



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

REGISTRO DE SERVICIO SOCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

**“USO DE EXTRACTO DE *Porphyridium cruentum*
COMO ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS EN CARPA
DORADA (*Carassius auratus*)”**

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Vera González Aldo Jesús
2173027053

ASESORA

Dra. en C. Monroy Dosta María del Carmen-UAM-X (28906)

Ciudad de México, México.

Febrero, 2023

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
OBJETIVOS.....	4
ANTECEDENTES.....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
RESULTADOS.....	9
DISCUSIÓN.....	12
CONCLUSIONES.....	12
REFERENCIAS.....	13

RESUMEN

Debido al constante crecimiento de la acuicultura en México se requiere atender diversas problemáticas entre las que destacan las enfermedades infecciosas de tipo bacteriano como es el caso de *Aeromonas hydrophila* causante de la septicemia hemorrágica una de las enfermedades más comunes en los peces. Ante la resistencia bacteriana causada por los antibióticos existen nuevas estrategias como el uso de extractos naturales con capacidad antibiótica. Por lo que en este estudio se evaluó el extracto de la microalga roja *Porphyridium cruentum* ya que se ha reportado que posee propiedades antimicrobianas que pueden ser aplicadas en los peces, por lo que se efectuaron las pruebas de inhibición *in vitro* e *in vivo*. En el caso de la prueba *in vitro* se procedió a sembrar por triplicado el patógeno en cajas de agar Infusión Cerebro Corazón (BHI) 48 horas después y a través del método de difusión en placa se colocaron discos impregnados con *P. cruentum*, como control positivo el extracto de la microalga *Clorococcum*, el extracto de almendro *Terminalia catappa* y discos de antibióticos comercial de ampicilina. Así mismo se obtuvo un lote de peces de la especie *Carassius auratus* para inocular el patógeno y evaluar el uso del extracto de *P. cruentum* para inhibir el proceso infeccioso. Los resultados determinaron efecto inhibitorio *in vitro* del patógeno con el uso del extracto del alga roja al obtener halos de 10mm, también se observó resistencia de *A. hydrophila* a la ampicilina al no formarse halos de inhibición. Sin embargo, la prueba *in vitro* no mostró los resultados esperados ya que el tratamiento donde se utilizó el extracto aun cuando los signos de infección no fueron tan evidentes la mortalidad fue mayor incluso que la del control. Se sugiere ampliar la concentración y dosis del extracto para obtener mejores resultados.

INTRODUCCIÓN

En México la acuicultura ha alcanzado un crecimiento a tasa media anual de 15%, y representa un 22% de la actividad pesquera del país (Acosta *et al.*, 2018), Dentro de la producción acuícola podemos mencionar aquella que se dedica a la comercializar

organismos para el consumo humano y también la producción de especies ornamentales, actividad que en los últimos años ha llamado mucho la atención, ya que en México que se comercializa anualmente más de 40 millones de peces de ornato, lo cual genera un ingreso de aproximadamente 1,650 millones de pesos. El 48% se importa y el 52% restante se cultiva en más de 250 unidades de producción, localizadas en 20 entidades federativas de la República Mexicana, siendo los principales estados productores de peces de ornato: Morelos, Veracruz, Yucatán, Estado de México y Jalisco respectivamente, destacando el estado de Morelos como el más importante en producción acuícola de peces de ornato con más de 219 unidades de producción y comercialización. (INAPESCA, 2018).

Carassius auratus es una de las especies comerciales que destaca por su coloración y forma. El tamaño de la cabeza es más grande comparado con el tamaño del cuerpo, de boca pequeña que no cuenta con barbillas sensoriales y aleta dorsal alargada y ligeramente cóncava (Doadrio, 2001). también conocida como “goldfish” es un pez altamente tolerante a diversas condiciones ambientales, como lo son el pH entre 6,8 y 7,6, temperatura entre los 20 y 30°C y concentración de O₂ mayor a 4 ppm, de amonio menor a 2 mg/l, de nitrito de 1 mg/l y de nitrato, hasta de 100 mg/L; al mismo tiempo, esta especie tiene un gran valor comercial, nativos de Asia Central, China y Japón. (Zafra, 2015).

