mientras que Etilé et al., (2020) menciona que en Ecuador y Galápagos la población de cladóceros es de 44% y 35% respectivamente, los trabajos mencionados tienen un enfoque netamente ecológico y taxonómico en aguas Ecuatorianas.

La mayoría de los estudios de cladóceros se han centrado en la familia Daphniidae, especialmente en varias especies del género *Daphnia*, no obstante, la familia Moinidae tiene alrededor de 29 especies en todo el mundo y la mayoría de especies de *Moina* habitan en agua dulce, estanques y lagos (Nandini & Sarma, 2019).

Estudios de Kabery et al., (2019) mencionan que el cultivo del cladóceros *Moina macrocopa* muestra una respuesta favorable al usar una concentración de 1000 ppm de diferentes desechos de alimentos y estiércol animal, por otra parte, Kamrunnahar et al., (2019) mencionan que el cultivo del cladóceros *Moina macrocopa* como alimento vivo para peces tiene las condiciones adecuadas para remplazar al género de crustáceo *Artemia*, dado que los resultados de la investigación revelaron una mayor supervivencia y tasa de crecimiento en larvas de dorada.

En estudios de Romero et al., (2010) utilizaron *Chlorella spp* cultivada con riles orgánicos de la industria pesquera teniendo como resultado un buen desarrollo del cladóceros *Moina sp*, con una densidad máxima a los seis y siete días de cultivo. Prieto et al. (2006) realizó un cultivo experimental del cladóceros *Moina sp* alimentado con *Ankistrodesmus sp* y *Saccharomyces*

cereviseae presentando una mayor tasa de crecimiento al ser alimentados con una dieta combinada (*Ankistrodesmus sp* más *Saccharomyces cereviseae*).

Estudios de Iswara et al., (2018) mostraron resultados favorables al usar *Moina sp* en polvo, pudiendo ser un gran sustituto de *Artemia sp*, los resultados de este estudio reportaron un aumento en el crecimiento de la longitud de las larvas, a pesar de no existir diferencia significativa en el peso, los niveles de histidina, leucina y lisina aumentaron.

Con respecto al pez cebra es una especie común en acuarios ornamentales del Ecuador, así como también, es un ejemplar usado en el área de genética, habitualmente alimentado por su disponibilidad y perfil nutricional con: *Artemia salina*, *Daphnia pulex*, *Brachionus plicatilis*, y *Culex pipiens*, *Tubifex tubifex*, (Olascoaga & Luna, 2005; Prado et al., 2015).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Zooplancton

El término zooplancton proveniente del griego *zoon* y *planktos*, cuyo significado es animal errante, son organismos heterótrofos que habitan en aguas marinas y dulces, conforme a su alimentación se pueden clasificar en: herbívoros, carnívoros u omnívoros en su mayoría tienen forma microscópica, multicelulares y protozoarios (Cardona et al., 2021).

2.2.2. Zooplancton de agua dulce

El zooplancton de agua dulce es un grupo de animales de un tamaño microscópico muy diverso y abundante, que viven en cuerpos de agua en todo el mundo (Slotwinski et al., 2014).

Constituyen un eslabón importante en la transferencia de energía a nivel secundario en las redes alimentarias acuáticas entre autótrofos y heterótrofos, en pantanos, lagos y embalses, además, la mayoría de los peces dependen del zooplancton para alimentarse en sus fases larvarias o

durante toda su vida, el movimiento innato de esos organismos impulsa el comportamiento predador de las larvas (Manickam et al., 2015; Prieto & Atencio, 2008).

Los organismos zooplanctónicos de agua dulce están constituidos por tres grupos principales: rotíferos, cladóceros y copépodos, estos organismos establecen la base de todo lo que vive en el agua, tienen la propiedad de ser bioindicadores, gracias a estos organismos se ha logrado determinar la concentración de nutrientes, variación de temperatura, mineralización de los ambientes acuáticos (Gutiérrez, 2017; Gutiérrez, 2014; José de Paggi & Paggi, 2015)

Cuando el zooplancton es alimentado por fitoplancton la transformación del material vegetal en tejido animal sucede con facilidad, evitando afloramientos, sin duda alguna, son una excelente fuente de alimento que permite una mejor supervivencia y desarrollo en el crecimiento de los peces, moluscos, crustáceos (Lagos et al., 2014).

2.2.2.1. Valor Nutricional

El zooplancton contiene una fuente de proteínas, aminoácidos, lípidos, ácidos grasos, vitaminas y enzimas, esta composición es fundamental para los peces, siendo considerado el alimento que posee la mayoría de las sustancias nutritivas y que sirve como base para las dietas experimentales (Mitra et al., 2007; Prieto, 2006). Proporcionar una dieta óptima en las primeras etapas larvales, en cantidad apropiada de aminoácidos y lípidos, favorece a la supervivencia, crecimiento y desarrollo de los peces (Rocha et al., 2017).

Tabla 1.

Composición bioquímica (%) de varias especies de zooplancton, usado en acuicultura.

Parámetros	<i>Copéodos</i>	<i>Artemia</i>	<i>Rotíferos</i>	<i>Camarones hada</i>	<i>Moina</i>	<i>Daphnia</i>
Proteína	63.2	53.8	51.3	49.93	66.33	39.68
Lípidos	8.8	18.1	12	15.03	10.82	24.99
Carbohidratos	20.4	20	13.1	8.86	19.8.3	-
Ceniza	7.6	8.1	6.7	11.6	3.02	28.15

Nota. Descripción nutricional de organismos vivos

Fuente: Citado por Radhakrishnan et al., (2019).

2.2.3. Cladóceros

Los cladóceros son un grupo muy representativo del zooplancton debido a su alta diversidad de especies (Castilho et al., 2010), principalmente son de agua dulce, su tamaño varía entre 0,2 y 6 mm de longitud, en el caso de *Leptodora kindtii* puede llegar a los 18 mm, habitan en zonas pelágicas, litorales y bentónicas se reconoce cuatro ordenes Anomopoda, Ctenopoda, Onychopoda y Haplopoda (Forró et al., 2008).

Los géneros más estudiados son *Daphnia* y *Moina*, siendo de gran importancia en piscicultura por su valor nutritivo y facilidad de producción (Conde Pouna et al., 2004; Ramírez -Merlano et al., 2013).

El cuerpo de los cladóceros se divide en cabeza, tórax, abdomen y postabdomen, su estructura es rígida, la cabeza es compacta, sus ojos son prominentes, y presentan antenas grandes, por lo general las hembras son más grandes que los machos, estos microcrustáceos nadan de manera muy rápida moviendo sus antenas y otros apéndices (Santhanam et al., 2018; Suthers & Rissik, 2008)

2.2.3.1. Importancia de los cladóceros

Los cladóceros son utilizados como bioindicadores para estimar los niveles de toxicidad de pesticidas y otros contaminantes ambientales, además, son una fuente principal de alimento natural para los peces especialmente en estado alevín (Chakravarthy & Sridhara, 2016). De este modo, se puede decir que los cladóceros representan un lugar sumamente importante en las redes alimentarias acuáticas, responden rápidamente a los cambios ambientales, su ciclo de vida es partenogénesis cíclica y producción de huevos en reposo (Bekker et al., 2016; Wojewódka et al., 2016).

2.2.4. Alimento vivo para peces y su importancia

Es esencial para el crecimiento de los peces, ya que los procesos de ingestión y digestión son más sencillos, por sus altos componentes nutricionales, tales como, proteínas, minerales, vitaminas, ácidos grasos, aminoácidos y carbohidratos se les denomina como cápsulas vivas de nutrición (Kandathil Radhakrishnan et al., 2020).

Tabla 2.

Especies de alimento vivo de mayor uso en acuicultura para alimentar (crustáceos y peces)

GRUPO	ESPECIE
Rotífera	<i>Brachionus plicatilis, Brachionus calyciflorus, Brachionus urceolaris, Brachionus rubens, Brachionus falcatus</i>
Copépoda	<i>Tigriopus japonicus, Oithona sp, Acartia sp, Centropages sp, Tisbe sp</i>
Branchiopoda	<i>Artemia sp</i>
Cladóceros	<i>Daphnia sp y Moina sp</i>

Nota: Dentro del grupo de los cladóceros los organismos con mayor uso en acuicultura son *Daphnia sp* y *Moina sp*.

Tomado de Prieto, (2006), modificado por (La autora, 2022).

2.2.5. Genero *Moina* sp

2.2.5.1 Taxonomía

De acuerdo con la base de datos Taxonómica el género *Moina* presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Tabla 3.

Clasificación taxonómica de *Moina* sp

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Branchiopoda
Orden:	Diplostraca
Suborden:	Cladóceras
Familia:	Moinidae
Genero:	<i>Moina</i>
Especie:	<i>Moina</i> sp Baird, 1850

Nota. Tomado de Taxonómica y Animal Diversity Web

Fuente: Citado por Myers, P. et al., (2023)

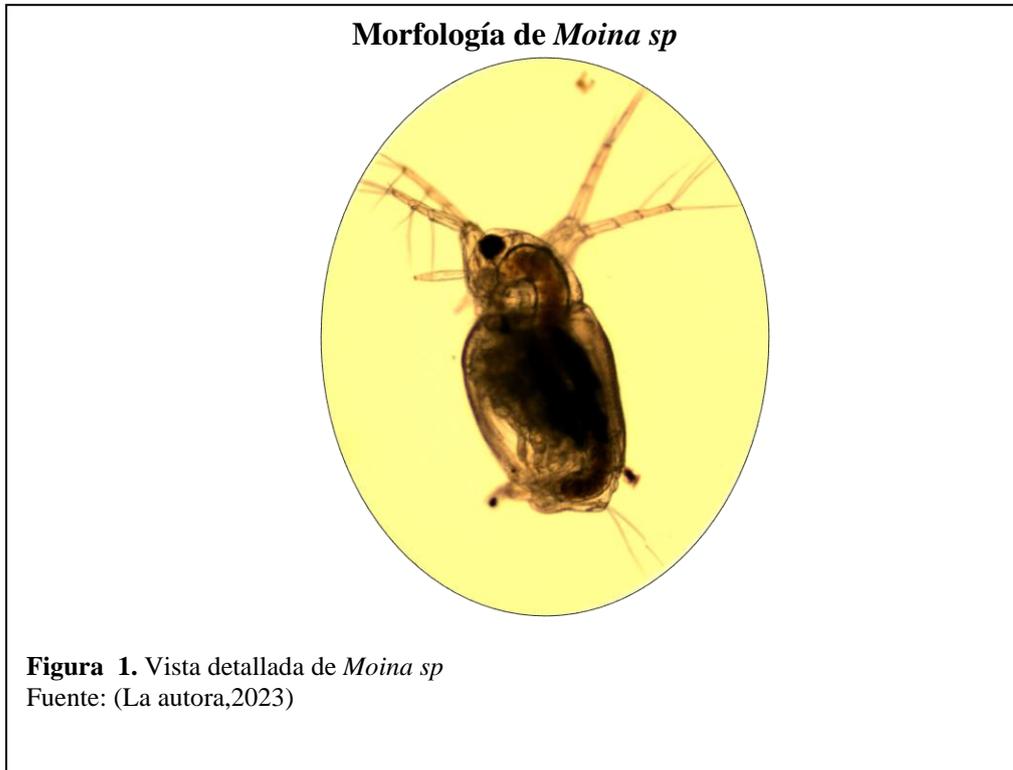
2.2.5.2. Distribución y habitat

El género *Moina* se encuentra entre los cladóceros más numerosos en lagos naturales, estanques de riego y agricultura, especialmente en los campos de arroz, ríos, charcos y acuarios (Makino et al., 2019).

2.2.5.3. Aspectos morfológicos

Son crustáceos pertenecientes a la familia Moinidae, conocidas como pulgas de agua, todos los *Moina* son cladóceros de tamaño pequeño o mediano, se caracterizan por medir entre 0.8 y 0.9 mm en estado adulto, y 0.5 mm los nauplios, en comparación con los nauplios de *Artemia*

(*Brachionus plicatilis*) y (*Daphnia*) son más pequeños, por lo cual, es beneficioso para la mayoría de las larvas de peces (Jiménez et al., 2003) .



El género *Moina* suele presentar un ojo fusionado y grande, sin ocelo, cabeza hundida, dos pares de antenas, la segunda antena presenta un gran basípodo, en el extremo discal presenta una tercera seta sensorial, un endópodo de tres segmentos lleva una o más setas largas nadadoras en su extremo distal, y un exópodo de cuatro segmentos que contiene largas setas nadadoras, también presenta una fila interior de dientes cortos, cuya presunta función es limpiar el detritus de la superficie del caparazón, los machos son siempre más pequeños que las hembras (Pascual et al., 2014).

2.2.5.4. Reproducción

Los crustáceos se atraen por medio de feromonas, su reproducción puede ser sexual o asexual, en condiciones adecuadas, el crecimiento de la población es asexual (partenogenética) es decir no hay fertilización, por tanto, se produce crías hembras siendo esta forma de reproducción la más rápida, por otra parte, en caso de existir reproducción sexual se produce descendencia masculina, además, los embriones se mantienen en una estructura similar a la placenta, denominada “efipia”, que posiblemente sirve para nutrir el desarrollo embrionario en la bolsa de la cría, esto permite que una hembra produzca varios huevos genéticamente diversos durante la fase sexual de reproducción, si la hembra cambia a reproducción partenogenética, este cambio es irreversible (Góngora-Landeros et al., 2010; Petrusek, 2002; Rodmongkoldee et al., 2019).

En la madurez se puede observar características de dimorfismo sexual, los machos tienen pinzas largas que se utilizan para sujetar a la hembra durante la cópula, además, las hembras sexualmente maduras llevan sólo dos huevos encerrados en un ephipium que es parte del exoesqueleto dorsal (Lavens & Sorgeloos, 1996).

2.2.5.5. Alimentación

El género *Moina* se alimenta de diversos grupos fitoplancton, bacterias, desechos, en presencia de adecuadas cantidades se obtiene poblaciones con más celeridad, también, han sido ampliamente cultivados utilizando *Chlorella* y *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus quadricauda* y *Ankistrodesmus gracilis*, *Ankistrodesmus* y *Saccharomyces cerevisiae*, micro algas y levadura denominada Z-plus (Rodríguez et al., 2016).

2.2.5.6. Valor nutricional

Según Rottmann, (2021) el valor nutricional del cladóceros *Moina sp* va depender de la edad y el tipo de alimentación que recibe, el contenido proteico promedia el 50% del peso seco , el perfil nutricional en base seca es de 69.7% y base húmeda 3.91%, los valores de grasa se encuentran entre el 20% - 27% sobre la base del peso seco para las hembras adultas y del 4% - 6% para los juveniles (Arrieta & González, 2021). De acuerdo con Adi Nugroho et al., (2021) *Moina macrocopa* y *Moina micrura* contienen aminoácidos esenciales y no esenciales y un 52,4% de proteína , *Moina sp* ha sido considerado un alimento vivo potencial, por su disponibilidad en la mayoría de fuente de agua natural (Rasdi et al., 2021).

2.2.6. Levadura

2.2.6.1. Generalidades de *Saccharomyces cerevisiae*

De acuerdo con Oca et al., (2016) , Walker y Stewart, (2016) *Saccharomyces cerevisiae* es un organismo unicelular que se divide asexualmente por gemación o fisión, su forma es ovalada, el diametro oscila entre 5 a 10 um , la célula es de tipo eucarita, presenta pared celular, núcleo, mitocondrias, retículo endoplásmico, aparato de Golgi, vacuolas, micro cuerpos y vesículas secretoras , su ADN genómico nuclear presenta 12068 kilo bases (kb) organizado en 16 cromosomas (Parapouli et al., 2020).

La pared celular es una estructura rígida, resistente y elástica, su grosor varía entre 100 a 400 nm, tiene un rol importante en la aglutinación celular, en la esporulación celular y en la mediación del contacto entre la levadura patógena y el organismo huésped (Kopecká et al., 2012) , el citosol de se encuentra rodeado por el espacio periplásmico y la pared celular (Feldmann, 2012).

2.2.6.2. Taxonomía

Tabla 4.

Taxonomía de la Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Reino:	Fungi
Filo:	Ascomycota
Clase:	Saccharomycetes
Orden:	Saccharomycetales
Familia:	Saccharomycetaceae
Genero:	<i>Saccharomyces</i>
Especie:	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hansen, 1883

Nota: Tomado de National Center for Biotechnology Information

Fuente: (NCBI, 2023)

2.2.6.3. Ciclo biológico

El proceso de reproducción de *Saccharomyces cerevisiae* puede ser sexual o asexual, de forma diploide y haploide, las células diploides tienen forma elipsoidal de 5X6 μm mientras que las células haploides son esféricas con diámetros de aproximadamente 4 μm (Kovacevie, 2015). Este paso en el ciclo de vida se da mediante división celular meiótica donde una célula diploide pasa por una fase (S) premeiótica y dos divisiones meióticas de la cual se obtiene cuatro células haploides o por el apareamiento de dos células haploides α y a que forman un cigoto diploide (Oca et al., 2016).

Durante el ciclo celular la levadura pasa por las fases G1, S, G2, y M, en la fase G1 las células haploides pueden aparearse con células asociadas del sexo opuesto o formar células estacionarias, las células diploides pueden sufrir meiosis o formar células estacionarias pudiendo estas transformarse en pseudohifas y envejecer (Oca et al., 2016).

Durante la fase G1 la célula aumenta su tamaño al máximo, en la fase G2 se mantiene el crecimiento de la yema, la preparación de la maquinaria para la entrada a la mitosis y actividad de diversos mecanismos de reparación del ADN, seguida de esta fase se encuentra la fase S en donde el ADN cromosómico se replica y finalmente en la fase M se da inicio el proceso de mitosis (Kovacevie, 2015; Láinez, 2017).

2.2.6.4. Valor nutricional

Saccharomyces cerevisiae ha sido utilizada por sus propiedades como alimento funcional y suplemento (Farid et al., 2019) , en la acuicultura ha sido usada por sus efectos estimulantes de la salud en varias especies de peces (Agboola et al., 2021).

Kopecká et al., (2012) menciona que las células contienen compuestos nitrogenados 45–60 %, carbohidratos 15–37 %, lípidos 2–12 %, compuestos minerales 6–12 %, factores de crecimiento y algunas vitaminas , estudios de Agboola et al., (2021) menciona que el contenido de proteína cruda de la levadura es de 40-55%, la pared celular contiene principalmente entre un 85 y 90 % de polisacáridos y un 10 a 15 % de proteína, la estructura de la pared celular contiene de 30-60% de glucanos, 25-50% de mananos y 5-10% de quitina, por otra parte, según estudios de Perdomo et al., (2004) el contenido de proteína cruda de la levadura es del 52.3 % , del extracto de levadura es de 70,8% y en la pared celular se obtuvo un porcentaje del 21.8.

Tabla 5.

Análisis proximal de la composición química de la levadura, del extracto y de la pared celular de la levadura

Producto	Humedad	N x 6,25	Grasa cruda	Fibra cruda	Cenizas totales
Levadura	5.3	52.3	0.06	1.44	7.41
Extracto de levadura	5.5	70.8	0.17	0.67	12.07
Pared celular de levadura	10.7	21.8	0.93	1.52	1.43

Nota. Tomado de Alimento vivo y su importancia en acuicultura.

Fuente: (Perdomo et al., 2004)

2.2.7. *Spirulina sp*

2.2.7.1. Generalidades de *Spirulina*

El nombre de *spirulina* se deriva del latín espiral o hélix, es una cianobacteria simbiótica, multicelular y filamentosa no diferenciada, de color verde azulado, su principal pigmento es la ficocianina y la clorofila, presenta tricomas cuya longitud es de 50 a 500 μm y un ancho de 3 a 4 μm , crece habitualmente en medios alcalinos y cálidos, es cultivada para consumo humano por su contenido nutricional (Guillen et al., 2020; Gutiérrez et al., 2015; Wan et al., 2021).

2.2.7.2. Taxonomía

Tabla 6.

Taxonomía de *Spirulina sp*

Reino	Bacterias
Filo	Cianobacterias
Clase	Cianofíceas
Orden	Nostocales
Familia	Oscillatoriaceae
Genero	<i>Spirulina</i> Turpin Ex Gomont, 1892

Nota: Información taxonómica republicada de *AlgaeBase*

Fuente: (Guiry & Guiry, 2023)

2.2.7.3. Valor nutricional

Actualmente la espirulina es considerada como un superalimento debido a su gran contenido de aminoácidos, proteínas, lípidos, vitaminas, ácidos grasos, minerales y carbohidratos, es denominada como el alimento del futuro, ya que tiene el 96% de nutrientes útiles para el hombre, además, presenta un elevado porcentaje de hierro, hasta diez veces más de la composición que diversos alimentos vegetales (Malpartida Y. et al., 2022).

Según estudios de Hosseini et al., (2013) y Brito et al., (2020) mencionan que la composición del peso celular seco de esta microalga consiste en proteínas (55-70%) y lípidos (5-6%), por otra parte, la composición de espirulina comercial en polvo según la FAO, (2008) es de 60% proteínas, 20% carbohidratos, 5% grasas, 7% minerales, 3-6% de humedad.

Napolitano et al., (2022) menciona que varios estudios se han centrado en el remplazo de la harina de pescado por fuentes alternativas de alta calidad como lo es la espirulina debido a su alto valor nutricional, siendo un gran aditivo y un alimento complementario en la alimentación animal, mejorando el crecimiento y respuesta fisiológica a las enfermedades en varias especies de peces (Ramírez et al., 2022; Suyama et al., 2020), comercialmente, la espirulina se halla disponible en forma de polvo, tableta, cápsula (Cardenas et al., 2010).

Tabla 7.

Composición general de *Spirulina sp*

Proteína	60%
Carbohidratos	20%
Lípidos	5%
Minerales	7%

Nota. Datos tomados de una revisión sobre cultivo, producción y uso de espirulina como alimento para humanos y piensos para animales domésticos y peces.

Fuente: (FAO, 2008)

2.2.8. Descripción del pez cebra

El pez cebra pertenece a la familia Cyprinidae, usado por primera vez como modelo biológico en 1970 por ser más simple que un ratón y fácil de manipular genéticamente, tiene muchas similitudes fisiológicas y genéticas con los humanos, el cerebro, el tracto digestivo, la musculatura y el sistema inmunológico innato (Rahman Khan & Sulaiman Alhewairini, 2019).

2.2.8.1. Taxonomía

Tabla 8.

Taxonomía de *Danio rerio*

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Actinopteri
Orden	Cipriniformes
Familia	Cyprinidae
Genero	Danio
Especie	<i>Danio reiro</i> Hamilton, 1822

Nota: Datos tomado del Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI: txid7955 y de Animal Diversity Web

Fuente: (Markowski, 2011; NCBI, 1822)

2.2.8.2. Características morfológicas y anatómicas

El pez cebra o zebrafish es un vertebrado que habita en agua dulce, mide entre 4,5 a 5 cm de longitud en estado adulto, alcanzan la madurez sexual a los 3 meses, se reproducen fácilmente, pudiendo las hembras producir hasta 400 ovocitos (Espinosa, 2016).

Los machos son delgados tienen forma de torpedo, rayas longitudinales de color negro y usualmente dorado en el vientre y aletas, las hembras por lo contrario, son más largas tienen abdomen prominente, el color dorado en las aletas es poco visible (Wixon, 2000).

La cabeza es ovalada y pequeña, los ojos tienen posición central y pupilas circulares, la boca apunta hacia arriba, debido a que la mandíbula inferior es más larga que la mandíbula superior, usan dientes faríngeos para succionar el alimento y triturarlo, además, tienen dos pares de barbillas, la columna vertebral es delgada, los huesos no tienen cavidad medular, posee cuatro franjas de color azul metálico y tres doradas que van desde la cabeza hasta la aleta caudal, las aletas dorsales poseen una pigmentación amarilla con blanco (Menke et al., 2011; Praveenraj et al., 2017; Vega, 2015).

Aspecto Morfológico de (*Danio rerio*)

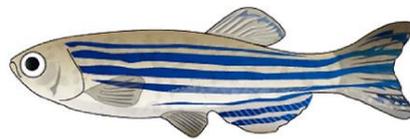


Figura 2. El pez cebra es un modelo muy utilizado con fines investigativos en el área de salud debido a su fácil manipulación y mantenimiento, además, permite desarrollar múltiples procedimientos moleculares y celulares.

Imagen tomada de Gacha Garay et al., (2017).

2.2.8.3. Desarrollo y reproducción

El desarrollo embrionario es ovovivíparo, su eclosión es dentro de las 72 horas, dentro de las primeras ocho horas se puede observar las células embrionarias dividirse, el corazón y los glóbulos rojos son visibles a las veinticuatro horas, los embriones están recubiertos por una membrana transparente, semipermeable, denominada (el corion), lo cual hace que sea sencilla su manipulación (Castillo Salas et al., 2022; Dawind, 2004; Wixon, 2000).

Las hembras depositan más de 200 embriones por semana, una vez eclosionados los embriones, al quinto día se han convertido en larvas, en un mes son juveniles y al tercer mes pueden iniciar su reproducción de manera continua, su ciclo de vida es de dos a tres años y medio (Olicos et al., 2012).

Las primeras veinticuatro horas de vida son importante debido a las modificaciones en las señalizaciones genéticas que pueden llevarse a cabo, de las que depende la morfogénesis neuronal y craneal del pez (Téllez Mora et al., 2020).

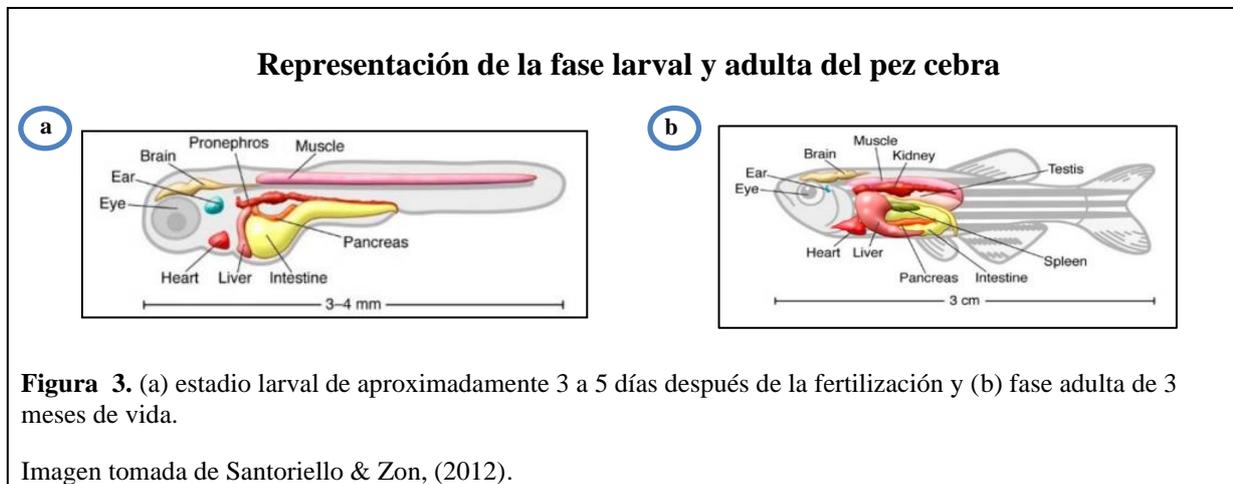
Tabla 9.

Etapas de embriología del pez cebra (*Danio rerio*)

ETAPA	DESCRIPCIÓN
Segmentación:	Caracterizada por diversos procesos de mitosis hasta la formación del blastocito.
Gastrulación:	El embrión se diferencia en 3 capas germinales: ectodermo (capa externa, de él se desarrolla el sistema nervioso), mesodermo y endodermo.
Neurulación:	Las crestas neurales se unen para desarrollar el tubo neural esbozo de la médula espinal y el encéfalo.
Organogénesis:	Proceso por el cual el ectodermo, mesodermo y endodermo se desarrollan en los diferentes órganos y estructuras del organismo.

Nota: En la tabla se observa las diversas etapas embrionarias del pez cebra

Elaborado por: (La autora,2022), modificado de Téllez Mora et al., (2020).



2.2.8.4. Hábitad y ecología

Habita en fuentes de agua dulce , es un pez tropical, nativo del río Ganges y sus afluentes en el norte de la India, viven en arroyos, estanques, zanjas, para su reproducción es importante el

nivel de temperatura y una adecuada alimentación , por otro lado, el habitad en el laboratorio requiere de niveles apropiados de nutrientes, tiene una gran tolerancia ambiental en cautiverio, la temperatura puede variar entre 12.3 °C y 38.6°, la conductividad de 10 µS a 271 µS y el pH entre 5.9 y 9.8 , para fines investigativos se mantiene en acuarios sin estructuras para facilitar la limpieza y observación (Teame et al., 2019; Vishwanath, 2010).

2.2.8.5. Alimentación

Se alimenta de crustáceos planctónicos, bentónicos, larvas de insectos, gusanos, la cantidad requerida de alimento diario para mantener el peso de esta especie es de 2.4% del peso corporal/día, sin embargo, los requisitos nutricionales precisos del pez cebra aún no se han definido (Marques et al., 2019; Velasco Garzón & Gutiérrez Espinosa, 2019).

En estado en cautiverio es recomendable alimento vivo y alimento comercial, en vida silvestre se alimentan de zooplancton, crustáceos e insectos, es de gran importancia las preferencias dietéticas del pez cebra salvaje, debido a que puede ayudar en su fisiología digestiva (Harper & Lawrence, 2011; Lawrence, 2007)

Se recomienda que el suministro de alimento sea diario, por lo menos dos veces al día , si existe sobrealimentación se puede generar sedimento al fondo del tanque ,en ese caso se debe sreducir la dosis de alimento, retirar el sedimento y mantener la calidad del agua (Harper & Lawrence, 2011).

2.2.8.6. Identificación de enfermedades

Tabla 10.

Diferencias en el comportamiento y aspecto físico de un pez sano y enfermo

Aspectos	Pez sano	Pez enfermo
Natación	Normal (de la especie).	Irregular, hundimiento de costado, erradico
Consumo de alimento	Voracidad. Actividad estimulada en los horarios de rutina.	No consume alimento
Reacción de fuga	Responde a los ruidos	No responde a los ruidos
Coloración	Pigmentación definida	Colores claros en caso de presentar anemia o falta de oxígeno, Oscurecimiento cuando existe enfermedades infecciosas.
Piel	Suave, sin descamación	Descamaciones evidentes, úlceras.
Ojos	Brillantes, corneas transparentes	Opacos
Branquias	Coloración roja brillante	Coloración anormal rosa pálida, con lesiones
Aletas	Sin hemorragias	Heridas o lesiones aparentes

Nota. En la presente tabla se puede diferenciar las principales características que presenta un pez sano y un pez enfermo, aspectos a considerar para un buen desarrollo del organismo.

Fuente: (Balbuena Rivarola et al., 2011)

2.2.9. Fundamentación legal

2.2.9.1. Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua

Registro Oficial Suplemento 483 de 20-abr.-2015 Ultima modificación: 21-ago.-2015

La Agencia de Regulación y Control del Agua (ARCA) se encarga de la regulación y control de la gestión integral e integrada de los recursos hídricos, la cantidad y calidad de agua en fuentes y zonas de recarga, calidad de los servicios públicos relacionados al sector agua y en todos los usos, aprovechamientos y destinos del agua. (Ley Organica de Recursos Hidricos Usos y Aprovechamiento del Agua, 2014, Art.8)

2.2.9.2. Normas ISO

NTE INEN-ISO 6341, (2013) : Esta Norma describe una metodología para la determinación de la toxicidad sobre *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) de sustancias químicas solubles en las condiciones del ensayo, o que pueden mantenerse en suspensión o en dispersión estable en las condiciones de ensayo, efluentes industriales o urbanos, tratados o no, aguas superficiales o aguas subterráneas.

NTE INEN-ISO 7346-1, (2014): Describe los procedimientos de ensayo para determinar la toxicidad letal aguda de sustancias frente al pez cebra (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan), las metodologías presentadas pueden utilizarse para otras especies de peces de agua dulce y de mar, con las modificaciones pertinentes, tales como la temperatura del ensayo o la calidad del agua de dilución.

NTE INEN-ISO 5667-16, (1998) : Nos proporciona información fundamental sobre el muestreo, pretratamiento, ejecución y evaluación de muestras ambientales en la realización de pruebas biológicas y probables soluciones frente a problemas de bioensayo que se generan de la muestra y la idoneidad del diseño de la prueba.

NTE INEN-ISO 10523, (2008): Especifica un método para determinar el valor de pH en aguas pluviales, potables y minerales, aguas de baño, aguas superficiales y subterráneas.

2.2.9.3. Normativa general para promover y regular la producción orgánica, ecológica, biológica en el Ecuador

Producción acuícola orgánica:

Establece normas de producción innatas de las especies de peces, crustáceos, equinodermos y moluscos en donde se aplica “mutatis mutandis” al zooplancton, los microcrustáceos, los rotíferos, los gusanos y otros animales acuáticos para piensos (Agrocaliad, 2013, Art 67).

Los animales serán alimentados de tal modo que el alimento cubra las necesidades nutritivas en las distintas etapas de desarrollo, se prohíbe el uso de organismos genéticamente modificados y derivados, no se debe emplear factores de crecimiento y aminoácidos de origen sintético, se podrán utilizar en la acuicultura orgánica materias primas para la alimentación animal, de origen animal y mineral (Agrocaliad, 2013, Art 77).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ensayo

El presente estudio es de tipo descriptivo y experimental, el cultivo del microcrustáceo *Moina sp* y ensayos para el cultivo del pez cebra (*Danio rerio*), se realizaron en un bioterio domestico instalado al sur de Quito. Los ensayos bioquímicos para la cuantificación de proteína fueron ejecutados en el laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana

3.2. Material experimental

Para obtener la capsula del microcrustáceo *Moina sp*, se procedió a comprar en el acuario denominado Crustacora, ubicado en la calle Mortiños y de las Grosellas. Av. Eloy Alfaro, al norte de la ciudad de Quito; Los peces en estado juvenil (*Danio rerio*) fueron proporcionados por un proveedor comercial en la ciudad de Quito.

3.3. Condiciones experimentales

3.3.1 Obtención de la cepa *Moina sp*

Se colocó los huevos del microcrustáceo *Moina sp* en un recipiente de 1L de capacidad, con agua purificada a un volumen de 500 mL, temperatura de 24°C, aireación constante (Anexo 2). Posterior a su eclosión (Anexo 3), los neonatos fueron aclimatados a una temperatura 20±2°C, durante 24 horas, para ser colocados y evaluados en las unidades experimentales por 30 días, este proceso se adaptó a la metodología de Rottmann, (2021).

3.3.2 Identificación del microcrustáceo

La identificación se realizó mediante observación y diferenciación de las características morfológicas del organismo (Anexo 4 y 5) , con ayuda del microscopio, y de claves

taxonómicas, adaptado a la metodología de Samanez et al., (2014), en el Laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana.

3.3.3 Materiales para la identificación de *Moina sp*

Tabla 11.

Materiales para identificación de *Moina sp*

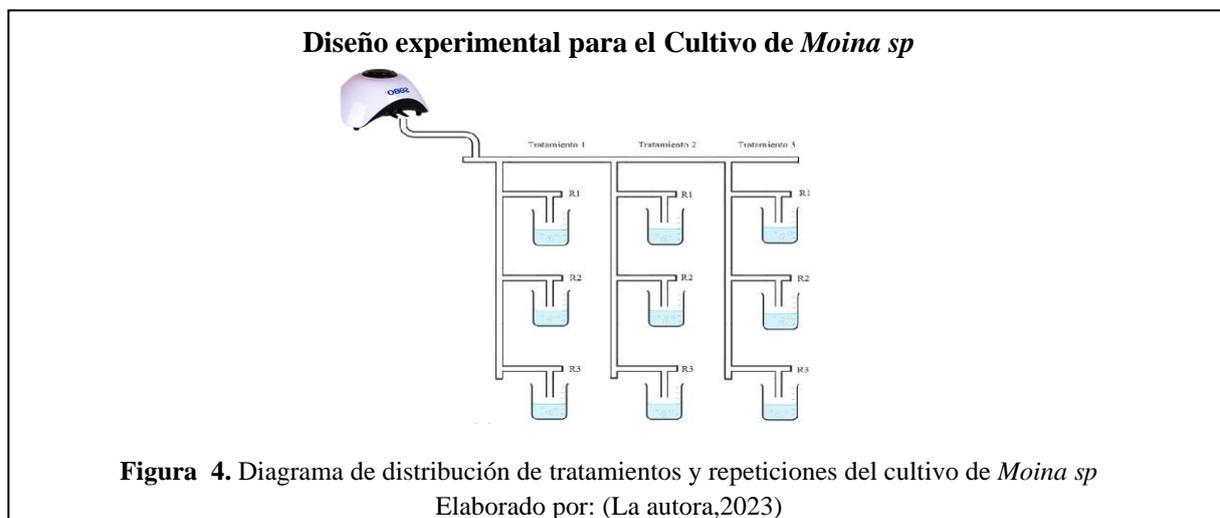
Materiales	Equipos	Reactivos
Placas Petri	Microscopio	Agua destilada
Pipetas de 5mL		Lugol
Vasos de precipitado		
Cubre y porta objetos		

Nota. Materiales requeridos para la identificación y observación del microcrustáceo *Moina sp*

Elaborado por: (La autora, 2022)

3.3.4 Cultivo de *Moina sp* a nivel de laboratorio (Fase I)

Se aplicó tres tratamientos con tres repeticiones, con un total de nueve unidades experimentales, se alimentó con *Spirulina* en polvo, levadura comercial de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*) y la combinación de ambas en una proporción de 50% cada una respectivamente, la cantidad de alimento fue suministrado cada 24 horas, el protocolo se adaptó a la metodología de Rottmann, (2021) y Santhanam et al., (2020).



3.3.4.1 Unidades experimentales

Las unidades experimentales (Anexo 6 y 7) fueron recipientes de capacidad de 2L, con 1.5L de agua acondicionada, se inoculó 15 organismos de *Moina sp* de 24 horas de nacidos, en cada unidad se instaló un sistema de aireación constante suave, para mantener la aireación se utilizó mangueras de silicona de 4 mm de diámetro y un compresor de aire, el nivel de pH se mantuvo en 7, la temperatura fue de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, los recipientes fueron cubiertos para que no exista contaminación, además, las dietas se suministraron todos los días a las 8 am, durante 30 días.

3.3.4.2 Mantenimiento de las unidades experimentales

Se renovó un tercio del volumen del medio de cultivo cada día, el agua que se usó para mantener el cultivo fue acondicionada con el producto BioBloO ®Safe Water, además, con ayuda de una manguera de silicona y una micro red de 60 μm se extrajo los restos de alimento y los exoesqueletos de los microcrustáceos de las unidades experimentales.

3.3.4.3 Alimentación de *Moina sp*

Se pesó 0.01 g de *Spirulina* en polvo, se diluyó en 10 mL de agua, obteniendo una concentración de 0.001 g/mL, de *Saccharomyces cerevisiae* se pesó 0.02 g se diluyó en 10 mL de agua, obteniendo una concentración de 0.002 g/mL, para la tercera dieta se alimentó con la combinación de ambas en una proporción del 50% de *Spirulina* en polvo y levadura comercial (Anexo 8).

Tabla 12.

Alimentación de *Moina sp*

Tratamientos	Concentración	Cantidad de alimento
<i>Spirulina</i>	0.001g/mL	0.1mL
Levadura	0.002g/mL.	0.1mL
<i>Spirulina</i> y levadura	0.001 g/mL - 0.002g/mL.	0.05 mL y 0.05 mL

Nota. Concentración y cantidad de alimento para el cultivo de *Moina sp*

Elaborado por: (La autora, 2022)

3.3.4.4 Evaluación de las diferentes dietas en *Moina sp*

Para determinar el crecimiento exponencial de *Moina sp* se realizó un conteo cada 5 días en un periodo total de treinta días. Los microcrustáceos fueron succionados con una pipeta de 5 mL para realizar el conteo directo, luego fueron transportados a vasos de precipitado de 100 mL de capacidad con agua acondicionada, para posteriormente trasladarlos al medio de cultivo correspondiente (Anexo 9 y 10), las variables de evaluación fueron:

- a. **Crecimiento poblacional:** Se estimó con los promedios de los números de organismos de las 3 repeticiones de cada tratamiento en cada periodo evaluado.
- b. **Tasa instantánea de crecimiento (TCE):** Se determinó el aumento de la población con los datos obtenidos del conteo de organismos por tratamiento durante los 30 días, utilizando las ecuaciones citadas por Prieto et al., (2006) y Otero et al., (2013).

$$TCE = \frac{(\ln Nt1 - \ln Nt0)}{T} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

Nt1: Número final de organismos en ml.

Nt₀: Número inicial de organismos en ml.

T: Tiempo del cultivo.

C. Tiempo de duplicación: Se estimó el tiempo que tarda la población en duplicarse

$$Td = \frac{\ln 2}{K} \qquad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

Ln2: Logaritmo natural de 2

K: Tasa instantánea de crecimiento (TCE)

3.3.5 Análisis bioquímico de *Moina sp* (Fase II)

3.3.5.1 Proceso de extracción de proteína

Con ayuda de un embudo se filtró el agua de cada cultivo, se separó 100 organismos *Moina sp* de cada tratamiento, a continuación, los organismos fueron depositados en cajas Petri para secar el material biológico en una estufa a 60°C durante 24 horas. Una vez seco el material, se procedió a pesar y a colocar la muestra biológica en un eppendorf de 1.5mL, las muestras fueron sometidas a maceración mecánica en presencia de nitrógeno líquido durante 3 minutos, posteriormente, se colocó 500 uL de tampón fosfato a pH 7.2 y se centrifugo durante 15 minutos a 14000 rpm, obteniendo de este modo el sobrenadante, este proceso fue adaptado a las metodologías de Jordão et al., (2016) y Matus, (2013).

Para la preparación de la muestra estándar se tomó 100 mg de *Daphnia* liofilizada, conforme al protocolo anterior, la muestra fue sometida a maceración mecánica en presencia de nitrógeno, la solución madre se obtuvo en 100 mL de agua destilada.



3.3.5.2 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry

La determinación total de proteínas se obtuvo mediante el método de Lowry et al., (1951), este método es utilizado en investigación, en donde, el Cu^{+} forma complejos de unión con dos enlaces péptidos consecutivos de proteínas, obteniendo una coloración azul, este compuesto es capaz de reducir al reactivo de Folin-Ciocalteu, dando una coloración más azulada, por otra parte, el reactivo de Folin-Ciocalteu, igualmente, reacciona con los restos de tirosinil, produciendo un color azulado por la reducción del fosfomolibdato en medio básico, siendo así, 100 veces más sensible que Biuret, además, como ventaja se puede mencionar que mide concentraciones bajas de proteínas, el rango va entre 5 a 100 μg a una longitud de onda de 650 a 750nm (Roca et al., 2003; Shen, 2019).

Tabla 13.

Reactivos, equipos y materiales para la cuantificación de proteínas

Reactivos	Cantidad	Equipos	Materiales
Na ₂ CO ₃ (carbonato de sodio)	2g	Espectrofotómetro	Celdas de plástico
NaOH (hidróxido de sodio)	0.4 g	Micropipetas 10-100ul	Vasos de precipitado
CuSO ₄ (sulfato cúprico)	1g	Micropipetas 100-1000ul	
Tartrato sódico-potásico	2g	Plancha	
Reactivo de Folin-Ciocalteu	10mL		
<i>Daphnia</i> liofilizada	100mg		
Agua destilada	200mL		

Nota: Materiales requeridos para la cuantificación de proteína del microcrustáceo *Moina sp* (Anexo 15)

Elaborado por: (La autora, 2023)

3.3.5.3 Preparación del reactivo

El reactivo de Lowry está compuesto por tres soluciones(Anexo 16): solución (A) carbonato de sódico al 2% y NaOH , solución (B1) sulfato cúprico CuSO₄ al 1%, solución (B2) tartrato de sodio y potasio al 2%, finalmente, se colocó la solución (A) 50mL más (B1) 0.5mL y (B2) 0.5mL adaptado de la metodología de Lowry et al., (1951). Para la preparación del reactivo Folin Ciocalteu se tomó 10 mL del reactivo y se diluyó en 40 mL de agua destilada.

3.3.5.4 Protocolo para cuantificación de proteína

Se utilizó como estándar solución de *Daphnia* liofilizada, al ser un cladóceros al igual que *Moina sp* y al conocer los valores proteicos de este microcrustáceo, es un buen referente para elaborar de la curva de calibración de proteínas e interpolar los datos obtenidos de *Moina sp*.

Para ello, se procedió a enumerar del 0 al 6 las celdas de plástico, se pipeteo las cantidades de agua, la muestra patrón y 0.5 ml del reactivo de Lowry, transcurridos 20 minutos se adicionaron

0.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu dejando reposar por 30 minutos en la oscuridad, finalmente, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 750 nm (Anexo 17).

Luego se tomaron alícuotas de 500uL de cada tratamiento de *Moina sp* se añadió 0.5 mL del reactivo de Lowry, transcurridos 20 minutos se adicionaron 0.25 mL del reactivo de Folin-Ciocaltea, se dejó las muestras en un lugar oscuro por 30 minutos, finalmente, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 750 nm, adaptado a la metodología de Utrillas, (2004).

Como blanco se usó una muestra con agua destilada y los respectivos reactivos, para el ajuste del espectrofotómetro a cero de absorbancia.

Tabla 14.

Volúmenes de agua, solución patrón, muestra problema para determinación de proteínas.