Estos peces en condiciones de cultivo muestran una amplia variedad de respuestas a estímulos estresantes que en muchos casos son evidentes, y van desde pérdida del apetito hasta una mayor sensibilidad a las enfermedades principalmente a aquellas de tipo infeccioso que son las que más entorpecen los planes de producción del acuicultor. (Espinosa de los Monteros, 1988).

La intervención a través del biocontrol y biorremediación, se presentan como métodos alternativos para mejorar la salud de los peces, mediante el uso de extractos vegetales y de probióticos, los cuales pueden ser incluidos en la dieta o bien adicionarse al agua como un agente de remediación (Panigrahi y Azad, 2007), que tienen efectos benéficos sobre el equilibrio microbiológico del hospedador, a

través de la modulación directa o indirecta, que se ve reflejado en un mejor aprovechamiento de nutrientes, efectos positivos en la reproducción, tolerancia al estrés (Martínez-Cruz, *et. al.* 2012) y un claro impacto sobre la activación del sistema inmune, conduciendo a una mayor resistencia a enfermedades.

Las algas rojas se han considerado como inmunomoduladoras potenciales en donde se ha demostrado que los azúcares de la pared celular de las algas generan respuestas bioquímicas y fisiológicas en un gran número de microorganismos y vertebrados (Abdala-Díaz *et. al.* 2010).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La acuicultura ornamental en el Estado de Morelos ha logrado un incremento económico importante. Desafortunadamente, en la mayoría de los casos la actividad se desarrolla de manera empírica y con una baja eficiencia técnica, por lo que se presentan problemas dentro de las unidades que ponen en riesgo la operación de estas. Los principales riesgos que presentan son el ingreso y propagación de enfermedades y parásitos en los cultivos, debido a que las granjas no cuentan con las medidas de bioseguridad necesarias que prevengan dicho problema, por lo que brotes de enfermedades y altas mortalidades durante los ciclos productivos son frecuentes, lo cual pone en riesgo la rentabilidad de la actividad.

Debido a lo anterior es necesario priorizar el establecimiento de acciones que prevengan este tipo de riesgos en las unidades de producción, dirigidas a disminuir la incidencia de enfermedades y parásitos. Dentro de las estrategias que han llamado la atención se encuentra el uso de extractos de microalgas y vegetales, los cuales han demostrado beneficios en el control de patógenos mediante los biocompuestos que poseen que limitan el crecimiento de patógenos bacterianos, sin los riesgos de los antibióticos. Establecer la capacidad de control de diversos extractos es fundamental para su aplicación exitosa en la producción acuícola sustentable.

OBJETIVO

a. Objetivo General:

- Determinar los efectos de *Porphyridium cruentum* en el control de la Septicemia hemorrágica de *Carassius auratus*

b. Objetivos específicos:

- Conocer la capacidad antimicrobiana de *Porphyridium cruentum* *In vitro* frente a *Aeromonas hydrophila*
- Determinar la mínima concentración Inhibitoria del extracto frente a *Aeromonas hydrophila*
- Determinar el efecto del extracto de *P. cruentum* en la supervivencia de los peces infectados con *Aeromonas hydrophila*

ANTECEDENTES

Rivera (2014), Presentó un estudio experimental de las propiedades ópticas de la microalga roja *Porphyridium cruentum* en contraste con otros organismos que realizan el proceso de fotosíntesis, monitoreando la densidad celular y la tasa de crecimiento específico de los cultivos, en donde el origen y la concentración de nutrientes en el medio de cultivo, son factores que influyen directamente en el crecimiento, composición celular, contenido de clorofila, así como en el rendimiento final.