Celdas	Agua (mL)	Patrón (100mg/mL)	Muestra problema	Reactivo (Lowry) mL	Folin diluido
0	1.0	-	-	0.5	0.25
1	0.8	0.2	-	0.5	0.25
2	0.7	0.3	-	0.5	0.25
3	0.6	0.4	-	0.5	0.25
4	0.4	0.6	-	0.5	0.25
5	0.3	0.8	-	0.5	0.25
6	-	-	0.5	0.5	0.25

Nota: Diluciones patrón y muestra problema

Elaborado por: (La autora, 2023)

La regresión lineal de los valores de absorbancia frente a la concentración de proteína en mg/mL se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$y = a x e (A) + b \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

y = concentración de proteína A = Absorbancia (medida a 750 nm)

3.3.6 Cultivo escalar de *Moina sp*

Una vez determinadas las condiciones óptimas del cultivo *Moina sp*, se utilizó un contenedor de vidrio de 70L de capacidad y 2000 organismos *Moina sp*, inicialmente el cultivo escalar fue de 20L de agua, se fue agregando diariamente 2 litros de agua, hasta llegar a un volumen de 60L, la temperatura fue de 20 ± 2 , pH 7, aireación constante, la limpieza del recipiente se realizó una vez por semana reemplazando la mitad del agua, y se alimentó con una dieta combinada de *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae* (Anexo 18 y 19) , el cultivo se mantuvo durante dos meses con la finalidad de tener alimento suficiente para suministrar a los peces (*Danio rerio*).

3.3.7 Cultivo de pez cebra (*Danio rerio*) (Fase III)

3.3.7.1 Obtención y aclimatación de peces cebra (*Danio rerio*)

Para el ensayo se utilizó 90 ejemplares de pez cebra (*Danio rerio*) en estado juvenil, variedad silvestre, como modelo experimental, los ejemplares fueron aclimatados en una pecera de 30L por 2 horas a temperatura de 24 ± 2 , luego de este tiempo se procedió a colocar 10 ejemplares en cada pecera (Anexo 21).

3.3.7.2 Instalación de las peceras

El experimento consistió en tres tratamientos con tres repeticiones, teniendo así 9 unidades experimentales, las 9 peceras fueron de 13 litros de capacidad , cada pecera fue proporcionada con 10 litros de agua, previamente acondicionada, para ello, se usó declorador y azul de metileno, se colocó 10 ejemplares de pez cebra (*Danio rerio*), de 18 días de nacidos en cada pecera, el primer tratamiento fue alimentado con *Moina sp*, el segundo tratamiento con una dieta comercial denominada Tetracolor y en el tercer tratamiento se administró una dieta combinada a una proporción del 50% cada una.

3.3.7.3 Condiciones del cultivo de pez cebra (*Danio rerio*)

Las condiciones del cultivo fueron temperatura a 25 ± 2 °C , pH 7, luz artificial durante 12 horas, se usó un aireador y un filtro SF100 para cada pecera, el protocolo se adaptado a la metodología de Westerfield, (2010).

Para cada una de las peceras se realizó los cambios de agua, retirando el 25% del volumen total, con ayuda de una manguera de 4mm, se procedió a retirar residuos del alimento y desechos biológicos generados por los peces, una vez limpia la pecera se llenó con 25% o 2,5 litros de agua nueva, el recambio fue diariamente para evitar contaminación con desechos nitrogenados, además, se inspeccionó rutinariamente los parámetros fisicoquímicos de las peceras, tales como, temperatura, pH y turbidez, por otra parte con ayuda de una esponja se limpió la superficie de los cristales de las pecera, al menos una vez por semana siguiendo las consideraciones de Reed & Jennings, (2011) (Anexo 22).

3.3.7.4 Alimentación

Una vez colocados los peces en sus respectivas peceras y transcurridas 12 horas se procedió a dar su primera ración de comida, los horarios establecidos diariamente fueron en 2 jornadas 8:00 am y 4:00pm, (Anexo 20).

Para el cálculo del alimento comercial se tomó en cuenta las ecuaciones citadas por Bocek, (2016):

$$Biomasa = \text{Peso Promedio} \times N^{\circ} \text{ total de peces} \quad \text{Ecuación 4}$$

$$\text{Alimento/día} = \frac{\text{Biomasa} * \% \text{ de alimentación}}{100} \quad \text{Ecuación 5}$$

$$\text{Ración} = \frac{\text{Alimento calculado}}{N^{\circ} \text{ de comidas por día}} \quad \text{Ecuación 6}$$

Tabla 15.Alimentación cultivo de pez cebra (*Danio rerio*) para cada tratamiento

Tratamientos	Porción al día	Raciones diarias
Alimento vivo <i>Moina sp</i>	300 organismos	150 organismos
Dieta Comercial	0.08 g	0.04 g
Dieta combinada	150 organismos <i>Moina sp</i> +0.04 g dieta comercial	75 organismos + 0.02 g dieta comercial

Nota: Las raciones fueron suministradas 8:00 am y 4:00pm**Elaborado por:** (La autora, 2023).**Tabla 16.**Cálculo del alimento comercial para pez cebra (*Danio rerio*)

N° de peces por pecera	PP/gr	% tasa Alimentación	Biomasa/g	Alimento diario (g)	Raciones diarias (g)
10	0,2	4	2	0,08	0,04

Nota: La ración suministrada para el tratamiento fue de 0.04 g dos veces al día.**Elaborado por:** (La autora, 2023)

3.3.7.5 Longitud y peso de los peces

a) Longitud

Se tomó las medidas de 5 peces seleccionándolos de forma aleatoria, desde la punta anterior de la mandíbula más larga hasta la parte más posterior de la aleta caudal, la longitud fue tomada en (cm), los datos fueron tomados una vez por semana, durante un periodo de 9 semanas seguidas (Anexo 23 y 24).

b) Peso

Se determinó el peso de 5 peces aleatoriamente, con ayuda de una red se capturaron los peces, y se procedió a colocar cada uno en vasos de 100 mL, luego, con una balanza se determinó el peso en (g), los datos fueron tomados una vez por semana, durante un periodo de 9 semanas seguidas (Anexo 23 y 24).

Después del análisis de crecimiento y peso se calculó:

c) Relación entre el peso y la longitud

La relación de la longitud y peso de los peces se calculó según la ley del cubo por Le Cren (1951), con la siguiente ecuación citada por Datta et al., (2013)

$$W = aL^b \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde

W: Es el peso (g)

L: Es la longitud total (cm)

a: Es el intercepto de la regresión

b: Es pendiente de la regresión

d) Factor de condición de Fulton

El factor de condición de Fulton (K) se calculó según Htun-Han (1978) de acuerdo a la fórmula citada por citada por Datta et al., (2013):

$$K = W * 100/L^3 \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

W: Es el peso (g),

L: Es la longitud total (cm),

e) Tasa de crecimiento específica

$$SGR = \frac{\text{Log}(\text{Peso final}) - \text{Log}(\text{Peso inicial})}{\text{Días de cultivo}} * 100$$

Ecuación 10

3.3.8 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico completamente aleatorizado DCA, los datos obtenidos de los parámetros (crecimiento poblacional, tasa instantánea de crecimiento, tiempo de duplicación) del cultivo *Moina sp*, así como, las concentraciones de proteína y parámetros de crecimiento evaluados en (*Danio rerio*), fueron analizados con ayuda del programa InfoStat, para determinar entre qué tratamientos hubo diferencia significativa, se realizó un análisis de varianza aplicando la prueba de comparación de medias Tukey a un nivel de significancia de 0,05 ,adicionalmente, para realizar las diferentes graficas como son las curvas de tendencia del crecimiento poblacional se usó el programa de Excel.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Descripción general de *Moina sp*

De acuerdo con lo observado, la cabeza presenta forma ovalada, poseen un ojo compuesto y sin ocelo, el cuerpo es comprimido, el tamaño varía entre 0.5 a 0.9 mm para cada tratamiento, la coloración del cuerpo es transparente, presentan anténulas pequeñas y totalmente desarrolladas, pequeñas espinas en la parte lateral, diafragma, corazón y tubo digestivo que va desde la boca y continua hasta llegar al ano, los machos son más pequeños que las hembras (Anexo 11-13), en este sentido, los autores Yuslan et al., (2021) Fuentes-Reines et al., (2012) y Santhanam et al., (2018) describen a la familia *Moinidae* con características similares a lo mencionado en esta investigación, por otra parte, las hembras son partenogénicas los huevos se encuentran en el efipio parte del exoesqueleto dorsal, los machos no presentan efipio por lo que su parte dorsal es más aplanada, esta descripción coincide con Elmoor-Loureiro et al., (2010) y Lavens & Sorgeloos, (1996), una de las principales diferencias con el género *Daphnia sp*, es que *Moina sp* tiene una espina caudal prominente y es más pequeña, es de suma importancia revisar la morfología de las especies *Moinidae*, ya que, de acuerdo con Alonso et al., (2019) existen escasas descripciones de nuevas especies.

4.2 Crecimiento poblacional en los distintos tratamientos

El cultivo de *Moina sp* comenzó con 15 ind/L, los registros de las densidades del día uno al día treinta indican que los mayores registros de densidad poblacional se obtuvo en las dietas: *Spirulina* (T1) y *Spirulina + Saccharomyces cerevisiae* (T3), con 1790 y 2417 organismos respectivamente, en comparación con *Saccharomyces cerevisiae* (T2) cuyo valor promedio fue de 613 organismos, la tabla también indica que tanto para el T1 y T3 se reporta un valor elevado en la desviación estándar, mostrando gran dispersión de los datos para ambos casos, a diferencia del T2 cuya desviación estándar es menor (Tabla 17).

Tabla 17.

Promedio (\pm D.S.) del número de organismos de *Moina sp* según la dieta experimental y día de muestreo.

Días evaluados	Tratamientos		
	<i>Spirulina</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Spirulina + Saccharomyces cerevisiae</i>
15/10/2022	15 \pm 0	15 \pm 0	15 \pm 0
20/10/2022	47 \pm 2,52	27 \pm 7,77	49 \pm 4,73
25/10/2022	189 \pm 10,07	147 \pm 3,00	225 \pm 9,50
30/10/2022	296 \pm 10,15	188 \pm 6,81	396 \pm 6,51
4/11/2022	608 \pm 7,64	300 \pm 2,00	747 \pm 11,72
9/11/2022	1011 \pm 4,16	448 \pm 3,46	1469 \pm 16,52
14/11/2022	1790 \pm 36,06	613 \pm 6,43	2417 \pm 15,28

Nota: Los datos obtenidos fueron durante un mes , cada cinco días (Valor de la Media y desviación estandar)

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 18.

Número de organismos de *Moina sp* al finalizar el ensayo según el tratamiento.

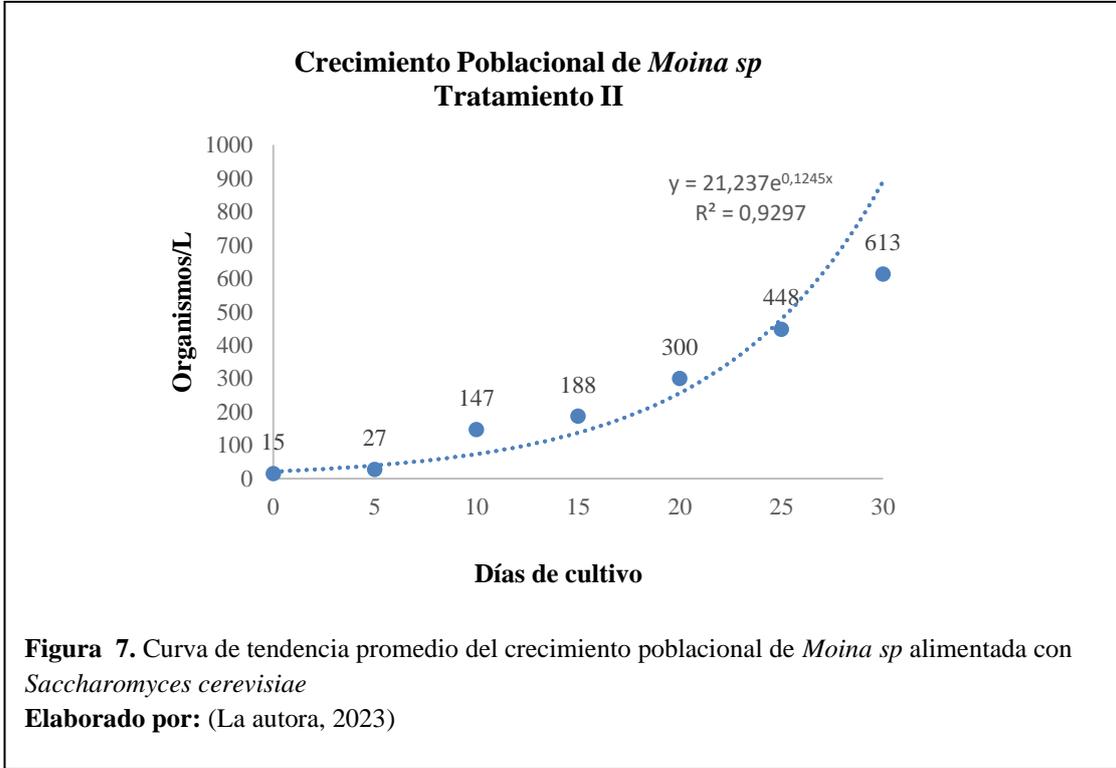
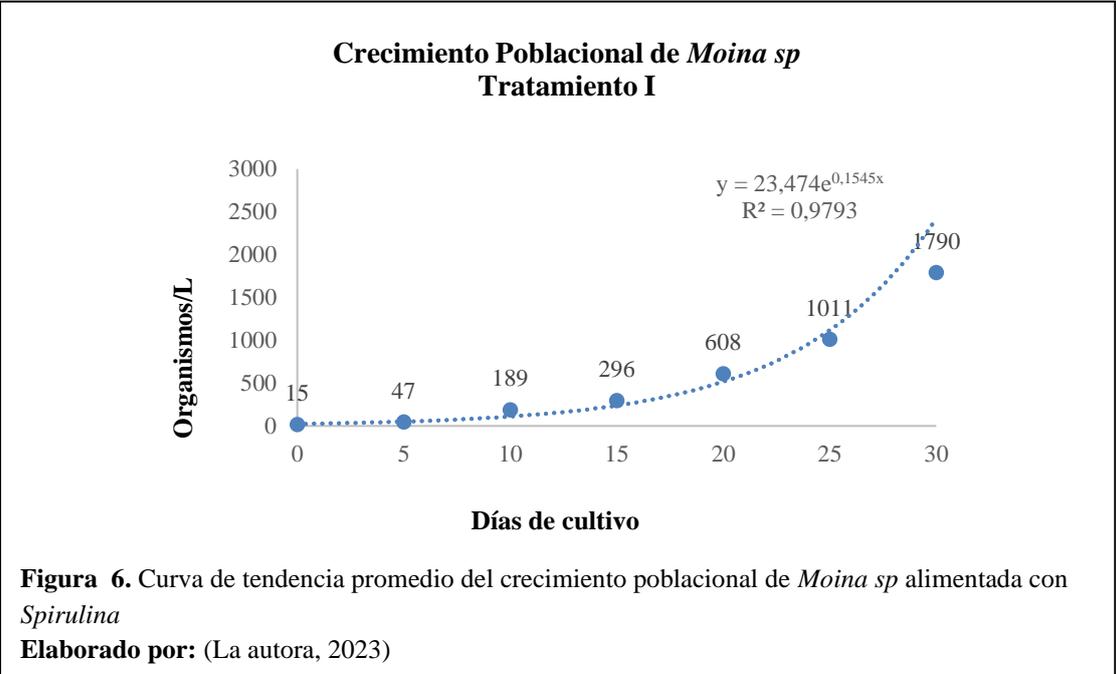
Tratamiento	Promedio (\pm D.S.)	CV
<i>Spirulina</i>	1790 \pm 36.06 ^b	2.01
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	613 \pm 6.43 ^a	1.05
<i>Spirulina+ Saccharomyces cerevisiae</i>	2417 \pm 15.28 ^c	0.63

Nota: Maxima densidad al terminar el ensayo

Elaborado por: (La autora, 2023)

Por otra parte, en la (Tabla 18) se observa que el coeficiente de variación para *Spirulina* (T1) es de 2.01% y *Saccharomyces cerevisiae* (T2) 1.05 %, mientras que para *Spirulina+ Saccharomyces cerevisiae* (T3) tuvo un valor más homogéneo de 0.63% de coeficiente de variación.

Como se puede apreciar, el mayor crecimiento poblacional fue en el T3, seguido por T1, el tratamiento menos eficiente fue el T2. De igual manera, todos los tratamientos empezaron a crecer al día diez, llegando a su punto más alto el día treinta del cultivo, respectivamente.



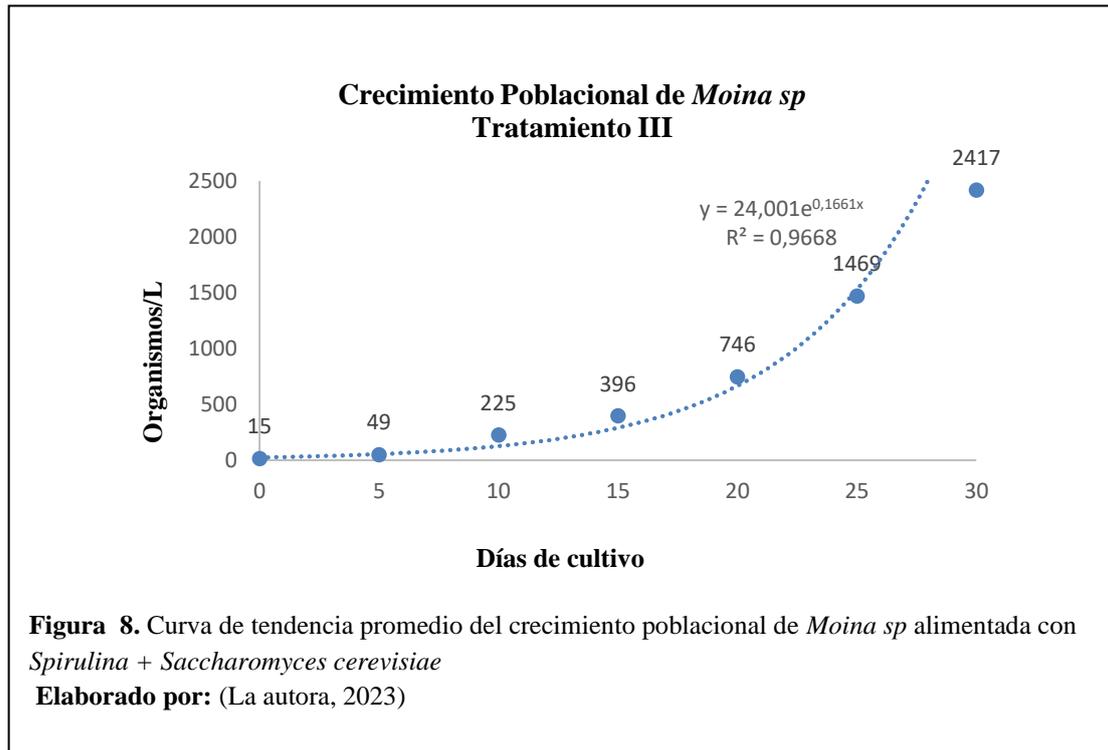


Tabla 19.

Análisis de varianza del crecimiento poblacional de los tratamientos *Moina sp*

Variantes	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	5033240.89	2	2516620.44	47479.58	<0.0001
Error experimental	3149.33	6	524.89		
Total	5036390.22	8			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: Grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023)

En base al análisis de varianza, se registró diferencias significativas en el crecimiento poblacional ($P < 0.05$).

4.3 Tasa instantánea de crecimiento (TCE)

En cuanto a la tasa de instantánea de crecimiento, al finalizar el ensayo (Tabla 20), el T1 y T3 tuvieron un valor promedio de (0.1594) y (0.1694) respectivamente, mientras el T2 tuvo una menor tasa instantánea de crecimiento con un valor promedio de (0.1237), en base a los resultados del análisis de varianza se puede mencionar que si existe diferencia significativa ($P < 0.05$).

Tabla 20.

Valores promedio de la tasa instantánea de crecimiento (\pm D.S.) de los tratamientos *Moina sp*

DIAS	T1	T2	T3
1	0	0	0
5	0,2296 \pm 0,0106	0,1149 \pm 0,0550	0,2348 \pm 0,0190
10	0,2535 \pm 0,0053	0,2282 \pm 0,0020	0,2709 \pm 0,0042
15	0,1988 \pm 0,0023	0,1684 \pm 0,0024	0,2183 \pm 0,0010
20	0,1851 \pm 0,0006	0,1498 \pm 0,0003	0,1954 \pm 0,0007
25	0,1684 \pm 0,0001	0,1359 \pm 0,0003	0,1834 \pm 0,0005
30	0,1594 \pm 0,0007	0,1237 \pm 0,0003	0,1694 \pm 0,0002

Nota: Valor de la Media y desviación estandar

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 21.

Análisis de varianza de la tasa instantánea de crecimiento (TCE) de los tratamientos *Moina sp*

Variantes	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	0.0034684	2	0.0017342	7397.0805687	<0.0001
Error experimental	0.0000014	6	0.0000002		
Total	0.0034698	8			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: Grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023).

4.4 Tiempo de duplicación

El menor tiempo para duplicar su tamaño poblacional fue el T3 de (4,091 día⁻¹) seguido del T1 (4,348 día⁻¹), en el caso del T2 precisa más tiempo para duplicarse (5.605 día⁻¹).

Tabla 22.

Valores promedio de la tasa instantánea de crecimiento (\pm D.S.) de los tratamientos *Moina sp*

DIAS	T1	T2	T3
1	0	0	0
5	3,022 \pm 0,1384	7,014 \pm 3,1769	2,964 \pm 0,2325
10	2,735 \pm 0,0569	3,037 \pm 0,0271	2,559 \pm 0,0398
15	3,487 \pm 0,0404	4,116 \pm 0,0600	3,175 \pm 0,0159
20	3,744 \pm 0,0127	4,627 \pm 0,0103	3,548 \pm 0,0144
25	4,115 \pm 0,0040	5,101 \pm 0,0116	3,780 \pm 0,0093
30	4,349 \pm 0,0184	5,605 \pm 0,0158	4,091 \pm 0,0051

Nota: Valor de la media y desviación estandar

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 23.

Análisis de varianza de la tasa del tiempo de duplicación (TD) de los tratamientos *Moina sp*

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	3.94	2	1.97	9610.83	<0.0001
Error experimental	1.2E-03	6	2.0E-04		
Total	3.94	8			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023)

De acuerdo con el análisis de varianza si existe diferencia significativa presentando un ($P < 0.05$), los tratamientos son diferentes estadísticamente mediante la prueba Tukey, lo que demuestra que cada tratamiento tiene diferente efecto *Spirulina*+ *Saccharomyces cerevisiae* (T3) seguido por *Spirulina* (T1) se reproducen en un menor tiempo, lo que no sucede con el (T2).

Tabla 24.Resumen de resultados para el cultivo *Moina sp*

Variables	<i>Spirulina</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Spirulina+ Saccharomyces cerevisiae</i>
Crecimiento poblacional (OrgL ⁻¹)	1790±36 ^b	613±6 ^a	2417±15 ^c
TCE (días ⁻¹)	0.1594±0.0007 ^b	0.1237±0.0003 ^a	0.1694±0.0002 ^c
TD (días)	4.349±0.01 ^b	5.605±0.02 ^c	4.091±0.01 ^a
Dmd (días)	30	30	30

Nota: TCE: Tasa Instantánea de Crecimiento; TD: Tiempo de Duplicación; Dmd: Día de máxima densidad**Elaborado por:** (La autora, 2023)

4.5 Determinacion de proteina

Tabla 25.

Valor de la absorbancia para la curva estándar

Volumen	Concentración	Absorbancia
-	0	0
0,3	171,48	0,014
0,4	228,57	0,0245
0,6	342,85	0,0352
0,8	457,14	0,0512

Nota: Volumen de las diluciones , concentracion en mg/mL y absorbancia para cada muestra**Elaborado por:** (La autora, 2023)

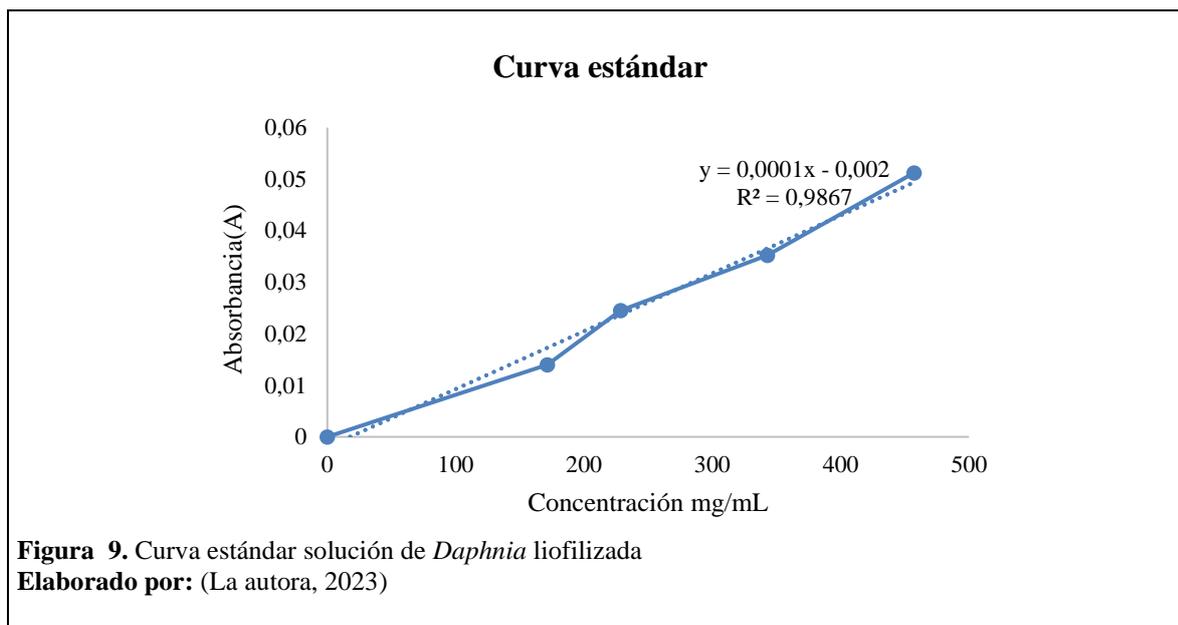


Tabla 26.

Valor promedio de la absorbancia en cada tratamiento del cultivo *Moina sp*

Variables	<i>Spirulina</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Spirulina+ Saccharomyces cerevisiae</i>
Valor promedio (±D.S.)	0.0347±0.0009 ^b	0.0065±0.0011 ^a	0.0394±0.0025 ^c
CV	2.59	17.52	6.35

Nota: CV : Coeficiente de variacion indica que tan dispersos estan los datos.

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 27.

Análisis de varianza de absorbancia de proteínas

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	0,00189	2	9.5E-04	338.46	<0.0001
Error experimental	1.7E-05	6	2.8E-06		
Total	1.9E-03	8			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023)

En base al análisis de varianza, se registró diferencias significativas en el crecimiento poblacional ($P < 0.05$).

Tabla 28.

Valor promedio de la concentración de proteínas presente en cada tratamiento

Tratamientos	Muestra problema	Concentración mg/mL	CV	Absorbancia
<i>Spirulina</i>	0,5	367±9.0 ^b	2.45	0,0347
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,5	86.67±11.50 ^a	13.43	0,0065
Spirulina+ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,5	414±25.00 ^c	6.04	0.0394

Nota: SC: CV: Coeficiente de Variación.

Elaborado por: (La autora, 2023)

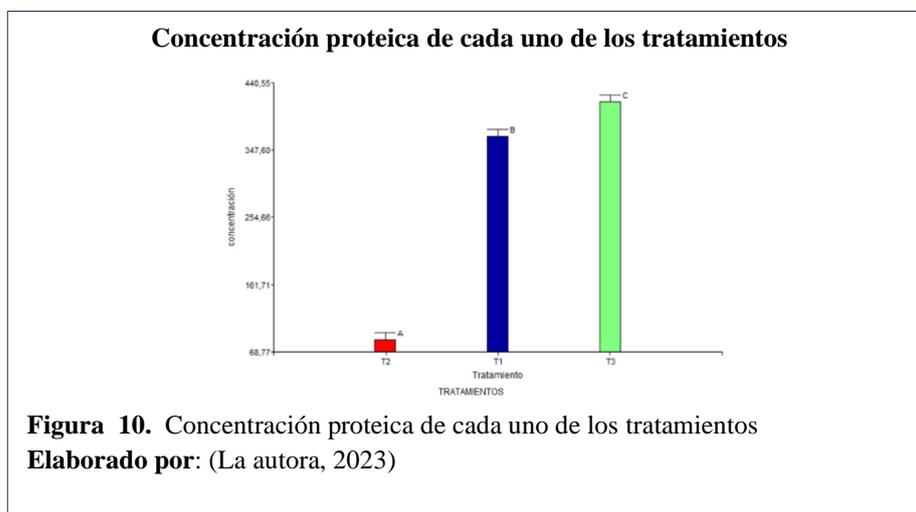
Tabla 29.

Análisis de varianza de la cuantificación de proteínas

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	189160,22	2	94580,11	338.46	<0.0001
Error experimental	1676,67	6	279,44		
Total	190836,89	8			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023)



Al comparar los valores, con la curva de calibración se puede determinar que a un volumen de 0.5mL, el T3 obtuvo una concentración de (414±25.00^c) , el T1 (367±9.0^b) , y una menor

concentración en el T2 (86.67 ± 11.50^a) comparado con los valores calculados de la curva estándar.

Tabla 30.

Porcentaje de proteína para cada tratamiento

Tratamiento	Porcentaje de Proteína
<i>Spirulina</i>	60%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14%
<i>Spirulina</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	68%

Nota: Valor referencial estandar concentración *Daphnia* de 342,85 mg/mL, porcentaje de proteína de 47%

Elaborado por: (La autora, 2023)

Los valores más altos en el porcentaje de proteína se obtuvieron en el T3 (68%) y T1 (60%), los resultados del T2 (14%) comparado a los otros resultados es muy diferente, lo que presuntamente nos indica un error en la metodología aplicada.

4.6 Parámetros de crecimiento en peces.

Tabla 31.

Información general del ensayo en peces cebra (*Danio rerio*)

	Tratamientos- Dietas		
	<i>Moina sp</i>	Dieta comercial	Dieta combinada
N° inicial de individuos por pecera	10	10	10
Tamaño de muestra	30	30	30
N° de semanas	9	9	9

Nota: El ensayo se realizó con tres repeticiones

Elaborado por: (La autora, 2023)

4.6.1 Determinación de Peso

Tabla 32.

Promedios (\pm D.S.) del peso alcanzado por los peces cebra (*Danio rerio*)

Días evaluados	Tratamientos		
	Dieta <i>Moina</i> sp	Dieta Comercial	Dieta combinada
20/4/2023	0,19 \pm 0.03	0,19 \pm 0.04	0,21 \pm 0.04
25/4/2023	0,21 \pm 0.04	0,20 \pm 0.05	0,21 \pm 0.04
30/4/2023	0,22 \pm 0.04	0,22 \pm 0.06	0,23 \pm 0.04
5/5/2023	0,24 \pm 0.04	0,24 \pm 0.05	0,24 \pm 0.03
10/5/2023	0,25 \pm 0.03	0,24 \pm 0.05	0,26 \pm 0.04
15/5/2023	0,26 \pm 0.03	0,25 \pm 0.06	0,26 \pm 0.04
20/5/2023	0,26 \pm 0.03	0,26 \pm 0.04	0,28 \pm 0.04
25/5/2023	0,28 \pm 0.02	0,28 \pm 0.05	0,32 \pm 0.05
30/5/2023	0,31 \pm 0.01	0,32 \pm 0.05	0,36 \pm 0.04
4/6/2023	0,32 \pm 0.02	0,33 \pm 0.06	0,40 \pm 0.03

Nota: Valor de la media y desviación estandar

Elaborado por: (La autora, 2023)

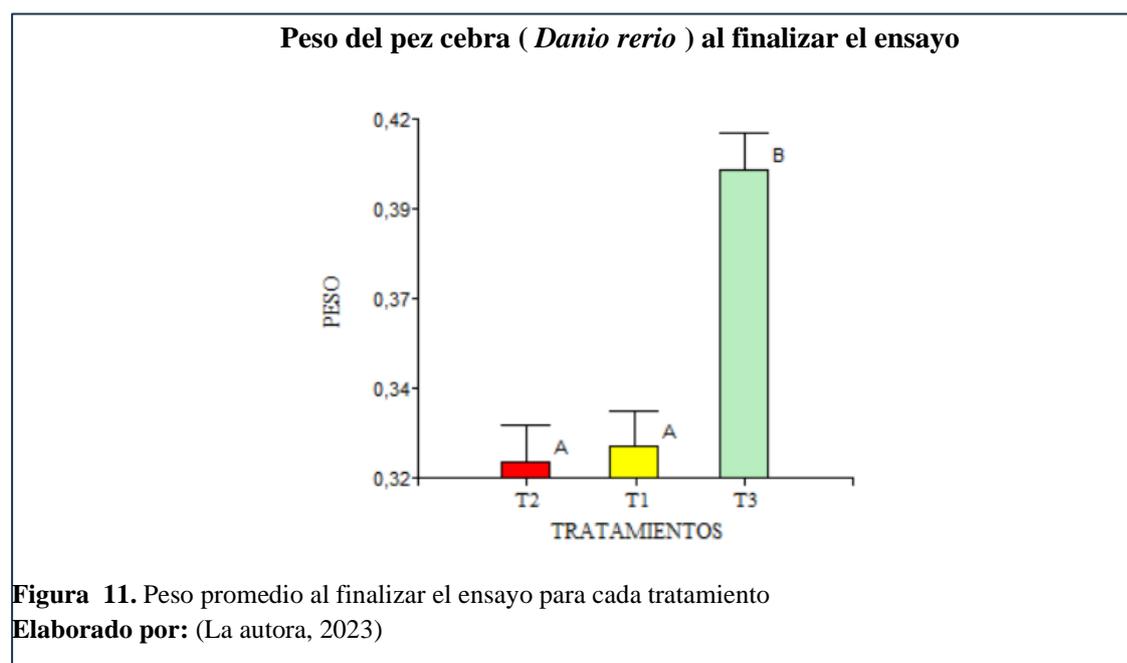


Figura 11. Peso promedio al finalizar el ensayo para cada tratamiento

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 33.

Valores promedio del peso según el tratamiento al finalizar el ensayo

	<i>Dieta Moina sp</i>	<i>Dieta comercial</i>	<i>Dieta combinada</i>
Media (\pm D.S.)	0.33 \pm 0.02 ^a	0.32 \pm 0.06 ^a	0.40 \pm 0.03 ^b

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 34.

Análisis de varianza del peso al finalizar el ensayo

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	0.06	2	0.03	20.46	<0.0001
Error experimental	0.07	42	1,6E-03		
Total	0.13	44			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: Grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023).

4.6.2 Determinación de longitud

Tabla 35.

Promedios (\pm D.S.) de la longitud en cada tratamiento

Días evaluados	Tratamientos		
	<i>Dieta Moina sp</i>	<i>Dieta Comercial</i>	<i>Dieta combinada</i>
20/4/2023	1,93 \pm 0.15	1,97 \pm 0.09	1,93 \pm 0.09
25/4/2023	2,33 \pm 0.20	2,17 \pm 0.10	2,31 \pm 0.15
30/4/2023	2,53 \pm 0.13	2,37 \pm 0.19	2,61 \pm 0.19
5/5/2023	2,65 \pm 0.18	2,65 \pm 0.29	2,77 \pm 0.26
10/5/2023	2,72 \pm 0.24	2,71 \pm 0.29	2,81 \pm 0.27
15/5/2023	2,73 \pm 0.18	2,80 \pm 0.20	2,88 \pm 0.22
20/5/2023	2,87 \pm 0.21	2,86 \pm 0.18	2,97 \pm 0.19

25/5/2023	2,92±0.26	2,94±0.18	3,08±0.17
30/5/2023	3.0±0.20	2,99±0.19	3,27±0.17
4/6/2023	3,14±0.17	3,11±0.16	3,55±0.12

Nota: Valor de la media y desviación estandar

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 36.

Valores promedio de longitud según el tratamiento al finalizar el ensayo

	<i>Dieta Moina sp</i>	<i>Dieta comercial</i>	<i>Dieta combinada</i>
Media (±D.S.)	3,14±0.02 ^a	3,11±0.06 ^a	3,5±0.03 ^b

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 37

Análisis de varianza de la longitud al terminar el ensayo

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F calculado	p-valor
Tratamientos	1,86	2	0,93	40,52	<0.0001
Error experimental	0,96	42	0,02		
Total	2,82	44			

Nota: SC: Suma de cuadrados ; gl: grados de libertad; CM: Cuadrado medio

Elaborado por: (La autora, 2023).

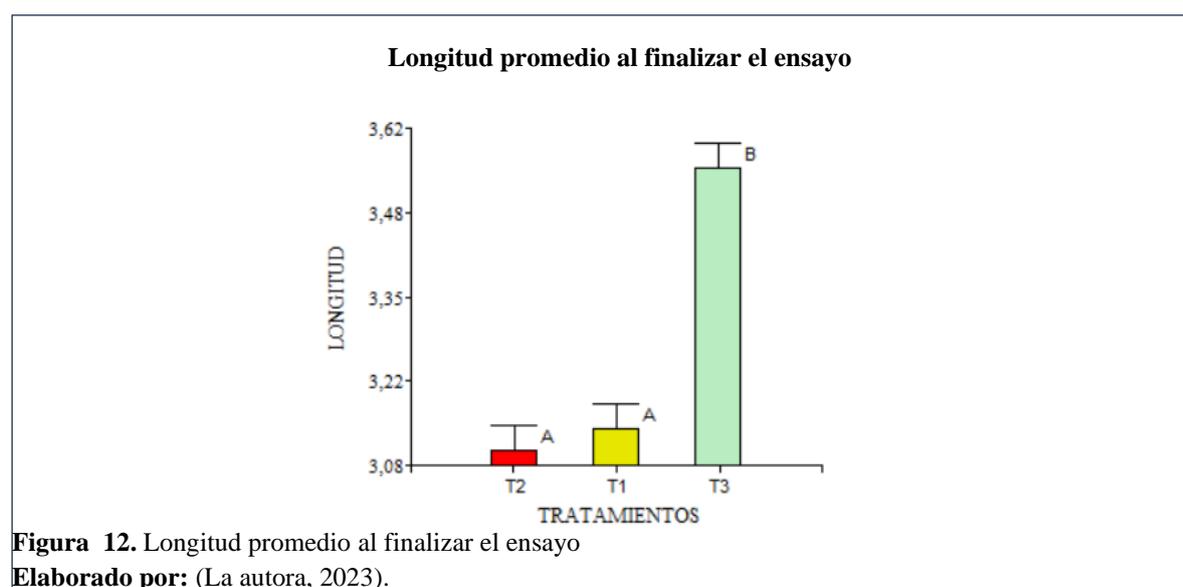


Figura 12. Longitud promedio al finalizar el ensayo

Elaborado por: (La autora, 2023).

4.6.3. Relación entre la longitud y peso en el pez cebra

Tabla 38

Relación Longitud y peso evaluados a los 30 días

Variables	Dieta <i>Moina sp</i>	Dieta Comercial	Dieta combinada
Ganancia de peso	36,8	36,8	33,3
Ganancia de longitud	51,3	49,2	59,6
Tasa de crecimiento específica %	0,0023	0,0023	0,0023

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 39.

Relación longitud y peso evaluados a los 45 días

Variables	Dieta <i>Moina sp</i>	Dieta Comercial	Dieta combinada
Ganancia de peso	68,4	73,7	90,5
Ganancia de longitud	62,7	57,9	83,9
Tasa de crecimiento específica %	0,0029	0,0031	0,0042

Elaborado por: (La autora, 2023)

Tabla 40.

Determinación del Factor K

Días evaluados	<i>Moina sp</i>	Dieta Comercial	Dieta combinada
25/4/2023	1,36	1,65	1,29
30/4/2023	1,58	1,96	1,70
5/5/2023	1,29	1,29	1,13
10/5/2023	1,24	1,21	1,17
15/5/2023	1,28	1,14	1,09
20/5/2023	1,10	1,11	1,07
25/5/2023	1,12	1,10	1,10
30/5/2023	1,15	1,20	1,03
4/6/2023	1,03	1,10	0,89
Promedio	1,26	1,31	1,16

Elaborado por: (La autora, 2023).

De acuerdo a los resultados del experimento , los organismos al ser alimentados con la dieta combinada *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae*, (T3), presentaron un buen crecimiento poblacional , tasa instantánea de crecimiento y tiempo de duplicación, esto puede deberse al aporte proteico generado por el alimento, según Suárez-Machín et al., (2016) el contenido de proteínas de *Saccharomyces cerevisiae* varía entre el 40 y el 50 % de su peso seco , en el caso de *Spirulina* es rica en minerales y péptidos antioxidantes y tiene una de las cantidades de proteína más altas registradas del 60 al 70% del peso seco, agregan los autores Cardenas et al., (2010); Gutiérrez et al., (2015); Sharma et al., (2021).

El aporte nutricional del alimento es primordial en el desarrollo de los organismos , el autor Persson, (2007) agrega que la concentración de las sustancias esenciales que tienen los suministros dietéticos determina la calidad del alimento, en este sentido ,tanto *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae* al combinarse aportan nutrientes necesarios para un buen desarrollo de los organismos. Un déficit nutricional podría generar un lento crecimiento poblacional y bajas tasas reproductivas, ya que, en este caso el organismo solo estaría utilizando el alimento para su sobrevivencia concordando con Khudiyi et al., (2018).

Otro aspecto fundamental son las condiciones a las cuales están expuestos los organismos, de acuerdo con Prieto G., (2001) destaca que los factores extrínsecos influyen en el comportamiento de los cladóceros afectando su reproducción, tiempo de duplicación, en la etapa juvenil su desarrollo puede verse afectado al mantener una iluminación y oscuridad de forma continua.

Por otro lado, los organismos que fueron alimentados solo con *Saccharomyces cerevisiae* (T2) no reportaron un buen crecimiento poblacional, tampoco una alta tasa de crecimiento instantáneo y el tiempo de duplicación fue mayor, si bien es cierto la levadura presenta grandes aportes a nivel nutricional, a pesar de ello, no es suficiente, los investigadores Loh et al., (2009)

mencionan que alimentar cladóceros únicamente con levadura presentan un valor nutricional inconsistente pudiendo ser un factor principal la deficiencia de ácidos grasos esenciales.

Del mismo modo Peña Aguado et al., (2005) citan que la levadura por sí sola es una fuente dietética deficiente para el zooplancton, aunque, podría utilizarse como complemento de otras dietas, por otra parte, es recomendable usar *Saccharomyces cerevisiae*, en cultivos a gran escala, esto podría ser debido a que en los cuerpos de agua con mayor tamaño se prolonga la vida útil del medio de cultivo, sin embargo, es importante mantener el nivel de pH adecuado, y las condiciones fisicoquímicas del agua en buen estado.

Por otra parte, Khudiyi et al., (2018), enfatiza que *Saccharomyces cerevisiae* tiene un bajo contenido de metionina e histidina y la falta del contenido total de estos aminoácidos en la dieta conduce a una disminución en la viabilidad general de los peces.

De acuerdo con Ebert, (2005) cuando las condiciones del alimento son óptimas, las hembras producen huevos partenogénicos, el tiempo de eclosión en condiciones de 20°C es de dentro de 5 a 10 días, en el caso de que las condiciones del alimento fueras deficientes el tiempo podría ser más, comparando con el presente estudio el tiempo que tarda para multiplicarse es de 4 días para el T1 y T3 mucho más rápido que el comparado con literatura, en el caso del T2 se encuentra dentro del tiempo de duplicación.

Vale recalcar que, aunque los valores de la tasa instantánea de crecimiento son bajos en los tres tratamientos, esto puede atribuirse a que inicialmente el ensayo comenzó con una densidad poblacional de 15 organismos y en la mayoría de estudios la biomasa inicial es superior a 1000 organismos.

Por otra parte, es importante mencionar que la literatura no reporta información actualizada sobre el cultivo *Moina sp*, tampoco se ha encontrado literatura en donde se evalué el efecto con

las dietas *Spirulina* en polvo combinada con *Saccharomyces cerevisiae*, no obstante, se ha comparado con estudios similares, Romero et al., (2010) usaron *Chlorella spp.* cultivada con riles orgánicos, este cultivo fue a gran escala presentando una densidad de 3,0 org/mL, en un tiempo de duplicación entre (2,7 y y 3,3) días, comparando con el actual estudio la densidad poblacional para el T3 es menor siendo 2417 organismos/L y el tiempo de duplicación promedio es mayor, Rasdi et al., (2021) reporta los siguientes resultados en su investigación, tasa de supervivencia de *M. macrocopa* alimentada con una dieta mixta a base de *Chlorella* sp y aceite de canola fue de $(109.97 \pm 32.85 \%)$, el rendimiento reproductivo no difirió de un tratamiento dietético a otro $(4,00 \pm 0,00 \text{ días})$, comparando con los resultados de esta investigación, los resultados en densidad poblacional es mayor en *Moina sp* y el tiempo de duplicación fue el mismo, el estudio de Otero et al., (2013) obtuvo mejores resultados en el tratamientos de microalgas y levadura, con valores de TCE (0.1323 ± 0.07) y $(0.1598 \pm 0.04 \text{ días}^{-1})$ TD= (5.2 ± 0.5) y (4.3 ± 0.38) días y densidad máxima poblacional de (550 ± 500) y (383 ± 200) , en base a lo antes mencionado, el actual estudio *Moina sp* tiene mejores resultados.

Por otro lado, los resultados de la concentración de proteínas en *Moina sp* fueron altos para el tratamiento (T3) con una concentración de (414 ± 25.00) la concentración obtenida se ha comparado con la curva estándar, presentando un valor superior al establecido, el (T2) obtuvo una concentración menor de (86.67 ± 11.50) es posiblemente que los organismos no hayan asimilado correctamente el alimento suministrado.