Álvares en el año de 2007, analizó compuestos con actividad antibacteriana producidos por las microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Porphyridium cruentum*, en este trabajo se realizó una búsqueda de nuevos compuestos con actividad antibacteriana a partir de las microalgas marinas, encontrando que la mayoría de los extractos originaron inhibición en las diferentes bacterias patógenas como: *Aeromonas*

hydrophila y *Vibrio splendidus* los cuales fueron sensibles a los diferentes extractos. Los compuestos identificados fueron esteroides, ácidos grasos y clorofilas.

Muñoz (2010), estudió el potencial farmacológico de algas marinas, analizando los extractos etanólicos de 62 especies de algas recolectadas a lo largo de la península de Baja California Sur, México, por su potencial como fuente de compuestos bioactivos, la actividad antibacteriana e inhibitoria del mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos, para el caso de las microalgas, se observó un efecto inhibitorio en algunos casos mostraron actividad inhibitoria contra *Fragilaria crotonensis*.

Moreno y colaboradores (2021) evaluaron la actividad de los polisacáridos de *Porphyridium cruentum* frente a la infección por el virus de la *septicemia hemorrágica* viral y el virus de la necrosis nerviosa. Los resultados muestran, disminución significativa de genoma viral a las 24 y 36 hpi. en las células tratadas con el polisacárido respecto a las no tratadas. Por el contrario, no se ha observado actividad frente al virus de la necrosis nerviosa, indicando que los polisacáridos de *Porphyridium cruentum* presentan actividad antiviral diferencial, dependiente del patógeno.

Luna (2007), menciona que los organismos fotosintéticos son prometedoramente óptimos para la producción de sustancias de interés químico, farmacéutico e industrial, reportando que especies como *Chlorella vulgaris* y *Porphyridium cruentum* poseen características aplicables en campos de interés farmacéutico, químico, o industrial, de las cuales el género *Chlorella* ha presentado un mayor espectro bioactivo, ya sea como antimicrobiano, antimicótico o antiviral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo y cosecha de microalga

Se utilizarán cepas de microalga roja *Porphyridium cruentum*, obtenidas del cepario del Laboratorio de Análisis Químico del Alimental Vivo, que fueron inoculadas en botes de plástico de 20 Litros de capacidad a una salinidad 30%. Fertilizando con triple 17 (1mL/L) Vitamina B y mantenidas en condiciones de temperatura de 20 a 24 °C, bajo luz artificial de 300 lux, con lámparas de 40 W.

Cuando el cultivo alcanzó la fase de crecimiento exponencial, a una concentración celular de $8,7 \times 10^5$ células/mL

Cuando el cultivo alcanzó un crecimiento exponencial se procedió a desdoblar *Porphyridium cruentum* del líquido sobrante, recuperándose las células para su tamizado, secado y posterior uso.

Obtención del extracto

Los extractos se obtuvieron a partir de 50 gramos de *Porphyridium cruentum* con 500 ml de agua desionizada recién calentada a ebullición por 30 minutos. El concentrado final se filtró (Whatman No.1 partícula 11mm) y el filtrado obtenido se liofilizó (Labconco modelo FreeZone 18) y se procedió a guardar en un frasco ámbar, almacenado a -20° C. con el fin de conservar el material sin alterar o perder los principios activo.

La capacidad antagónica *in vitro* del extracto de *P. cruentum*

Para evaluar la capacidad de exclusión *in vitro* del extracto, se procedió a sembrar por triplicado *Aeromonas hydrophila* (1×10^7 ufc/mL) en cajas de agar BHI. Las cajas se incubaron 24 h a 27°C. Posteriormente, utilizando el método de difusión en pozos, se adicionaron 70mL de una suspensión del extracto en discos de papel para ser colocadas en las placas, así mismo se colocaron discos del antibiótico comercial ampicilina. Las placas se incubaron durante 24 h a 30°C, y transcurrido este tiempo se observó la formación de halos de inhibición. Se consideraron positivas aquellas cepas que presentaron halos superiores a 2mm. Además de utilizar otros extractos como lo son el de microalga verde (*Chlorococcum sp.*) y extracto de almendro (*Terminalia sp.*) para comparar la eficiencia inhibitoria ya que estos ya han sido utilizados en el laboratorio y pueden servir de referencia.