Según la literatura *Moina sp* el porcentaje de proteína varía de 60% a 66,33% citado por Radhakrishnan et al., (2019) y Prieto et al., (2006), los resultados de la presente investigación reportaron en el T1 un porcentaje de proteína del 60%, mientras que el T3 68% siendo la mejor dieta por su nivel nutricional, por último, el T2 tuvo un valor inferior de 14%, comparado con el porcentaje de otros cladóceros como es el caso de *Daphnia* que tiene un porcentaje de

proteína del 47% , los valores de proteína en el caso del T1 y T3 son superiores, en tal virtud, por el perfil nutricional reportados en el T1 T3 si cumplirían con los requerimientos del pez cebra, en el caso del T2 los resultados obtenidos están por debajo de los requerimientos para alimentar al pez cebra.

Es importante mencionar que la literatura disponible de *Moina sp* usada en la nutrición del pez cebra es nula, en tal virtud, en el presente estudio al terminar el ensayo se obtuvo resultados positivos en peso y longitud en el T3 ($0,40\pm 0.03$) y ($3,55\pm 0.12$) respectivamente, en el caso del T1 (0.33 ± 0.02) y ($3,14\pm 0.02$), y el T2 (0.32 ± 0.06) ($3,11\pm 0.06$) respectivamente, son estadísticamente iguales es decir el efecto en los peces fue el mismo, según Fowler et al., (2019) usar dietas comerciales en pez cebra (*Danio rerio*) podría tener una repercusión negativa en la salud del animal, llegando a presentar deposiciones excesivas de grasa y grasa acumulada en el hígado u otros tejidos generando un impacto negativo en la salud del pez.

En la presente investigación se pudo observar (Anexo 25) , que se generó residuos orgánicos al fondo de la pecera en el T2 , mientras que en el T1 fue nula conservando las condiciones del medio , mientras que, en el T3 la generación de residuos fue mínima., estos aspectos también influyen en el desarrollo de los peces , por tanto, sería importante considerar este aspecto ya siendo una buena alternativa remplazar el alimento comercial por el alimento vivo, concordando con Luna-figueroa & Arce- Uribe, (2018) quienes mencionan que, el alimento vivo tiene la característica de poseer un alto valor nutritivo por esta razón es importante su uso en acuicultura, además, los alimentos preferidos por los peces son los organismos del zooplancton (Lomartire et al., 2021).

El T3 (0.40 ± 0.03) ($3,5\pm 0.03$) ha mostrado mejores resultados comparado con los dos tratamientos anteriores, estudios de Siccardi et al., (2009) evaluaron los efectos en pez cebra con diferentes dietas durante 9 semanas, obteniendo para la mejor dieta elaborada en el

laboratorio una longitud y peso medio (26,4 mm) (237.1 mg) y con una dieta comercial a (18,3mm) (75,6mg) respectivamente, en base a esto se determina que los resultados obtenidos de la presente investigación superan los valores referentes a la longitud y peso.

Los resultados obtenidos de la relación entre el peso y longitud, reportaron una respuesta favorable de los peces al ser alimentados con una dieta combinada en un periodo de 45 días, por otra parte, el factor de condición 'K' de los peces experimentales estuvo sobre 1,0(1,16-1,31), lo que indica bienestar y robustez de los peces experimentales, es decir, no presentan afecciones en el crecimiento y desarrollo.

Cuando se alimentó a los peces con una dieta combinada (T3) la ganancia del peso fue menor a la longitud en un periodo de 30 días , obteniendo como resultados en peso y longitud (33,3 y 59,6) respectivamente, mientras que a los 45 días existió una ganancia en peso mayor a la longitud teniendo como resultados (90,5 y 83.9), pudiendo ser un crecimiento alométrico positivo, en el caso de las dietas individuales al comparar *Moina sp* y alimento comercial a los 30 y 45 días, la ganancia en longitud es mayor en el T1, los resultados indican que las diferencias presentadas pueden deberse al sexo , fase de crecimiento del pez , las condiciones del medio etc.

5 CONCLUSIONES

- El cultivo *Moina sp* presentó un buen crecimiento poblacional cuando fue alimentado con *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae* (T3), obteniendo una densidad promedio de $(2417 \pm 15,28)$, tasa instantánea de crecimiento de $(0,1694 \pm 0,0002)$ y un tiempo de duplicación de $(4,091 \pm 0,01)$ en un tiempo de 30 días.
- El cultivo *Moina sp* cuando fue alimentado con *Spirulina* obtuvo un crecimiento poblacional similar al (T3) con un promedio $(1790 \pm 36,06)$, una tasa instantánea de crecimiento de $(0,1594 \pm 0,0007)$ y un tiempo de duplicación de $(4,349 \pm 0,01)$ en un tiempo de 30 días.
- El cultivo *Moina sp* presentó un menor crecimiento poblacional cuando fue alimentado con *Saccharomyces cerevisiae* (T2), obteniendo como resultado promedio (613 ± 6) , una tasa instantánea de crecimiento de $(0,1237 \pm 0,0003)$ y un tiempo de duplicación de $(5,605 \pm 0,01)$ en un tiempo de 30 días.
- El cultivo *Moina sp* al ser alimentada con *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae* (T3) obtuvo un alto porcentaje de proteína del 68% mientras que el (T1) 60% y en menor nivel el (T2) con un 14% se estima la existencia de algún error en la metodología al ser demasiado diferente a los otros dos resultados.
- Al aplicar el cultivo escalar de *Moina sp* alimentada con *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae* (T3), la vida útil del cultivo se conservó por más tiempo y la densidad poblacional fue suficiente para alimentar al cultivo de peces cebra (*Danio rerio*).
- Tanto por perfil nutricional, el bajo costo para mantener este cultivo, y las condiciones propicias para el mismo, hace que *Moina sp*, sea una gran alternativa como sustituto de otros alimentos vivos como Artemia y Daphnia.

- El cultivo de peces cebra (*Danio rerio*) al ser alimentado con *Moina sp* (T1) y dieta comercial (T2) , reporto medidas en la longitud y peso estadísticamente iguales, sin embargo, se obtuvo mejores resultados al suministrar una dieta combinada, lo que quiere decir que si es conveniente remplazar el alimento comercial por el alimento vivo, al generar los mismos efectos en cuanto a su longitud y peso, sin embargo, si lo que se desea es obtener mejores resultados se puede complementar las dietas en porciones del 50% cada una.
- Al agregar una dieta viva y natural podemos determinar que la respuesta en los peces fue buena, presentando un rápido crecimiento en longitud y peso, por otro lado, la sobrevivencia no resultó afectada por el contenido proteico de los alimentos suministrados, cumpliendo con el objetivo de esta investigación.
- En el tratamiento (1) y (3) no se presencié gran cantidad de sedimento al fondo de las peceras, esto puede deberse a que *Moina sp*, fue consumida antes de que llegue al fondo de las peceras por tanto el medio no se vio afectado.
- Es de suma importancia tener al alcance alimento vivo como sustituto del alimento comercial ya que de este modo se podría mejorar el rendimiento y desarrollo en su etapa juvenil hasta su etapa reproductiva.

6 RECOMENDACIONES

- Ampliar los estudios microbiológicos, fisicoquímicos y moleculares de la especie *Moina sp* para su aplicación como ingrediente funcional en las dietas de organismos acuáticos.
- Se recomienda efectuar cultivos a mayor escala alimentados con *Spirulina* y *Saccharomyces cerevisiae* como vía nutricional para el pez cebra (*Danio rerio*)
- Esta investigación se puede complementar más adelante con diversos factores, que posiblemente afecten el desarrollo de *Moina sp* de modo que se pueda determinar la respuesta del organismo.
- Respecto a la concentración del alimento en el caso de *Saccharomyces cerevisiae* se debe alimentar a una concentración inferior a 0.002 mg/mL para prolongar la vida útil del cultivo y obtener mejores resultados.
- En cuanto a los ensayos de proteínas, se debe tomar en cuenta la preparación correcta de las soluciones para la extracción y cuantificación de proteína, el protocolo aplicado para la extracción de proteínas fue eficaz para la ruptura celular del organismo *Moina sp*, sin embargo, se recomienda más pruebas bioquímicas.
- Alimentar al pez cebra con *Moina sp* conforme a la biomasa y al peso promedio de la misma, no sobrealimentar a los peces ya que esto se puede ver reflejado de manera negativa en la salud de los peces.
- Es importante más estudios en cuanto a la nutrición del pez cebra y otras especies, tomar en cuenta los pigmentos en la formulación y selección de las dietas, ya que pueden influir en la coloración de los organismos, generando más apreciación por el comprador.
- Dar seguimiento a los parámetros fisicoquímicos del agua del medio de cultivo en donde se desarrollan los organismos, mediante gráficas de control.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Abo-Taleb, H. A., Ashour, M., Elokaby, M. A., Mabrouk, M. M., & Mansour, A. T. (2021). *Effect of a New Feed Daphnia magna (Straus , 1820), as a Fish Meal Substitute on Growth , Feed Utilization , Histological Status , and Economic Revenue of Grey Mullet , Mugil cephalus (Linnaeus 1758)*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/su13137093>
- Adi Nugroho, T. S., Ekasari, J., Jusadi, D., & Setiawati, M. (2021). Productivity and quality of Moina sp. cultivated with various culture medium. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 20(2), 148–162. <https://doi.org/10.19027/jai.20.2.148-162>
- Agboola, J. O., Øverland, M., Skrede, A., & Hansen, J. Ø. (2021). Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: a review of the implications for aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*, 13(2), 949–970. <https://doi.org/10.1111/raq.12507>
- Agrocaliad. (2013). Instructivo de la normativa general para promover y regular la producción orgánica-ecológica-biológica en el Ecuador. *Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*, 202. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/by3.pdf>
- Alonso, M., Neretina, A. N., Sanoamuang, L. O., Saengphan, N., & Kotov, A. A. (2019). A new species of Moina Baird, 1850 (Cladocera: Moinidae) from Thailand. *Zootaxa*, 4554(1), 199–218. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4554.1.6>
- Arrieta, M., & González, M. (2021). *Calidad nutricional de presas vivas utilizadas en la primera alimentación de Bryconidos*. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/3905>
- Balbuena Rivarola, E. D., Rios Morinigo, V. M., Flores Nava, A., Meza, J., & Galeano, A.

- (2011). Manual básico de sanidad piscícola. *FAO*.
<https://www.fao.org/3/as830s/as830s.pdf>
- Bambino, K., & Chu, J. (2017). Zebrafish in Toxicology and Environmental Health. *Current Topics in Developmental Biology*, 124, 331–367.
<https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.10.007>
- Bekker, E. I., Karabanov, D. P., Galimov, Y. R., & Kotov, A. A. (2016). DNA barcoding reveals high cryptic diversity in the north Eurasian *Moina* species (crustacea: Cladocera). *PLOS ONE*, 11(8), 3–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161737>
- Bocek, A. (2016). *Acuicultura y aprovechamiento del Agua para el desarrollo rural alimentando a sus peces*.
[https://aurora.auburn.edu/bitstream/handle/11200/49654/Spanish Feeding Your Fish.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://aurora.auburn.edu/bitstream/handle/11200/49654/Spanish_Feeding_Your_Fish.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
- Bondad, M. G., Subasinghe, R. P., Josupeit, H., Cai, J., & Zhou, X. (2012). The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: Past, present and future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(2), 158–165.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.03.010>
- Brito, A. de F., Silva, A. S., de Oliveira, C. V. C., de Souza, A. A., Ferreira, P. B., de Souza, I. L. L., da Cunha Araujo, L. C., da Silva Félix, G., de Souza Sampaio, R., Tavares, R. L., de Andrade Pereira, R., Neto, M. M., & da Silva, B. A. (2020). *Spirulina platensis* prevents oxidative stress and inflammation promoted by strength training in rats: dose-response relation study. *Scientific Reports*, 10(1), 6382. [https://doi.org/10.1038/s41598-020-63272-](https://doi.org/10.1038/s41598-020-63272-5)

- Cardenas, J., Diaz, M., & Vizcaino, M. (2010). Industrialización del alga Spirulina. *Reciteia*, 10(1), 41. <https://www.researchgate.net/publication/259601864>
- Cardona, V., Brugnoli, E., Díaz-ferguson, E., Biología, E. De, & Rica, C. (2021). *Biología y métodos de estudio del zooplancton gelatinoso con énfasis en investigaciones del pacífico este tropical*. 23, 273–287. 1: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/224/2242372016/index.html>
- Cassar, S., Adatto, I., Freeman, J. L., Gamse, J. T., Iturria, I., Lawrence, C., Muriana, A., Peterson, R. T., Van Cruchten, S., & Zon, L. I. (2020). Use of Zebrafish in Drug Discovery Toxicology. *Chemical Research in Toxicology*, 33(1), 95–118. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00335>
- Castilho, M. S. M., Câmara, C. F., Chicone, M. F., & Shibata, É. H. (2010). Pelagic and littoral cladocerans (Crustacea, Anomopoda and Ctenopoda) from reservoirs of the Northwest of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropica*, 10(1), 21–30. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000100001>
- Castillo Salas, D. L., Gaytán Oyarzun, J. C., López Herrera, M., & Sánchez Olivares, M. A. (2022). Pez cebrá (Danio rerio): modelo experimental en la evaluación de compuestos xenobióticos. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 10(19), 61–65. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10i19.8870>
- Castro Mejía, G., Castro Mejía, J., Malpica Sánchez, A., Orbe, R. I., Mazatlán, C., Llosa, G., Castro Barrera, T., & De Lara Andrade, R. (2003). Alimento vivo en la acuicultura. *Memoria VI Congreso Sobre Manejo de Fauna Silvestre En La Amazonía y Latinoamérica*, 48, 27–33. http://www.produccionbovina.com/produccion_peces/piscicultura/23-

alimento_larvas.pdf%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=int
itle:Alimento+vivo+en+la+acuicultura#0

Chakravarthy, A. K., & Sridhara, S. (2016). Arthropod diversity and conservation in the tropics and sub-tropics. *Arthropod Diversity and Conservation in the Tropics and Sub-Tropics*, November, 1–435. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-1518-2>

Collymore, C., Crim, M. J., & Lieggi, C. (2016). Recommendations for Health Monitoring and Reporting for Zebrafish Research Facilities. *Zebrafish*, 13(S1), S-138-S-148. <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1210>

Conde Pouna, J., Ramos Rodríguez, E., & Morales Baquero, R. (2004). *El zooplancton como integrante de la estructura trófica de los ecosistemas*. 13(2), 23–29.

Datta, S. N., Kaur, V. I., Dhawan, A., & Jassal, G. (2013). Estimation of length-weight relationship and condition factor of spotted snakehead *Channa punctata* (Bloch) under different feeding regimes. *SpringerPlus*, 2(1), 436. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-436>

Dawind, I. B. (2004). Developmental Biology of Zebrafish. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1038(1), 88–93. <https://doi.org/10.1196/annals.1315.015>

Ebert, D. (2005). *Chapter 2 . Introduction to Daphnia Biology Physiology , Metabolism , and Immunity*. National Center for Biotechnology Informationational Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2042/>

Elmoor-Loureiro, L. M. A., Santangelo, J. M., Lopes, P. M., & Bozelli, R. L. (2010). A new report of *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Cladocera, Anomopoda) in South America. *Brazilian Journal of Biology*, 70(1), 225–226. <https://doi.org/10.1590/S1519->

69842010000100031

- Encarnaç o, P. (2016). Functional feed additives in aquaculture feeds. In *Aquafeed formulation* (pp. 217–237). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800873-7.00005-1>
- Espinosa, M. B. (2016). El Pez Cebra : una herramienta en educación The Zebrafish: A Tool in Education. *Revista de Educación En Biología*, 19(1), 11–18. <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/revistaadbia/article/view/22527>
- Etil , R. N., B dia, T. A., Blahoua, G. K., Bi, G. G., Kouamelan, P. E., & N’douba, V. (2020). Checklist and distribution of freshwater cladocera (Crustacea: Branchiopoda) in Côte d’Ivoire (West Africa). *Zoological Studies*, 59, 1–14. <https://doi.org/10.6620/ZS.2020.59-31>
- FAO. (2008). A review on culture , production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *Aquaculture*, 1034(1034), 33pp. <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2010/XF/XF0906.xml;XF2009437877>
- FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acci n. In *Marine Pollution Bulletin* (Vol. 3, Issues 1–2). <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- Farid, F., Sideeq, O., Khan, F., & Niaz, K. (2019). *Saccharomyces cerevisiae*. In *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* (pp. 501–508). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00066-7>
- Feldmann, H. (2012). Yeast. In H. Feldmann (Ed.), *Yeast: Molecular and Cell Biology: Second Edition*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527659180>
- Forró, L., Korovchinsky, N. M., Kotov, A. A., & Petrusek, A. (2008). Global diversity of

- cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595(1), 177–184.
<https://doi.org/10.1007/s10750-007-9013-5>
- Fowler, L. A., Williams, M. B., Dennis-Cornelius, L. N., Farmer, S., Barry, R. J., Powell, M. L., & Watts, S. A. (2019). Influence of Commercial and Laboratory Diets on Growth, Body Composition, and Reproduction in the Zebrafish *Danio rerio*. *Zebrafish*, 16(6), 508–521. <https://doi.org/10.1089/zeb.2019.1742>
- Fuentes-Reines, J. M., De Roa, E. Z., Morón, E., Gámez, D., & Carlos, L. (2012). *Conocimiento de la fauna de cladocera (Crustacea : Branchiopoda) de la ciénaga grande de Santa Marta, Colombia*. 41(1), 121–164.
<https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9145>
- Gacha Garay, M. J., Akle, V., Enciso, L., & Garavito Aguilar, Z. V. (2017). La leucemia linfoblástica aguda y modelos animales alternativos para su estudio en Colombia. *Revista Colombiana de Cancerología*, 21(4), 212–224.
<https://doi.org/10.1016/j.rccan.2016.10.001>
- Góngora-Landeros, E., Uría-Galicia, E. A., Martínez- Jerónimo, F. F., & López-Villegas, E. O. (2010). Descripción Histológica de la Cámara Incubatriz de *Moina hutchinsoni* (Brem , 1937). *International Journal of Morphology*, 28(4), 1025–1030.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000400007>
- Grainger, R. (2016). Fisheries and aquaculture. In *Routledge Handbook of Food and Nutrition Security* (pp. 153–168). <https://doi.org/10.1201/9781134186310-18>
- Guillen, J., Calvillo, A., Mosqueda, J., Rodríguez, A., & Jaramillo, F. (2020). Espirulina un suplemento alimenticio como posible alternativa en el control de peso. Un estudio con

- ratas Wistar. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 11(1), 49–56.
<https://doi.org/10.36610/j.jsars.2020.110100049>
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2023). *Spirulina Turpin ex Gomont, 1892*. AlgaeBase.
<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=146541> el 2023-07-16
- Gutiérrez, G., Fabila, L., & Chamorro, G. (2015). Nutritional and toxicological aspects of spirulina (Arthrospira). *Nutricion Hospitalaria*, 32(1), 34–40.
<https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.9001>
- Gutiérrez, M. (2017). Diminuto y fundamental Zooplankton de agua dulce. *Ecofronteras*, 21(59), 5–6. <https://revistas.ecosur.mx/ecofronteras/index.php/eco/article/view/1702>
- Gutiérrez, M. E. (2014). Zooplankton de agua dulce especies exóticas, posibles vías de introducción. *Especies Acuáticas Invasoras En México*, 309–315.
<https://xdoc.mx/documents/zooplankton-de-agua-dulce-especies-exoticas-posibles-vias-de-5f8285a4055df>
- Harper, C., & Lawrence, C. (2011). The Laboratory Zebrafish. In *The Laboratory Zebrafish*.
<https://doi.org/10.1201/b13588>
- Harvey, B., Soto, D., Carolsfeld, J., Beveridge, M., & Bartley, D. . (2017). Planning for aquaculture diversification: the importance of climate change and other drivers. In *FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings No. 47*.
- Hosseini, S., Shahbazizadeh, S., Khosravi-Darani, K., & Mozafari, M. (2013). Spirulina paltensis: Food and Function. *Current Nutrition & Food Science*, 9(3), 189–193.
<https://doi.org/10.2174/1573401311309030003>
- Iswara, A., Choirun Nisa', F., Herlambang, N. I., Alamsjah, M. A., Agustono, & Qori Tartila,

- S. S. (2018). Moina sp. Powder Supplementation as Artemia sp. Substitute Through Growth, Lysine, Histidine, Methionine, and Leucine Amino Acid Contents in Tiger Grouper x Camouflage Grouper Hybrid Larvae (Epinephelus fuscoguttatus x Epinephelus microdon). *Omni-Akuatika*, 14(3), 66–74. <https://doi.org/10.20884/1.oa.2018.14.3.433>
- Jiménez, D., Rosas, J., Velásquez, A., Millán, J., & Cabrera, T. (2003). *Crecimiento poblacional y algunos aspectos biológicos del cladocero Moina macrocopa (Straus, 1820) (Branchiopoda, Anomopoda), alimentado con tres dietas en tres salinidades diferentes*. *Population growth and some biological aspects of Moina macrocopa*. 11(March), 22–30. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9145>
- Jordão, R., Campos, B., Lemos, M. F. L., Soares, A. M. V. ., Tauler, R., & Barata, C. (2016). Induction of multixenobiotic defense mechanisms in resistant Daphnia magna clones as a general cellular response to stress. *Aquatic Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.03.015>
- José de Paggi, S. B., & Paggi, J. C. (2015). El zooplancton de los grandes ríos sudamericanos con planicie de inundación. *Fabibic*, 18, 166–194. <https://doi.org/10.14409/fabibic.v18i0.4853>
- Kabery, K., Anisuzzaman, M., Jeong, U.-C., & Kang, S.-J. (2019). Culture of Moina macrocopa Using Different Types of Organic Wastes. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 4(1), 1–13. <https://doi.org/10.9734/ajfar/2019/v4i130045>
- Kamrunnahar, K., Md, A., Jeong, U. C., & Kang, S. J. (2019). Mass culture of Moina macrocopa using organic waste and its feeding effects on the performance of Pagrus major larvae. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 45(1), 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.02.001>

- Kandathil Radhakrishnan, D., AkbarAli, I., Schmidt, B. V., John, E. M., Sivanpillai, S., & Thazhakot Vasunambesan, S. (2020). Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture: An overview. *Aquaculture Research*, 51(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/are.14357>
- Khudiyi, O., Kushniryk, O., Khuda, L., & Marchenko, M. (2018). *Differences in Nutritional Value and Amino Acid Composition of Moina macrocopa (Straus) Using Yeast Saccharomyces cerevisiae and Rhodotorula glutinis as Fodder Substrates*. 68, 27–34. <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.68.27>
- Kopecká, J., Matoulková, D., & Némec, M. (2012). Yeast and its uses. *Kvasny Prumysl*, 58(11–12), 326–335. <https://doi.org/10.18832/kp2012029>
- Kovacevie, M. (2015). *Morphological and physiological characteristics of the yeast Saccharomyces cerevisiae cells differing in the life span*. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:444555>
- Lagos, A. M., Angulo, A., Daza, A., Toro, D., Gonzalez, J. A., León, M. V., López, M., Naar, O., Polanco, P. P., Londoño, R., & Quiroga, S. (2014). Zooplankton. *InfoZoa*, 3, 1–22. https://www.unimagdalena.edu.co/Content/Public/Docs/Entrada_Facultad3/adjunto_1029-20181004104749_622.pdf
- Láinez, J. M. M. (2017). Regulación del ciclo celular por ploidía en *Saccharomyces cerevisiae*. In *Universidad Autónoma Agraria*. <http://hdl.handle.net/10803/461358>
- Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). *Manual on the production and use of live food for aquaculture*.
- Lawrence, C. (2007). The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*, 269(1–

4), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.077>

Ley Organica de Recursos Hidricos Usos y Aprovechamiento del Agua. (2014). Título I. Sistema Nacional Descentralizado de Gestión Ambiental. *Registro Oficial Suplemento N° 305*, 43. <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12114/623>

Loh, J. Y., How, C. W., Hii, Y. S., & Khoo, G. (2009). Fish faeces as a potential food source for cultivating the water flea , *Moina macrocopa* Fish faeces as a potential food source for cultivating the water flea , *Moina macrocopa*. *Journal of Science and Technology in the Tropics*, May 2014. <https://www.bing.com/search?q=Fish+faeces+as+a+potential+food+source+for+cultivating+the+water+flea%2C+Moina+macrocopa+Jiun+doi&cvid=63ca1d09bc51406996dd1e4ea2f39f94&aqs=edge..69i57.2611j0j4&FORM=ANAB01&PC=U531>

Lomartire, S., Marques, J. C., & Gonçalves, A. M. M. (2021). The key role of zooplankton in ecosystem services: A perspective of interaction between zooplankton and fish recruitment. *Ecological Indicators*, 129(February), 107867. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107867>

López, C., Mosquera, P. V., Hampel, H., Neretina, A. N., Alonso, M., Van Damme, K., & Kotov, A. A. (2018). An annotated checklist of the freshwater cladocerans (Crustacea: Branchiopoda: Cladocera) of Ecuador and the Galápagos Islands. *Invertebrate Zoology*, 15(3), 277–291. <https://doi.org/10.15298/invertzool.15.3.06>

Lowry, O. H., Roserbrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)

- Luna-figueroa, J., & Arce- Uribe, E. (2018). Un menú diverso y nutritivo en la dieta de peces : “El alimento vivo.” *Agro Productividad*. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/985>
- Luna Figueroa, J., Uribe, E., & Figueroa, J. (2019). *Ventajas e inconvenientes del uso de alimento vivo en la nutrición de peces*. *April*. <https://doi.org/10.30973/inventio/2018.14.33/5>
- Luthada-Raswiswi, R., Mukaratirwa, S., & O’Brien, G. (2021). Animal Protein Sources as a Substitute for Fishmeal in Aquaculture Diets: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Applied Sciences*, *11*(9), 3854. <https://doi.org/10.3390/app11093854>
- Makino, W., Machida, R. J., Okitsu, J., & Usio, N. (2019). Underestimated species diversity and hidden habitat preference in *Moina* (Crustacea , Cladocera) revealed by integrative taxonomy. *Hydrobiologia*, *3*. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-04147-3>
- Malpartida Y., R., Aldana F., L., Sánchez S., K., Gómez H., L., & Lobo P., J. (2022). El valor nutricional y compuestos bioactivos de la Espirulina: Potencial suplemento alimenticio. *Ecuadorian Science Journal*, *6*(1), 42–51. <https://doi.org/10.46480/esj.6.1.133>
- Manickam, N., Saravana Bhavan, P., Santhanam, P., Muralisankar, T., Srinivasan, V., Vijayadevan, K., & Bhuvanewari, R. (2015). Biodiversity of freshwater zooplankton and physico-chemical parameters of Barur Lake, Krishnagiri District, Tamil Nadu, India. *Malaya Journal of Biosciences*, *2015*(1), 1–12. <https://www.researchgate.net/publication/280157952>
- Markowski, D. (2011). “*Danio rerio*” (On-line). Animal Diversity Web. Recuperado el 10 de Julio del 2023 de https://animaldiversity.org/accounts/Danio_rerio/

- Marques, I. J., Lupi, E., & Mercader, N. (2019). Model systems for regeneration: zebrafish. *Development*, 146(18). <https://doi.org/10.1242/dev.167692>
- Matus, M. (2013). *Expresión diferencial de proteínas en juveniles de ostión japonés Crassostrea gigas expuestos a organismos del género Prorocentrum spp.* <http://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/1558>
- Menke, A. L., Spitsbergen, J. M., Wolterbeek, A. P. M., & Woutersen, R. A. (2011). Normal anatomy and histology of the adult zebrafish. *Toxicologic Pathology*, 39(5), 759–775. <https://doi.org/10.1177/0192623311409597>
- Metz, J. R., Leeuwis, R. H. J., Zethof, J., & Flik, G. (2014). Zebrafish (*Danio rerio*) in calcium-poor water mobilise calcium and phosphorus from scales. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(4), 671–677. <https://doi.org/10.1111/jai.12513>
- Mitra, G., Mukhopadhyay, P. K., & Ayyappan, S. (2007). Biochemical composition of zooplankton community grown in freshwater earthen ponds: Nutritional implication in nursery rearing of fish larvae and early juveniles. *Aquaculture*, 272(1–4), 346–360. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.026>
- Myers, P., R., Espinosa, C. S., Parr, T. Jones, G. S., Hammond, & Dewey. (2023). *Moina* *Taxonomía*. The Animal Diversity Web (Online). <https://animaldiversity.org>
- Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2019). Reproductive strategies of *Moina* (Cladocera) in relation to their habitat. *Limnetica*, 38(1), 137–145. <https://doi.org/10.23818/limn.38.15>
- Napolitano, G., Venditti, P., Agnisola, C., Quartucci, S., Fasciolo, G., Muscari Tomajoli, M. T., Geremia, E., Catone, C. M., & Ulgiati, S. (2022). Towards sustainable aquaculture systems: Biological and environmental impact of replacing fishmeal with *Arthrospira*

- platensis (Nordstedt) (spirulina). *Journal of Cleaner Production*, 374(May), 133978.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.133978>
- NCBI. (1822). Danio rerio. *Taxonomia de NCBI*, 10–11. Recuperado el 10 de Julio del 2023 de
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=7955>
- NCBI. (2023). *PubChem Taxonomy Summary for Taxonomy 4932, Saccharomyces cerevisiae (baker's yeast)*. Recuperado el 16 de Julio del 2023 de
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/Saccharomyces-cerevisiae> .
- NTE INEN-ISO 10523. (2008). *Calidad Del Agua Determinación Del Ph*. 1–21.
<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/10523-UNIDO-EX.pdf>
- NTE INEN-ISO 5667-16. (1998). *Calidad del agua. Muestreo. Parte 16: guía para los ensayos biológicos de muestras*.
https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_5667-16.pdf
- NTE INEN-ISO 6341. (2013). *Calidad de Agua. Determinación de la inhibición de la movilidad de Daphnia magna straus (Cladocera custacea) ensayo de toxicidad de agua*.
https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_6341.pdf
- NTE INEN-ISO 7346-1. (2014). *Calidad del agua. Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias frente a un pez de agua dulce [brachydanio rerio hamilton-buchanan (teleostei, cyprinidae)]. Parte 1: Método estático*.
https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_7346_1.pdf
- Oca, R. M. de, Salem, A. Z. ., Kholif, A. ., Monroy, H., Pérez, L. ., Zamora, J. ., & Gutiérrez, A. (2016). Yeast : Description and Structure Chapter 2 Yeast : Description and Structure. *Yeast Additive and Animal Production*, 10457(February), 3–13.

<https://www.researchgate.net/publication/293605511>

- Olascoaga, T., & Luna, J. (2005). Aprovechamiento de alimento vivo *Culex quinquefasciatus* en la dieta del pez cebra *Brachidanio rerio* (Pisces: Cyprinidae) con énfasis en la reproducción. *AquaTIC: Revista Electrónica de Acuicultura*, 22, 20–25.
- Olicos, A. P., Complemento, U. N., & Saludable, A. (2012). *El pez cebra, al servicio de la investigación en cáncer*. 1–4. <http://hdl.handle.net/10201/29730>
- Otero, A., Muñoz, M., Medina, V., & Cruz, P. (2013). Efecto del alimento sobre variables productivas de dos especies de cladóceros bajo condiciones de laboratorio. *Revista MVZ Cordoba*, 18, 3642–3647. <https://doi.org/10.21897/rmvz.130>
- Parapouli, M., Vasileiadi, A., Afendra, A.-S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(1), 1–32. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001>
- Pascual, J. A. F., Rizo, E. Z. C., Han, B., Dumont, H. J., & Papa, R. D. S. (2014). Taxonomy and distribution of four cladoceran families (Branchiopoda: Cladocera: Moinidae, Bosminidae, Chydoridae and sididae) in Philippine inland waters. *Raffles Bulletin of Zoology*, 62(December), 771–794. <http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:291D68B9-3EB0-4E7D-B71A-AB4DCF3E4D17>
- Peña Aguado, F., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2005). Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologica*, 35(4), 298–303. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2005.08.002>
- Perdomo, M. C., Vargas, R. E., & Campos, G. (2004). Valor nutritivo de la levadura de

- cervecería (*Saccharomyces cerevisiae*) y de sus derivados, extracto y pared celular, en la alimentación aviar. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, January 2004, 12(5), 89-95.
https://www.researchgate.net/publication/255631087_Valor_nutritivo_de_la_levadura_de_cerveceria_Saccharomyces_cerevisiae_y_de_sus_derivados_extracto_y_pared_celular_en_la_alimentacion_aviar
- Persson, J. (2007). *Food Quality Effects on Zooplankton Growth and Energy Transfer in Pelagic Freshwater Food Webs* [Acta Universitatis]. <https://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A170062&dswid=-2738>
- Petrusek, A. (2002). *Moina (Crustacea : Anomopoda , Moinidae) in the Czech Republic : a review*. May 1921, 213–220.
https://www.researchgate.net/publication/232709437_Moina_Crustacea_Anomopoda_Moinidae_in_the_Czech_Republic_a_review
- Prado, P. J. P., Aguirre, W., Laaz Moncayo, E., Navarrete Amaya, R., Salazar Nugra, F., Rebolledo Monsalve, E., Zarate Hugo, E., Torres Hugo, A., & Valdiviezo Rivera, J. (2015). *Gúia de peces para aguas continentales en la vertiente occidental del Ecuador* (Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Sede Esmeraldas (ed.); Primera ed).
- Praveenraj, J., Kiruba-Sankar, R., Dam Roy, S., Lohith, K., Shailesh, K., Raymond Jani Angel, J., & Venkatesh Thakur, R. (2017). *Danio rerio (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae): A new record from andaman Islands, India*. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 47(4), 391–396. <https://doi.org/10.3750/AIEP/02242>
- Prieto G., M. (2001). Aspectos reproductivos del cladocero *Moinodaphnia* sp. en condiciones de laboratorio. *Revista MVZ Córdoba*. <https://doi.org/10.21897/rmvz.530>

- Prieto, M. (2006). Alimento vivo y su importancia en acuicultura. *Departamento de Ciencias Acuícolas - Universidad de Córdoba*, 3. <http://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/viewFile/1597/1939>
- Prieto, M. ., & Atencio, V. (2008). Zooplancton en la larvicultura de peces neotropicales. *Revista MVZ Cordoba*, 13(2), 1415. <https://doi.org/10.21897/rmvz.401>
- Prieto, M., De la Cruz, L., & Morales, M. (2006). Cultivo experimental del cladocero *Moina* sp alimentado con *Ankistrodesmus* sp y *Saccharomyces cereviseae*. *Revista MVZ Córdoba*, 11(1), 705–714. <https://doi.org/10.21897/rmvz.455>
- Rahman Khan, F., & Sulaiman Alhewairini, S. (2019). Zebrafish (*Danio rerio*) as a Model Organism. In *Current Trends in Cancer Management*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81517>
- Ramírez -Merlano, J. A., Mira- López, T., & Cruz-Casallas, P. E. (2013). Efecto de la intensidad lumínica sobre la eficiencia reproductiva del cladóceros *Moina* sp. bajo condiciones de laboratorio. *Orinoquia*, 17(2), 177. <https://doi.org/https://doi.org/10.22579/20112629.4>
- Ramírez, M., Rendón, L., Ocampoz, C., & Sánchez, D. (2022). Fish Food Production Using Agro-Industrial Waste Enhanced with *Spirulina* sp. *Sustainability (Switzerland)*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/su14106059>
- Ramos, J., & Napa, J. (2018). Abundancia, composición y diversidad del zooplancton en la zona de Cojimíes–Manabí, durante los meses de mayo-octubre del 2018. *Revista de Ciencias Del Mar y Acuicultura “YAKU,”* 3(5), 21–40.
- Rasdi, N. W., Yuslan, A., Suhaimi, H., Qin, J. G., Naseer, N. M., Ikhwanuddin, M., Sung, Y. Y., Yusoff, F. M., & Hagiwara, A. (2021). The impact of feeding algae and canola oil on

- the growth, survival and reproduction of *Moina* sp. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 43(3), 864–870. <https://doi.org/10.14456/sjst-psu.2021.114>
- Reed, B., & Jennings, M. (2011). Guidance on the housing and care of Zebrafish *Danio rerio*. *Research Animals Department, Science Group, RSPCA*, 1–27. <https://science.rspca.org.uk/documents/1494935/9042554/Guidance+on+the+housing+and+care+of+zebrafish.pdf/a4982df2-1499-52bd-d866-9c5706ddda09?t=1552901798437>
- Roca, P., Oliver, J., & Rodríguez, A. (2003). *Bioquímica técnicas y métodos*.
- Rocha, G. S., Katan, T., Parrish, C. C., & Gamperl, K. (2017). Effects of wild zooplankton versus enriched rotifers and *Artemia* on the biochemical composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. In *aquaculture*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.025>
- Rodmongkoldee, M., Taparhudee, W., & Saengphan, N. (2019). *Biographical study of three species of water flea (Cladocera: Moinidae) in Thailand in a laboratory*. 25(N°1), 129–140. <http://science.buu.ac.th/ojs246/index.php/sci/article/view/2893>
- Rodriguez, W., Sanchez, F., & Alcántara, F. (2016). *Efecto de la harina de pescado y del agua verde con dominancia de Chlorella sp . and Scenedesmus sp . en la producción experimental de Moina sp . (Cladocera)*. 25(2), 129–136. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.24841/FA.V25I2.396>
- Romero, T., Manso, B., López, R., Martínez, F., & Moreno, M. (2010). *Producción de Moina sp alimentada con Chlorella spp . cultivada con riles orgánicos de la industria pesquera cubana - Production of Moina sp fed with Chlorella spp . developed in organic waste waters from Cuban fishing industry*. 11, 1–20. <https://aquadocs.org/handle/1834/3592>

- Ronge, B. (2018). *Revista Industria Acuicola Producción comercial de copepodos*. 12–15.
https://issuu.com/industriaacuicola/docs/revista_25_ene
- Rottmann, R. W. (1992). Culture Techniques of Moina: Ideal Daphnia for Feeding Freshwater Fish Fry. *The Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS)*, 1–6.
- Samanez, I., Rimarachin, V., Palma, C., Arana, J., Ortega, H., Correa, V., & Hidalgo, M. (2014). *Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú*. 49(1), 25–27. <https://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/21/2014/02/Métodos-de-Colecta-identificación-y-análisis-de-comunidades-biológicas.compressed.pdf>
- Santhanam, P., Begum, A., & Pachiappan, P. (2018). *Basic and applied Zooplankton biology*. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-7953-5>
- Santhanam, P., Selvaraju, A., Salt, C., Raju, P., Kaviyarasan, M., Divya, M., Krishnaveni, N., Balakrishnan, S., Manickam, N., Veeramani, T., Muralisankar, T., & Perumal, P. (2020). *Culture of Different Live Fish Food Organisms* (Issue August). <https://doi.org/10.1201/9781003107583-13>
- Santoriello, C., & Zon, L. I. (2012). Hooked! Modeling human disease in zebrafish. *Journal of Clinical Investigation*, 122(7), 2337–2343. <https://doi.org/10.1172/JCI60434>
- Scholar, P., Acuicultura, D., Nadu, T., Nadu, T., Nadu, T., & Acuicultura, D. (2019). *Functional feed additives used in fish feeds*. 7(3), 44–52.
- Sharma, S. A., Surveswaran, S., Arulraj, J., & Velayudhannair, K. (2021). Bromelain enhances digestibility of Spirulina-based fish feed. *Journal of Applied Phycology*, 33(2), 967–977.

<https://doi.org/10.1007/s10811-020-02337-4>

Shen, C.-H. (2019). *Quantification and Analysis of Proteins*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802823-0.00008-0>

Siccardi, A. J., Heath W, G., Warren, J., Dorothy B, M., Abramo, L. R. D., & Watts, S. A. (2009). Fed Different Commercial and Laboratory Diets. *ZEBRAFISH*, 6(3). <https://doi.org/10.1089=zeb.2008.0553>

Slotwinski, A., Coman, F., & Richardson, A. J. (2014). *Introductory Guide to Zooplankton Identification*. https://www.eoas.ubc.ca/~swaterma/473-573/Handouts/IntroductoryZooplanktonFieldGuide_2014.pdf

Suárez-Machín, C., Garrido-Carralero, N. A., & Guevara-Rodríguez, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Aña de Azúcar*, 50(1m), 20–28.

Suthers, I. M., & Rissik, D. (2008). *Plankton , a guide to their ecology and monitoring for water quality* (D. Iain M. Suthers (ed.)). CSIRO Pub.

Suyama, I. M., Barison, L., Dos Santos, S. S., Paraíso, C. M., Stafussa, A. P., & Madrona, G. S. (2020). Aplicação da microalga *Spirulina* spp. em iogurte liofilizado. *Scientia Plena*, 16(2), 1–8. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.021502>

Teame, T., Zhang, Z., Ran, C., Zhang, H., Yang, Y., Ding, Q., Xie, M., Gao, C., Ye, Y., Duan, M., & Zhou, Z. (2019). The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers*, 9(3), 68–77. <https://doi.org/10.1093/af/vfz020>

Téllez Mora, A., Sánchez, E. R., & Garduño, L. A. (2020). *Alteraciones en el desarrollo embrionario del pez cebra *Danio rerio* causadas por factores químicos*. Universidad La

Salle, Dirección de Posgrado e Investigación.

- Toledo Pérez, J. S., Capote, G., & Centro, M. C. (2019). Nutrición y Alimentación de Tilapia Cultivada en América Latina y el Caribe. *Avances En Nutrición Acuícola IV*, 537, 83–137. <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/292>
- Utrillas, M. J. V. (2004). *Alteraciones fisiológicas en el crustáceo daphnia magna por exposición a plaguicidas* [Universitat de València]. <http://hdl.handle.net/10550/15079>
- Vega, M. F. (2015). *Estudio inmunohistoquímico de la distribución del receptor opioide delta (DOR1) en el encéfalo adulto del pez cebra (Danio rerio) y su relación con la Mer/ Leu encefalina*. <http://hdl.handle.net/2183/16056>
- Velasco Garzón, J. S., & Gutiérrez Espinosa, M. C. (2019). Aspectos nutricionales de peces ornamentales de agua dulce. *Revista Politécnica*, 15(30), 82–93. <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v15n30a8>
- Vishwanath, W. (2010). *Danio rerio*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2010*. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T166487A6219667.en>
- Walker, G., & Stewart, G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), 30. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
- Wan, D., Wu, Q., & Kuča, K. (2021). Spirulina. In *Nutraceuticals* (pp. 959–974). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821038-3.00057-4>
- Westerfield, M. (2010). Chapter 1 General Methods for Zebrafish Care. *Zebrafish*, 2010.
- Wixon, J. (2000). *Danio rerio*, the Zebrafish. *Yeast*, 1(3), 225–231. [https://doi.org/10.1002/1097-0061\(20000930\)17:3<225::AID-YEA34>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000930)17:3<225::AID-YEA34>3.0.CO;2-5)

- Wizilla, J. J., Mohd, K. S., Natrah, I., Fatimah, M. Y., & Zarirah, Z. (2022). Development of enriched *Artemia* and *Moina* in larviculture of fish and crustaceans: a review. *Latin American Journal of Aquatic Research*, *50*(2), 144–157. <https://doi.org/10.3856/vol50-issue2-fulltext-2840>
- Wojewódka, M., Zawisza, E., Cohuo, S., Macario-González, L., Schwalb, A., Zawiska, I., & Pérez, L. (2016). Ecology of cladocera species from central America based on subfossil assemblages. *Advances in Oceanography and Limnology*, *7*(2), 151–162. <https://doi.org/10.4081/aiol.2016.6266>
- Wurmann G, C. (2019). Acuicultura en América Latina y El Caribe: Progresos, oportunidades y desafíos. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura.*, *1*(1), 1. <https://doi.org/10.33936/at.v1i1.2144>
- Yuslan, A., Najuwana, S., Hagiwara, A., Ghaffar, M. A., Suhaimi, H., & Rasdi, N. W. (2021). Production performance of *moina macrocopa* (Straus 1820) (Crustacea, Cladocera) cultured in different salinities: The effect on growth, survival, reproduction, and fatty acid composition of the neonates. *Diversity*, *13*(3), 1–16. <https://doi.org/10.3390/d13030105>

Anexo 1 Convenio específico



CONVENIO ESPECÍFICO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR, LA UNIVERSIDAD UTE Y LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA PARA LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO TITULADO “DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA DE CRIBADO BASADA EN EL PEZ CEBRA Y ENSAYOS CELULARES PARA EL DESCUBRIMIENTO DE COMPUESTOS DE IMPORTANCIA MÉDICA”

Comparecen a la suscripción del presente convenio, por una parte, LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR, representada legalmente por el Doctor Fernando Ponce León, SJ., en su calidad de Rector, en adelante llamada “PUCE”; por otra parte, la UNIVERSIDAD UTE, representada legalmente por el Doctor Ricardo Hidalgo Ottolenghi, en su calidad de Rector, en adelante llamada “UTE”; y, por otra parte, la UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA representada por el P. Juan Cárdenas Tapia sdb. PhD. en su calidad de Rector, y la Dra. Ana María Reino en calidad de Procuradora; en adelante llamada “UPS”.

Los comparecientes tienen capacidad y legitimación suficiente para suscribir el presente Convenio por sus representadas.

La PUCE, la UTE y la UPS en adelante también podrán ser denominadas colectivamente como las “Partes”.