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó mediante el método de dilución en caldo infusión cerebro corazón (ICC). Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

Diseño experimental de la prueba *in Vivo*

Obtención de los peces

De un centro productor de peces de ornato, se solicitó un lote de 200 peces juveniles (5 cm de longitud total) que no muestren ningún signo o lesión que indiquen cualquier proceso infeccioso. Los peces se mantuvieron en el Laboratorio de Alimento Vivo del Departamento del Hombre y su Ambiente, donde se equiparon previamente tinajas de cultivo (200 litros) para introducirlos durante un periodo de aclimatación de 15 días, a 23 ± 2 °C de temperatura, un pH de 7, una concentración de oxígeno disuelto de 6 mg L⁻¹ y 0.3 ppm de nitratos (NO₃) y nitritos (NO₂). Los peces fueron alimentados diariamente con alimento comercial para la especie hasta que se inició el proceso experimental.

Después del periodo de aclimatación los peces fueron distribuidos al azar en 9 peceras de 40 L. de capacidad con las condiciones ambientales antes descritas, se contó con un tratamiento control (sin microalga y sin patógeno), un tratamiento donde solo se añadió el patógeno *Aeromonas hydrophila* a una concentración 2×10^{-8} y se adicionó el extracto de *Porphyridium cruentum* a una concentración de 1.0mg/L Por último un tratamiento donde solo se inoculó el patógeno de la manera antes descrita. Cada tratamiento se realizó por triplicado y tuvo un periodo de duración de 60 días.

Obtención de la supervivencia de los peces

Diariamente se llevó un registro de la supervivencia y los signos y lesiones causados por *Aeromonas hydrophila* en los peces infectados y su recuperación con el uso de los extractos, considerando la siguiente tabla.

Tabla 1. Lesiones y signos para caracterizar el cuadro clínico de los peces

Lesión	Signos	Cuadro clínico
Petequias	Anorexia Letargia Palidez Boqueo de superficie Pérdida del eje de nado Aumento de frecuencia opercular	Septicemia Hemorrágica Aguda
Distensión abdominal Exoftalmia Aletas deshilachadas Hemorragias en aletas y ojos	Las anteriores descritas	Septicemia Hemorrágica Sub-Aguda
Hiperemia Hemorragias en aletas y ojos Úlceras	Las anteriores descritas	Septicemia Hemorrágica Crónica

Fuente: Carnevia *et al.*, 2010.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que *Porphyridium cruentum* inhibe el crecimiento de *Aeromonas hydrophila*, junto con otros extractos como lo son: el de alga verde (*Chlorococcum*), de almendro (*Terminalia*) al obtener halos de inhibición de 10mm. La concentración mínima inhibitoria (CMI) observada para el extracto de *P. cruentum* fue de 3.85 mg de extracto ml-1

Algo que debe resaltarse es el hecho de que, en los análisis realizados, se observa una plena resistencia bacteriana de *Aeromonas hydrophila* hacia el antibiótico (ampicilina), tal y como se muestra en la figura 1