Las Partes, libre y voluntariamente convienen en celebrar el presente convenio contenido al tenor de las siguientes cláusulas:

CLÁUSULA PRIMERA: ANTECEDENTES. –

- a. La Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación “SENESCYT”, es garante de la aplicación de los principios que rigen la educación superior, promotora de la investigación científica, innovación tecnológica y saberes ancestrales. Su trabajo se enfoca en mejorar las capacidades y potencialidades de la ciudadanía y se caracteriza por el empleo eficiente y eficaz de los recursos que gestiona, cuyos resultados son la semilla para el desarrollo del país. Entre sus objetivos está el impulsar el desarrollo científico y tecnológico del país a través del financiamiento de proyectos de fomento a la investigación y/o desarrollo tecnológico con fondos concursables, dirigida a los actores generadores y gestores del conocimiento del sistema nacional de ciencia, tecnología, innovación y saberes ancestrales del Ecuador, como el “Programa Nacional de Financiamiento para Investigación “INÉDITA”.
- b. Del programa de financiamiento “INÉDITA”:

Objetivo General:

INÉDITA tiene como objeto financiar proyectos de investigación y/o desarrollo tecnológico propuestos por los actores generadores y gestores del conocimiento, a través de fondos concursables que contribuyan al desarrollo del país, a la innovación y al incremento de la productividad, de conformidad con el Acuerdo Nro. SENESCYT-2018-

028, de 19 de abril de 2018, en el que se definen las áreas y líneas de investigación para programas y/o proyectos de investigación y/o desarrollo tecnológico.

Objetivos Específicos:

- Fomentar el desarrollo de investigaciones que contribuyan al cumplimiento del Plan Nacional de Desarrollo “Toda una Vida” 2017-2021.
 - Proponer soluciones a las necesidades prioritarias del país a través de la investigación y/o desarrollo tecnológico.
 - Aportar el incremento de la productividad de la economía ecuatoriana, diversificación de exportaciones e identificar nuevos campos de desarrollo económicos.
 - Fomentar y fortalecer encadenamientos productivos, a través de mejoras en los productos, procesos y servicios, mediante la investigación y/o desarrollo tecnológico.
 - Fomentar la producción y gestión de conocimiento a través de la colaboración interinstitucional entre actores generadores del conocimiento del sector académico público y empresarial.
 - Impulsar el desarrollo de la investigación en las áreas y líneas priorizadas para el desarrollo del país.
 - Impulsar el desarrollo de la investigación que derive en servicios, productos, procesos o procedimientos de innovación y en la generación de activos intangibles.
 - Promover la protección de los productos, procesos o servicios obtenidos mediante la investigación y/o desarrollo tecnológico, de conformidad al régimen de propiedad intelectual.
 - Aportar a la inclusión el desarrollo de las capacidades de la población y la participación de las mujeres, pueblos y nacionalidades en la investigación y/o desarrollo tecnológico.
- c. Mediante Oficio Nro. SENESCYT-SGCT-2018-0275-CO de 20 de septiembre de 2018, la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación notificó al Rector de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador que, “Una vez que los miembros de los Comités Científicos de las 7 áreas de investigación ha conocido, evaluado, seleccionado y priorizado las propuestas de investigación presentadas en el marco de la Convocatoria INÉDITA, conforme lo estipulado en el Reglamento de incentivos financieros y administrativos a la investigación, desarrollo tecnológico y transferencia de tecnología, así como en las bases específicas de la Convocatoria, y de acuerdo a lo resuelto en la Resolución de Adjudicación Nro. SENESCYT-2018-011, de 20 de septiembre de 2018” se notifica que el proyecto “*Desarrollo de una plataforma de cribado basada en el pez cebra y ensayos celulares para el descubrimiento de compuestos y de importancia médica*” correspondiente al área de “Ambiente, Biodiversidad y Ambiente”, de modalidad colaborativa en red, cuyo director es el Dr. Marco Andrés Romero Carvajal, Profesor Titular Agregado a Tiempo Completo de la PUCE, con un monto de USD \$200.000,00, fue aprobado para su financiamiento en el marco de la Convocatoria INÉDITA teniendo como entidad ejecutora a la PUCE y como co-ejecutoras a las universidades UTE y UPS. La propuesta de proyecto aprobada se adjunta como Anexo 1.
- d. El 4 de diciembre de 2018, la PUCE, UTE y UPS suscribieron un convenio específico de cooperación interinstitucional (Anexo1), cuyo objeto es la ejecución del proyecto titulado “Desarrollo De Una Plataforma De Cribado Basada En El Pez Cebra Y Ensayos Celulares

Para El Descubrimiento De Compuestos De Importancia Médica” financiado por la convocatoria INEDITA-SENESCYT (en adelante “PROYECTO INEDITA”).

- e. Mediante oficio Nro. SENESCYT-SGCT-SIITT-2021-0122-CO (Anexo 3), se establecen problemas ajenos a las partes y asociados a la liquidez del Gobierno del Ecuador, debido a los cuales el PROYECTO INEDITA no pudo iniciar en el año 2019.
- f. Después de aproximadamente 30 meses desde la adjudicación, el 1 de abril del 2021, se firmó el convenio No. 20210006CI de ejecución (Anexo 4), firmado por la PUCE y el SENESCYT, quedando habilitada la gestión de los fondos para la ejecución del proyecto, a través del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD)..
- g. Mediante oficio Nro. PNUD 21S-00285 (Anexo 5) se establece como fecha de inicio del PROYECTO INEDITA el 10 de agosto de 2021, con un plazo de ejecución del proyecto de 2 años a partir de esta fecha.
- h. En los últimos 3 años han existido cambios importantes en la afiliación de los investigadores asociados al proyecto inicial.
- i. Las Partes, en cumplimiento de sus misiones institucionales, pretenden ejecutar el proyecto denominado “*Desarrollo de una plataforma de cribado basada en el pez cebra y ensayos celulares para el descubrimiento de compuestos de importancia médica*”, de conformidad con los acuerdos que se detallan a continuación.
- j. Es interés de todas las partes comparecientes actualizar la información de los equipos de investigación y generar un nuevo convenio de ejecución

CLÁUSULA SEGUNDA: OBJETO GENERAL. –

El presente Convenio Específico tiene por objeto determinar las condiciones bajo las cuales se va a desarrollar, de forma conjunta entre las Partes, el proyecto titulado “*Desarrollo de una plataforma de cribado basada en el pez cebra y ensayos celulares para el descubrimiento de compuestos de importancia médica*”, presentado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador como institución ejecutora, la Universidad UTE y la Universidad Politécnica Salesiana, como instituciones co-ejecutoras, de conformidad con los indicadores de “metas” “resultados” y “productos” y el cronograma de ejecución, documentos que forman parte integrante del presente Convenio como anexo 1, Formato 3 y anexo 2, respectivamente.

CLÁUSULA TERCERA: OBJETIVOS ESPECÍFICOS. –

1. Generar un protocolo de extracción y fraccionamiento bioquímico que maximice la obtención de biocompuestos que se analizarán en ensayos de cribado.
2. Generar un protocolo de cribado basadas en el pez cebra y ensayos celulares para el descubrimiento de biocompuestos de importancia médica.
3. Proponer un sistema robusto de biodescubrimiento que pueda ser escalable a la industria farmacéutica, química y de bioprospección.

4. Generar manuales para el establecimiento de nuevas industrias farmacéuticas basadas en biodescubrimiento.
5. Mostrar la importancia de la investigación básica en el descubrimiento de nuevos compuestos que puedan servir para el descubrimiento de nuevos de medicamentos.

CLÁUSULA CUARTA: COMPROMISOS CONJUNTOS DE LAS PARTES. –

4.1. Desarrollar el proyecto descrito en la cláusula segunda del presente Convenio, entre la Universidad ejecutora PUCE, y las co-ejecutoras, UTE y UPS conforme el cronograma valorado en tiempo y recursos propuesto por el Director del proyecto, mismo que se encuentra adjunto (Anexo 2) y que forma parte integrante del presente convenio.

4.2. Remitir la información o informes técnicos de avance, de ejecución del proyecto en forma periódica o en cualquier momento cuando sea solicitada por el Director del Proyecto o la subsecretaría de investigación científica de la SENESCYT, de acuerdo a los formatos que se soliciten.

4.3. Presentar un informe de los resultados y fin del proyecto cuando se soliciten.

4.4. Apoyar con recursos humanos, científicos, tecnológicos y físicos para el desarrollo de las actividades que se estipulen en el cronograma de ejecución del Proyecto.

4.5. Las Partes se comprometen a intercambiar entre sí, cuando una de ellas lo requiera, documentos, datos observaciones memorias y toda otra documentación necesaria de la forma más precisa posible en relación al desarrollo del proyecto.

4.6. Los resultados parciales o definitivos que se obtengan por la ejecución del proyecto podrán ser publicados de común acuerdo, dejándose constancia en las publicaciones de la participación de cada una de las Partes. En cualquier caso, toda publicación o documento relacionado con el proyecto deberá contar con la aprobación expresa de las Partes. Los resultados que pueden ser objeto de patentamiento u otra protección bajo los sistemas de propiedad intelectual y/o eventuales aprovechamientos económicos, serán objeto de acuerdo separado entre las Partes.

4.7. Incentivar y apoyar de forma efectiva el cumplimiento de los objetivos y productos del proyecto en el tiempo establecido, manteniendo un ambiente de trabajo propicio, así como también revelar posibles conflictos de interés que puedan presentarse.

4.8. Reportar los hallazgos de manera abierta completa y oportuna manteniendo la confidencialidad de la información pertinente.

4.9. Los primeros autores de las publicaciones parciales y/o definitivas se alternarán de manera proporcional a las universidades participantes, conforma una planificación consensuada entre las Partes.

4.10. Los investigadores asociados al proyecto que acepten tener bajo su custodia un bien, una licencia de software, o propiedad intelectual adquiridos por este proyecto serán responsables por el cuidado y buen uso del mismo de conformidad con la normativa vigente aplicable.

4.11. Los bienes, licencias de software o propiedad intelectual adquiridos a través de los rubros financiados por este proyecto, una vez que finalice la ejecución del mismo, serán de propiedad de cada entidad participante de acuerdo al presupuesto desglosado para cada universidad en el anexo 3.

4.12. Las Partes tendrán derecho a viáticos y movilizaciones para la ejecución del proyecto conforme el presupuesto aprobado por SENESCYT.

4.13. El director del proyecto y la entidad ejecutora deberán participar en las actividades en las que SENESCYT requiera su colaboración, hasta un año después de finalizar el proyecto, en actividades afines a su área de conocimiento tales como: eventos TIC, capacitaciones, exposiciones, conferencias, seminarios.

4.14. Presentación de un informe de las actividades a la Dirección de Investigación de cada institución, así como elaborar documentos científicos: Protocolos, Informes, Manuales Técnicos.

CLÁUSULA QUINTA: OBLIGACIONES DE LAS PARTES. –

5.1. Son obligaciones de la PUCE, las siguientes:

- a) Designar al Director del proyecto como el responsable financiero.
- b) Dar las facilidades a los investigadores en cuanto a la asignación de horas y recursos para la realización de las actividades concernientes al presente proyecto.
- c) Realizar pruebas de cribado basadas en el pez cebra para el descubrimiento de biocompuestos de importancia médica.
- d) Aislar, analizar y caracterizar extractos de pieles de anfibios para ensayos de cribado.
- e) Comparar los resultados del cribado con los experimentos diseñados en líneas celulares.

5.2. Son obligaciones de la UTE, las siguientes:

- a) Dar las facilidades a los investigadores en cuanto a la asignación de horas y recursos para la realización de las actividades concernientes al presente proyecto.
- b) Realizar pruebas de cribado basadas en experimentos diseñados en líneas celulares.
- c) Comparar los resultados del cribado con los experimentos diseñados en línea celulares.

5.3. Son obligaciones de la UPS, las siguientes:

- a) Dar las facilidades a los investigadores en cuanto a la asignación de horas y recursos para la realización de las actividades concernientes al presente proyecto.
- b) Asistir en el mantenimiento y reproducción de poblaciones de pez cebra (*Danio rerio*) cuyo bioterio se ubica en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- c) Aislar, analizar y caracterizar a nivel de grupos funcionales diversos metabolitos secundarios para ensayos de cribado.
- d) Preparar emulsiones, encapsulados, micro-encapsulados y otras formas de administración.

CLÁUSULA SEXTA: RELACIÓN LABORAL. –

El personal académico de la entidad ejecutora y co-ejecutoras que colabora en el desarrollo del proyecto mantendrá su relación laboral o de dependencia con la entidad de origen.

En consecuencia, las Partes no adquieren relación laboral de ningún tipo respecto del talento humano de la otra, ni dependencia respecto del personal que cada parte por su cuenta contrate para la ejecución del proyecto.

CLÁUSULA SÉPTIMA: PLAZO. –

La duración del presente instrumento es de tres (3) años contados a partir de la suscripción del presente convenio, y podrá prorrogarse hasta doce (12) meses adicionales previo acuerdo suscrito entre las partes con al menos sesenta (60) días de antelación a la finalización del mismo, sin que la prórroga suponga incremento en el monto propuesto.

CLÁUSULA OCTAVA: BENEFICIARIOS. –

Beneficiarios directos.

Los beneficiarios directos de este proyecto serán los estudiantes tesisistas de grado quienes tendrán la oportunidad de recibir entrenamiento en técnicas de última generación para el cribado de moléculas con potencial biomédico.

Los proveedores de bienes y servicios para laboratorios de biotecnología y microscopía serán beneficiados directamente por la importante inversión en equipos, suministros y reactivos que realizará este proyecto.

En el caso de que este proyecto genere conocimientos patentables, los beneficios se repartirán de acuerdo con el marco regulatorio vigente del estado Ecuatoriano.

Beneficiarios indirectos

El público en general será el potencial beneficiario de los descubrimientos generados a partir de este proyecto.

El biodescubrimiento de moléculas bioactivas y su respectiva custodia por parte del Estado permitirá promover el desarrollo de una industria farmacéutica local basada en el descubrimiento. Por este motivo, la industria farmacéutica local, sus trabajadores, proveedores y constructores serían potencialmente beneficiados por los resultados de este proyecto.

CLÁUSULA NOVENA: FINANCIAMIENTO DEL CONVENIO Y DISTRIBUCIÓN PRESUPUESTARIA. –

El proyecto será financiado por el Programa Nacional de Financiamiento para Investigación - INEDITA de la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT).

El presupuesto del proyecto será distribuido por el Director del proyecto y el responsable financiero en función del presupuesto de investigación aprobado por la SENESCYT para este proyecto.

Las Partes se comprometen a usar el presupuesto de acuerdo a los procedimientos de investigación y requerimientos de personal proyectados por cada institución en el presupuesto.

Las modificaciones y requerimientos especiales de uso del presupuesto serán discutidos y aprobados por los coordinadores de cada universidad en consenso.

CLÁUSULA DÉCIMA: ADMINISTRACIÓN DEL CONVENIO. –

Se ha designado como responsable financiero del Proyecto al Mtr. Javier España Mera. El Director del proyecto, el Dr. Marco Andrés Romero Carvajal, tendrá como principales labores el seguimiento, control y supervisión del convenio. De igual forma, mantendrá constante comunicación con cada uno de los administradores designados para dar cumplimiento a cada una de las obligaciones derivadas del mismo.

El Dr. Christian Larenas, Docente Investigadores de la Carrera de Biotecnología de la UPS, es el Director subrogante e investigador responsable de la UPS.

La Dra. Linda Guamán, Docente Investigadora del Centro de Investigación Biomédica CENBIO de la Facultad de Ciencias de la Salud Eugenio Espejo de la Universidad UTE es investigadora del proyecto.

Marco Andrés Romero Carvajal, Christian Larenas y Linda Guamán son los coordinadores de las actividades administrativas y de investigación para cada universidad.

CLÁUSULA DÉCIMA PRIMERA: PROPIEDAD INTELECTUAL E IMAGEN INSTITUCIONAL. –

Las Partes se facultan entre sí a utilizar el o los productos que se deriven de la ejecución del presente Convenio Específico, para difundirlos como parte de la gestión institucional que las Partes llevan a cabo en cumplimiento de su misión y objetivos.

Las Partes se obligan a través del presente instrumento legal, a utilizar el logotipo e imagen institucional de cada una de ellas, en el material que sea utilizado para promocionar o publicar el proyecto en cuestión, así como en el material que resulte de su debida ejecución, en el futuro y de forma indefinida.

Sin perjuicio de los derechos reconocidos en el párrafo precedente, las Partes podrán realizar un uso comercial de la obra previa autorización de los titulares y notificación a los autores en caso de que se traten de distintas personas. En cuyo caso corresponderá a los autores un porcentaje no inferior al cuarenta por ciento (40%) de los beneficios económicos resultantes de esta explotación. El mismo beneficio se aplicará a los autores que hayan transferido sus derechos a instituciones de educación superior o centros educativos.

El derecho contemplado en el párrafo precedente a favor de los autores es irrenunciable.

CLÁUSULA DÉCIMA SEGUNDA: ACTA DE ENTREGA RECEPCIÓN TOTAL DEFINITIVA Y ÚNICA. –

La recepción y liquidación del Convenio Específico será responsabilidad de los administradores del Convenio Específico, quienes se encargarán de validar técnica y económicamente los informes de ejecución presentados por la contraparte respectivamente.

Validado técnica y económicamente el informe final de ejecución del proyecto, se suscribirá el Acta de Recepción Total Definitiva y Única, por parte de los administradores del Convenio Específico.

Esta Acta contendrá los antecedentes, condiciones generales de la ejecución, condiciones operativas, liquidación económica, liquidación de plazos, constancia de recepción, cumplimientos de las obligaciones convenidas y cualquier otra circunstancia que se estima necesaria por parte del administrador del Convenio Específico.

CLÁUSULA DÉCIMA TERCERA: TÉRMINACIÓN DEL CONVENIO. –

El presente Convenio terminará por una de las siguientes causas:

1. Por cumplimiento del objeto del Convenio.
2. Cumplimiento del plazo.
3. Mutuo acuerdo de las partes siempre que se evidencie que no pueda continuar su ejecución por motivos técnicos, económicos, legales, sociales o físicos; para lo cual se suscribirá el respectivo documento.
4. Terminación unilateral por incumplimiento. Las Partes podrán dar por terminada anticipada y unilateralmente este Convenio, en caso de incumplimiento de una o más cláusulas esenciales. Para estos efectos se tendrán por cláusulas esenciales todas las cláusulas de este Convenio.
5. Por fuerza mayor o caso fortuito debidamente justificado por la parte que lo alegare, y notificado dentro del plazo de setenta y dos (72) horas de ocurrido el hecho.
6. Por las demás causas estipuladas en este Convenio.

CLÁUSULA DÉCIMA CUARTA: EN CASO DE CONTROVERSIAS. –

En términos generales este Convenio se suscribe de manera transparente y voluntaria entre las partes; mediando entre estas la buena fe en cuanto a sus acciones e intenciones; fundamentados principalmente en la trayectoria y buen nombre de las entidades participantes.

En base a lo expuesto deberá primar en todo momento el diálogo y se deberán agotar todas las instancias en el sentido de evitar controversias o desacuerdos.

En caso de presentarse controversias entre las Partes intervinientes, derivadas de la aplicación o interpretación del presente Convenio, se intentará lograr un acuerdo directo entre las mismas y

será resuelto por sus representantes legales o a quienes ellos deleguen para el efecto, acuerdo que deberá constar por escrito.

Las Partes declaran expresamente que renuncian a fuero y domicilio, y manifiestan que cualquier controversia, diferencia o reclamación que se genere o esté relacionado como consecuencia de la interpretación o ejecución del presente convenio, será previamente sometida al procedimiento que establece el Centro de Mediación de la Cámara de Comercio de Quito.

En el evento que las controversias no fueren resueltas de mutuo acuerdo o mediante el procedimiento de mediación asistida, las Partes las someterán a la resolución del Tribunal de Arbitraje del Centro de Arbitraje y Mediación de la Cámara de Comercio de Quito y funcionamiento se sujetará a lo dispuesto en la Ley de Arbitraje y Mediación, al respectivo Reglamento del Centro, y a las siguientes normas:

- El tribunal arbitral estará conformado por tres (3) árbitros.
- El tribunal arbitral decidirá en Derecho y aplicando la ley ecuatoriana.
- Para la ejecución de medidas cautelares, el Tribunal Arbitral estará facultado para solicitar a los funcionarios públicos, judiciales, policiales y administrativos su cumplimiento, sin que sea necesario recurrir a juez ordinario alguno.
- El procedimiento arbitral será confidencial.
- El lugar de arbitraje serán las instalaciones del Centro de Arbitraje y Mediación de la Cámara de Comercio de Quito.
- Las partes renuncian a la jurisdicción ordinaria, se obligan a acatar el laudo arbitral que expida el Tribunal Arbitral y se comprometen a no interponer ningún tipo de recurso en contra del laudo arbitral.

CLÁUSULA DÉCIMA QUINTA: AVISOS O NOTIFICACIONES. –

Para todos los efectos a que haya lugar a notificaciones o avisos derivados del presente convenio, estos se efectuarán por escrito en los domicilios que en su momento se notifiquen por escrito a la otra parte.

Dr. Andrés Romero-Carvajal
Laboratorio 116 de Biología del Desarrollo
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Teléfono: 2 99 17 00 ext. 1280
Email: maromero@puce.edu.ec

Dra. Linda Guamán Centro de Investigación Biomédica CENBIO
Facultad de Ciencias de la Salud Eugenio Espejo
Universidad UTE
Teléfono: 2 299 0800 ext. 2415
Email: linda.guaman@ute.edu.ec

Dr. Christian Larenas
Grupo de Investigación GIDCARB
Ingeniería en Biotecnología
Universidad Politécnica Salesiana
Teléfono: 3962800 ext. 2298
Email: clarenas@ups.edu.ec

CLÁUSULA DÉCIMA SEXTA: ACEPTACIÓN. –

Las Partes aceptan el contenido de todas y cada una de las cláusulas de este Convenio Específico, y por ello, proceden a suscribirlo en seis (6) ejemplares de igual tenor y valor legal en Quito, a los 18 días del mes de abril de 2022.