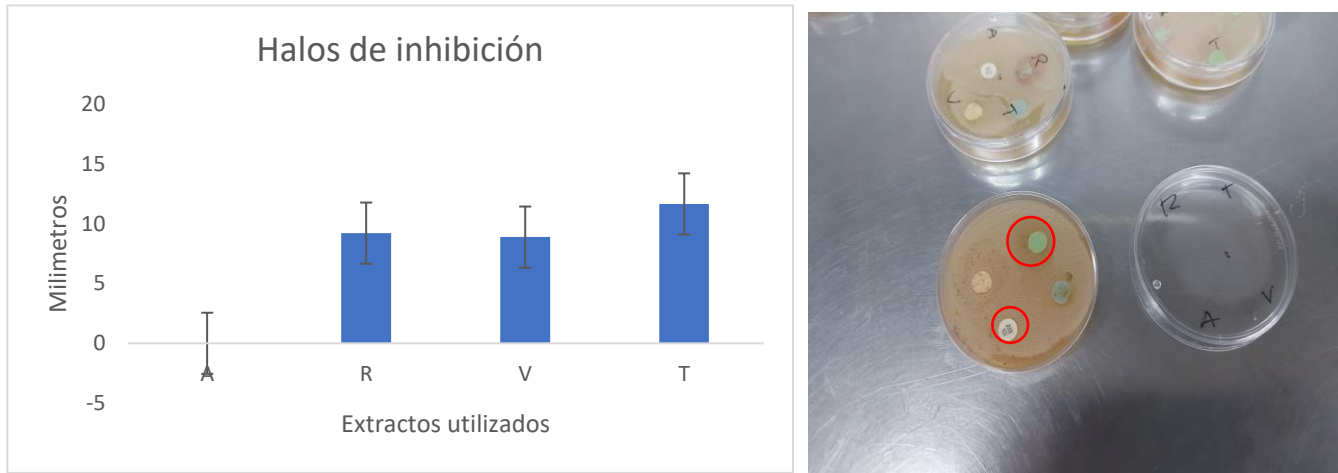


figura 1. Valores promedio de los halos de inhibición representados en milímetros para ampicilina (A), microalga verde (V), microalga roja (R) y extracto de almendra (T).

Supervivencia de la prueba *In vivo*

De la prueba *in vivo* la supervivencia del tratamiento control donde los peces no fueron sometidos a patógeno ni microalgas obtuvo una supervivencia del 40% aun cuando los peces presentaron signos de enfermedad la población logró sobrevivir hasta el final de la experimentación (figura 2).

El tratamiento correspondiente a “patógeno y microalga” mostró menor porcentaje de supervivencia de organismos con poco más del 30%, aun cuando no fue tan evidente la presencia de signos y lesiones de enfermedad. De igual manera el tratamiento donde se inoculó el patógeno y no se dio el tratamiento logro sobrevivir un 30% (Figura 2)

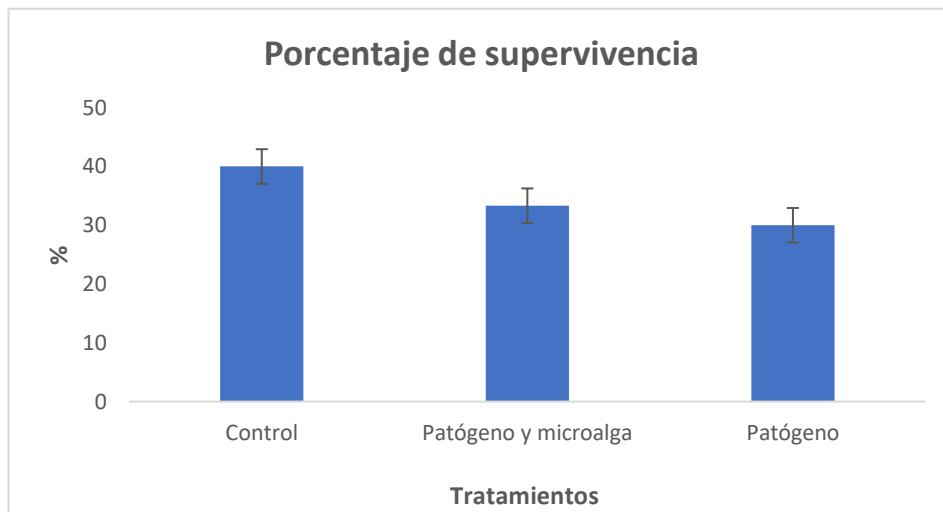


Figura 2. Porcentaje de supervivencia de los tratamientos “control” y “patógeno y microalga” al finalizar la fase experimental.

El signo más común presente en la mayor cantidad de organismos infectados corresponde a la pérdida del eje natatorio, identificándose 11 casos en total, seguido por letargia y boqueo de superficie con signos menos frecuentes al igual que las úlceras (figura 3).

Figura 3. Número de casos registrados en los cuales se detectó la infección por *Aeromonas hydrophila*.

Tratamiento	Lesión	Organismos que presentaron lesión
Control	*Úlceras *Pérdida del eje de nado *Letargia *Distensión abdominal	1 7 2 2
Patógeno	*Pérdida del eje de nado *Letargia *Boqueo de superficie *Úlceras	2 3 2 2
Patógeno y microalga	*Pérdida del eje de nado *Úlceras *Boqueo de superficie	7 2 3

Figura 5. Ejemplar de *Carassius auratus* con signos visibles de Septicemia Hemorrágica, presentando úlceras de tonalidad rojiza.

DISCUSION

De acuerdo con los resultados de este estudio podemos decir que el extracto de *Porphyridium cruentum* posee capacidad de inhibir el crecimiento de *Aeromonas hydrophila in vitro*, incluso con halos de inhibición similares a otros extractos

probados previamente en el laboratorio, como es el caso de *Chlorococcum*. Esto apoya lo reportado por Saracco en el 2007, quien menciona diversas especies de microalgas entre las cuales se encuentra *Porphyridium cruentum* que presentan actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Sin embargo, Algaser *et al.* (2013), reporta mayores halos de inhibición en bacterias Gram negativas como *Aeromonas hydrophila* que los observados en las bacterias Gram positivas al utilizar extractos de *P.cruentum*, lo que sugiere diferencias determinadas por las membranas celulares bacterianas.

Con relación a la infección experimental, el cuadro clínico más frecuente en este trabajo fue el de septicemia hemorrágica aguda, en la cual se reconocen múltiples signos visibles como anorexia, letargia, palidez, boqueo en superficie y pérdida del eje de nado, mismos signos fueron reportados por de Carnevia, (2010) que de igual manera presento la septicemia hemorrágica aguda como forma más común de casos registrados al inocular *A. hydrophila* en los peces de estudio. Para este proyecto de los 26 casos registrados con estos signos todos terminaron con la muerte de los organismos. La mortalidad para la prueba *in vivo* fue muy similar, en los tratamientos donde se inoculo el patógeno y no se dio tratamiento con el extracto y con el tratamiento donde se inoculó el patógeno y se utilizó el extracto de 30 a 33 % respectivamente aunque el tratamiento control (sin patógeno y sin extracto) alcanzo hasta un 40% lo cual sugiere un incremento en la concentración del extracto para lograr efectos positivos en los peces o administrar el extracto a través de algún vector para asegurar que llegue directo al pez, tal como lo señala Orozco, (2015).

A pesar de que los resultados *in vivo* no fueron claros para combatir la enfermedad pudiéndose deber a la concentración del extracto, las pruebas *in vitro* arrojaron buenos resultados al observar la exclusión de *Aeromonas hydrophila* lo cual nos proporciona área de oportunidad en la cual seguir ampliando el estudio para el control natural de esta enfermedad sin el uso de antibióticos, ya que la resistencia a antibióticos como la ampicilina por parte de *Aeromonas hydrophila* se ha visto incrementada con el paso de los años, principalmente debido al excesivo uso de antibióticos comerciales por parte de los productores sobre todo con enfermedades

como la septicemia hemorrágica bacteriana que es una de las enfermedades más comunes en acuicultura Carnevia (2010). Teniendo en cuenta que las cepas encontradas en zonas de producción acuícola son particularmente resistentes a antibióticos, genera dificultades en el tratamiento de enfermedades causadas por este grupo bacteriano (Saavedra, 2012), lo cual acarrea serios problemas al ambiente y a la salud humana.

CONCLUSIONES

El extracto de *P. cruentum* inhibe el crecimiento de *A. hydrophila in vitro*, sin embargo no fue claro su efecto inhibitorio en los peces infectados de manera experimental.