Por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador:

Dr. Fernando Clemente Ponce León
RECTOR

Por la Universidad UTE:

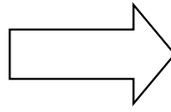
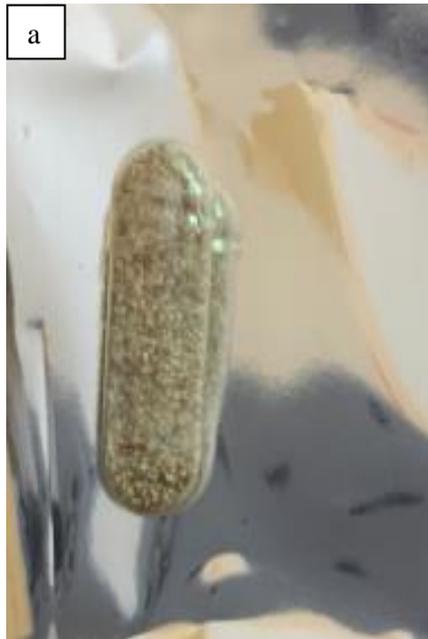
Dr. Ricardo Hidalgo O.
RECTOR

Por la Universidad Politécnica Salesiana:

P. Juan Cárdenas Tapia, sdb PhD
RECTOR UPS

Dra. Ana María Reino
PROCURADORA UPS

Anexo 2 Obtención del microcrustáceo *Moina sp*



Capsula abierta en el medio

Nota: Capsula de *Moina sp* y cepa inicial
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 3 Eclosión de *Moina sp*

Tras 72 horas, se pudo apreciar los neonatos



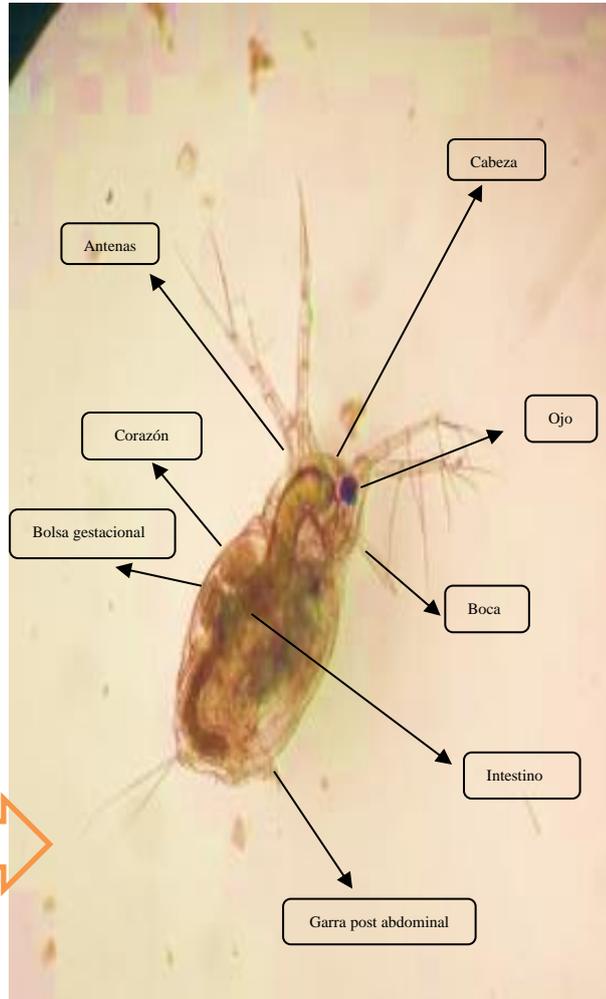
Nota: Neonatos de *Moina sp*
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 4 Aislamiento capilar de *Moina sp*



Nota: Aislamiento capilar de *Moina sp*, vista en el microscopio de *Moina sp* en estado nauplio y adulto
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 5 Descripción de *Moina sp*



Nota: *Moina sp*, (caracterización).
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 6 Materiales para el cultivo de *Moina sp*



Nota: Materiales para el cultivo de *Moina sp*
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 7. Instalación del cultivo de *Moina sp*

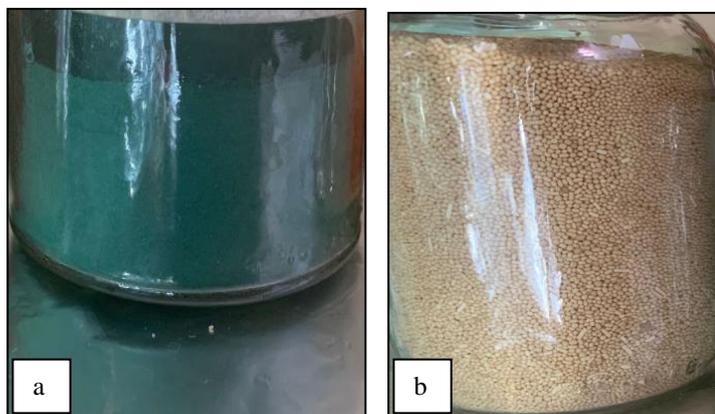


Mangueras para una correcta oxigenación

15 organismos *Moina sp* en estado nauplio colocados por tratamiento.

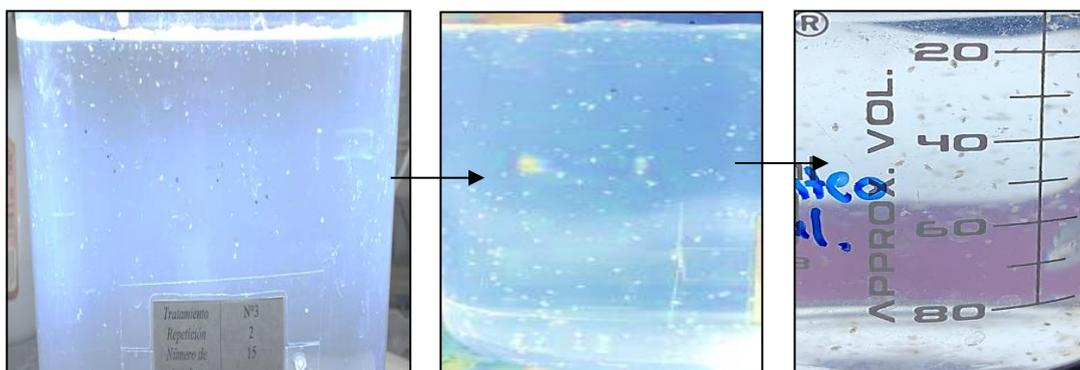
Nota: Cultivo de *Moina sp*
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 8 Alimento para cada tratamiento



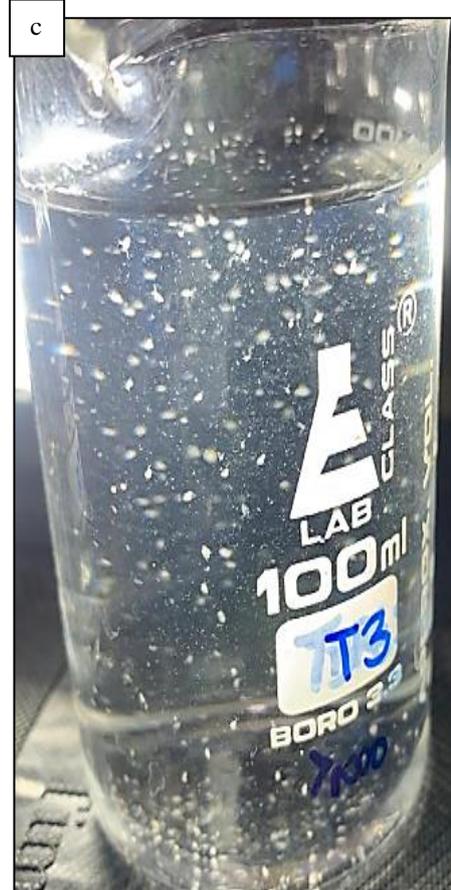
Nota: a) *Spirulina* en polvo b) Levadura de panadería
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 9 Conteo de organismos *Moina* sp



Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 10 Cultivo de *Moina sp*



Nota: a) Tratamiento I b) Tratamiento II c) Tratamiento III
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 11 *Moina sp* alimentada con *Spirulina* en polvo



Nota: Longitud de 0.9mm
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 12 *Moina sp* alimentada con levadura de panadería



Nota: Longitud de 0.6mm
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 13 *Moina sp* alimentada con dieta combinada



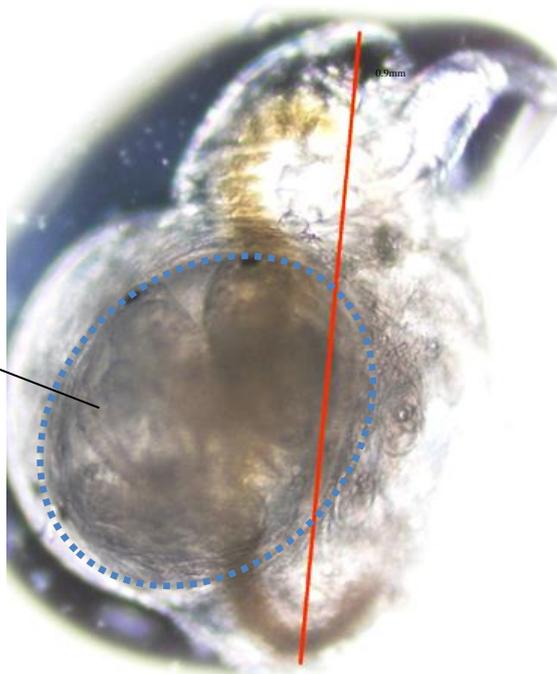
Nota: Longitud de 0.9mm
Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 14 Embriones de *Moina sp*

Efipio

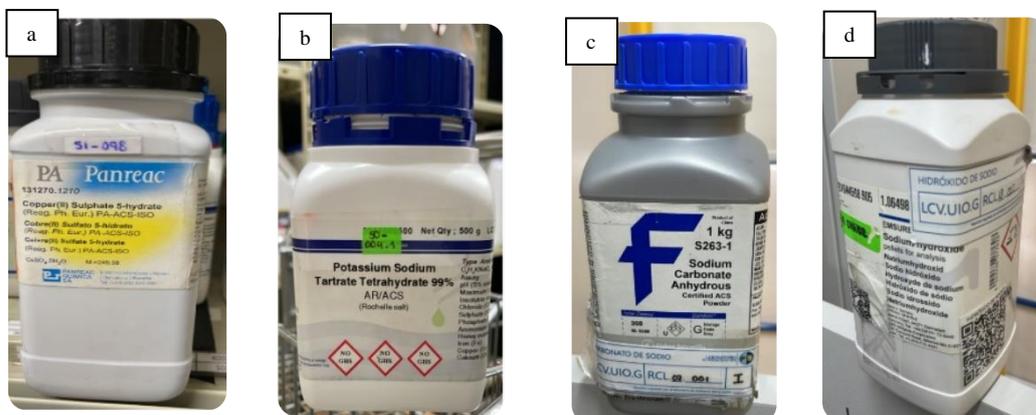


Huevos a punto de eclosionar



Fuente: (La Autora, 2022)

Anexo 15 Reactivos para la cuantificación de proteína



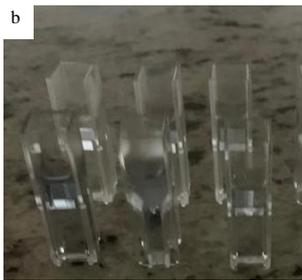
Nota: a) Sulfato cúprico b) Tartrato sódico potásico c) Carbonato de sodio d) Hidróxido de sodio
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 16 Soluciones Folin- Lowry



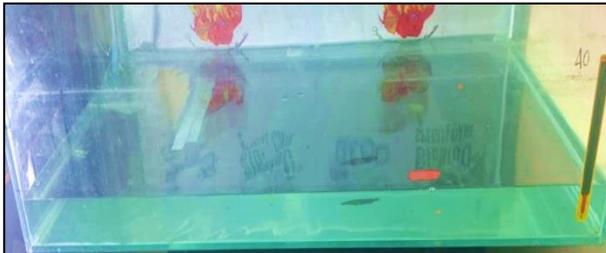
Nota: a) Soluciones A1+B1+B2 b) Folin-Ciocalteu diluido
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 17 Muestras para lectura en el espectrofotómetro



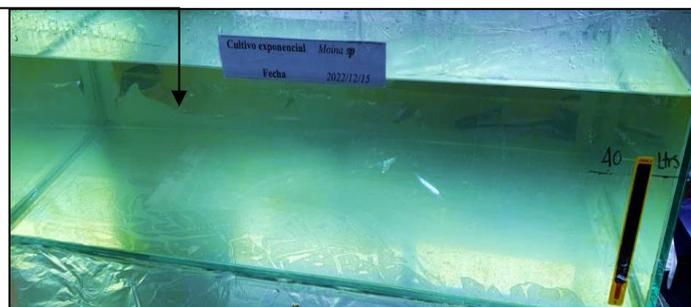
Nota: a) muestra patrón b) muestras problema
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 18 Cultivo escalar *Moina sp*



Primera Semana

Cultivo de 60 litros



Fuente: (La Autora, 2023)

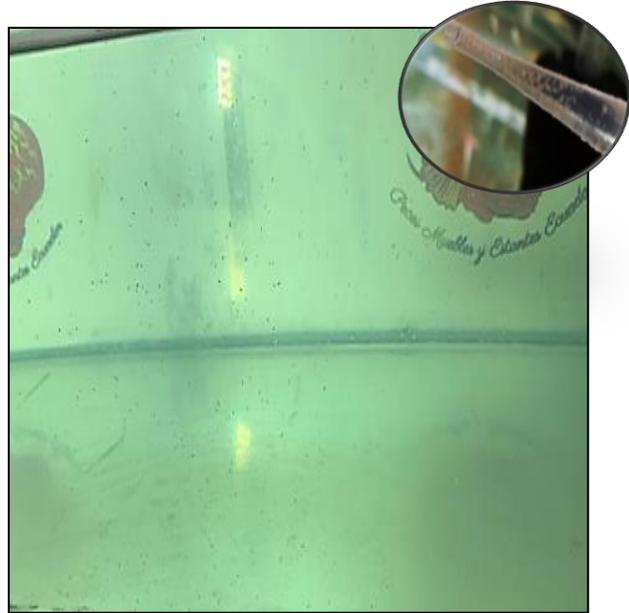
Anexo 19 Cultivo escalar *Moina sp* dieta combinada

Crecimiento
exponencial
de *Moina sp*



Fuente: (La Autora, 2023)

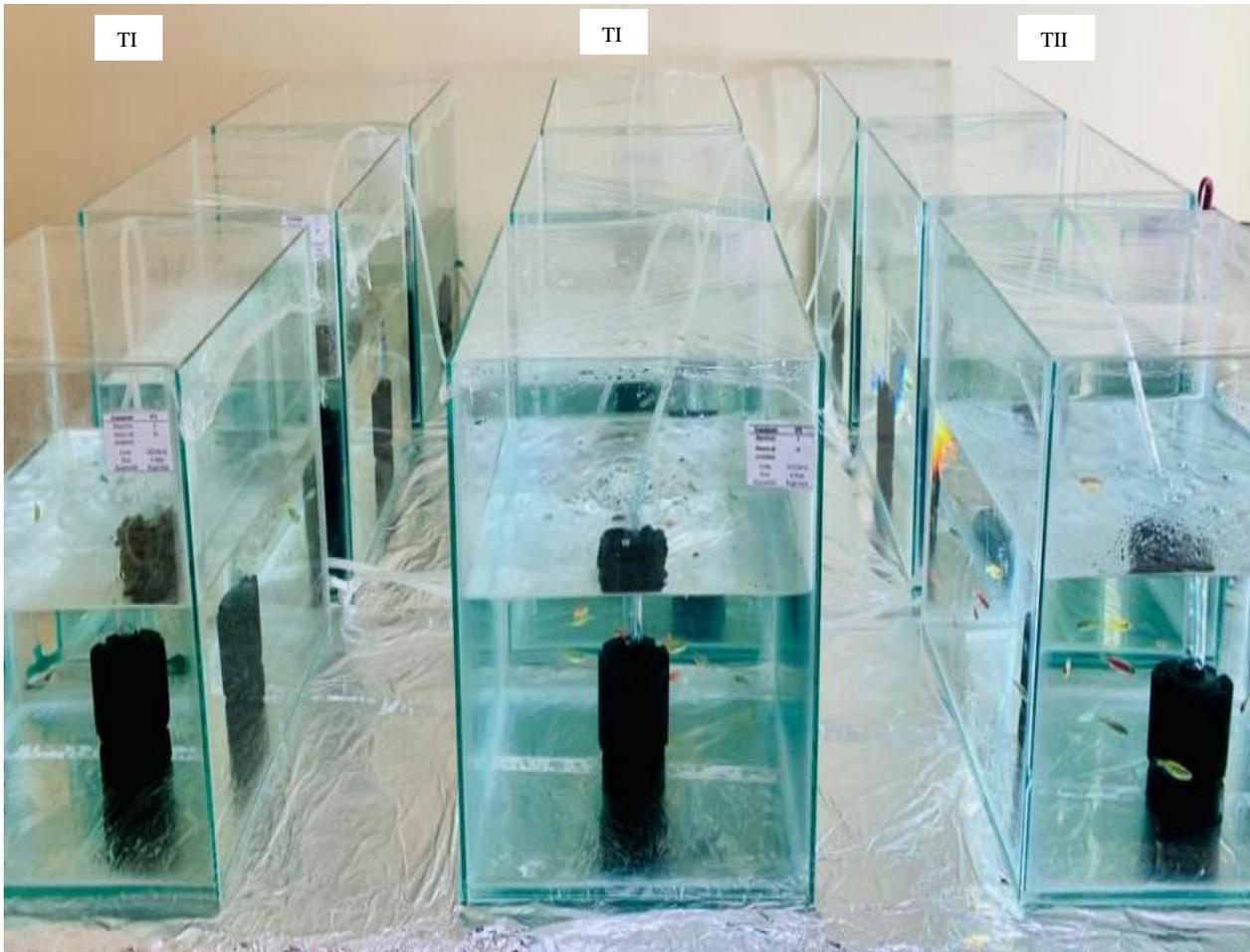
Anexo 20 Alimento vivo *Moina sp* y alimento comercial para el pez *Danio rerio*



Nota: Alimento vivo *Moina sp* y alimento comercial Tetracolor para el pez *Danio rerio*

Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 21 Cultivo de *Danio rerio*



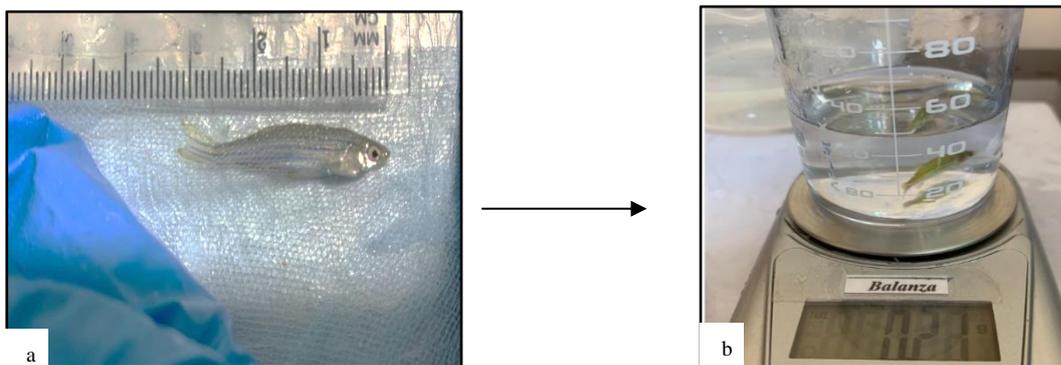
Nota: Tratamientos y repeticiones cultivo de juveniles (*Danio rerio*)
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 22 Insumos para mantenimiento del cultivo (*Danio rerio*)



Nota: a) Indicador de pH b) Acondicionar de agua y azul de metileno (*Danio rerio*) c) redes
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 23 Parámetros a evaluar en el pez cebra (*Danio rerio*)



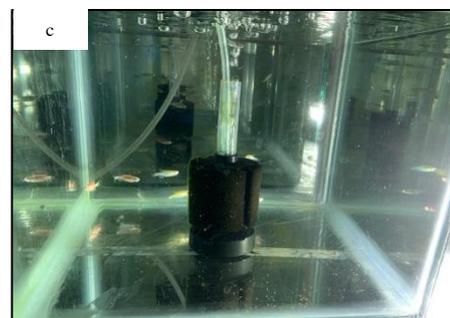
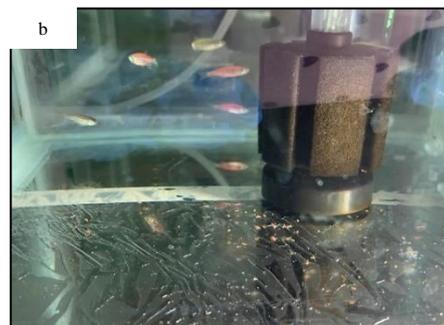
Nota: a) Peso b) Longitud de juveniles (*Danio rerio*)
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 24 Incremento de longitud y peso del pez cebrá (*Danio rerio*) con dieta combinada



Nota: a) Longitud de 3.7 cm b) Peso de 0.45
Fuente: (La Autora, 2023)

Anexo 25 Generación de sedimento al fondo de las peceras del cultivo (*Danio rerio*)



Nota: a) Tratamiento I. Alimento vivo *Moina* sp b) Tratamiento II. Alimento comercial c) Tratamiento III. Dieta combinada
Fuente: (La Autora, 2023)

BITÁCORA

Danio rerio

SEMANA 0. Parámetros de crecimiento para cada tratamiento

TRATAMIENTO I		TRATAMIENTO II		TRATAMIENTO III	
Peso	Longitud	Peso	Longitud	Peso	Longitud
0,20	2,00	0,18	2,00	0,18	1,8
0,20	2,1	0,15	1,9	0,29	1,9
0,18	2,00	0,22	1,8	0,25	2,00
0,20	1,8	0,25	2,00	0,21	2,00
0,18	2,00	0,16	2,00	0,22	1,9
0,20	2,1	0,23	2,00	0,22	1,8
0,17	2,00	0,18	2,1	0,21	1,8
0,22	1,8	0,16	1,8	0,23	1,9
0,21	1,7	0,15	2,00	0,20	2,00
0,14	2,00	0,19	2,00	0,16	2,00
0,20	2,00	0,26	2,00	0,16	2,00
0,27	2,1	0,22	2,1	0,27	2,1
0,18	2,00	0,18	2,00	0,14	1,9
0,18	1,8	0,20	2,00	0,15	2,00
0,15	1,6	0,18	1,9	0,19	1,9
2,88	29	2,91	29,6	3,08	29
0,19	1,93	0,19	1,97	0,21	1,93

Anexo 26 Parámetros de crecimiento del pez cebra (*Danio rerio*) para cada tratamiento
Datos tomados al iniciar el ensayo

Fuente: (La Autora, 2023)

SEMANANA 9. Parámetros de crecimiento para cada tratamiento

TRATAMIENTO I		TRATAMIENTO II		TRATAMIENTO III	
Peso	Longitud	Peso	Longitud	Peso	Longitud
0,33	3,20	0,36	3,00	0,38	3,60
0,32	3,30	0,34	3,00	0,38	3,50
0,35	3,00	0,34	3,40	0,40	3,70
0,32	3,50	0,25	3,00	0,42	3,50
0,35	2,80	0,33	3,00	0,45	3,50
0,33	3,30	0,32	3,20	0,38	3,40
0,30	3,20	0,33	3,00	0,38	3,70
0,32	3,00	0,20	3,00	0,38	3,50
0,30	3,20	0,33	3,20	0,40	3,50
0,35	3,00	0,35	3,00	0,50	3,40
0,30	3,10	0,40	3,20	0,42	3,50
0,32	3,00	0,37	3,00	0,40	3,50
0,34	3,20	0,24	3,10	0,38	3,80
0,33	3,10	0,28	3,00	0,40	3,70
0,34	3,20	0,40	3,50	0,40	3,50
4,90	47,1	4,84	46,6	6,07	53,3
0,33	3,14	0,32	3,11	0,40	3,55

Anexo 27 Parámetros de crecimiento del pez cebrá (*Danio rerio*) al finalizar el ensayo

Fuente: (La Autora, 2023)