Se sugiere ampliar los estudios e incrementar la dosis administrada con el fin de mejorar los efectos *in vivo*.

REFERENCIAS

Abdala-Díaz, RT, Chabrilón, M, Cabello-Pasini, A, López-Soler, B, & Figueroa, FL. (2010). Efecto de los polisacáridos de *Porphyridium cruentum* sobre la actividad de la línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7. *Ciencias marinas*, 36(4), 345-353. Recuperado en 20 de junio de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802010000400003&lng=es&tlng=es.

Acosta-Jimeno, J., Devezé-Murillo, P. y Méndez-Guerrero, J. (2018). Variabilidad intraespecífica de la temperatura óptima reportada para el cultivo de peces dulceacuícolas en fase de engorda. *Ciencia Pesquera* (2018) 26(1): 69-80p.

Algaser, R., Whida, F., Abduelrhman, E., Gammoudi, F. y Azawai, S. 2013. Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. *Natural Science*, 5(1): 7-14.

Carnevia, D., Letamendia, M., Perretta, A., E. Delgado (2010). Caracterización de septicemia hemorrágica bacteriana (SBH), diagnosticada en peces ornamentales de Uruguay. *Veterinaria* 46: 27-32.

Doadrio I. (2001). Atlas y libro rojo de los peces continentales de España. Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). José Gutiérrez Abascal, 2. 28006 Madrid. 165-166p.

Espinosa de los Monteros, J. (1988). Patología en acuicultura. Plan de Formación de Técnicos Superiores, Programa Especial de I+D de Acuicultura, CAICYT, Madrid, España.

Instituto Nacional de Pesca (INAPESCA). Recuperado de: <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuicultura-peces-de-ornato>

Luna, L. M. G. (2007). Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. Revista Cubana de Química, vol. XIX, núm. 2, 2007, pp. 3-20 Universidad de Oriente Santiago de Cuba, Cuba

Martínez-Cruz, P., Ibáñez, A.L., Monroy-Hermosillo, O.A., Ramírez-Saad, H.C. (2012). Use of probiotics in aquaculture. *ISRN Microbiology*, 1–13. doi.org/10.5402/2012/916845

Moreno Garcia, P., Parra-Riofrio, G., Abdala-Diaz, R.T., García-Rosado, E., Uribe-Tapia, E. (2021). Polisacáridos de *Porphyridium cruentum* presentan actividad antiviral diferencial frente a infecciones causadas de VHSV y VNN. Sociedad Española de Microbiología, Universidad de Málaga, España.

Muñoz Ochoa, M., (2010). Potencial farmacológico de algas marinas de Baja California Sur, México. Doctorado en Ciencias Marinas Thesis, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B. C. S., México, 73 p.

Panigrahi, A. & Azad, I. S. (2007). Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiol. Biochem.*, 33:429-40.

Ríos, N., Medina, G., Jiménez J., Yáñez C., García M., Y., Di Bernardo M., L., Gualtieri M. (2009). Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas venezolanas, *Rev. peru. biol.* 16(1): Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM,

Rivera Talamantes, A. V. (2014). Propiedades ópticas de la microalga *Porphyridium cruentum* en diferentes etapas de crecimiento. Programa de posgrado en ciencias en óptica,

Centro de investigación científica y de educación superior de ensenada, Baja California, México.

Saracco Alvarez, M.R. (2007). Compuestos con actividad antibacterial producidos por las microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Porphyridium cruentum*. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 54 pp.

Saavedra M. (2012). Antibiotic Resistance of the Genus *Aeromonas* spp. *Aquac Res Develop*.

Zafra-Trelles, A. y Vela-Alva, K., (2015). Reproducción y aporte de crías de *Carassius auratus* "goldfish" con diferente alimento en sistema cerrado. Laboratorio de Acuicultura. Departamento de Pesquería. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo-Perú. PezVela Centro de peces ornamentales. Trujillo.