



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**DESARROLLO DE UNA TECNICA DE CULTIVO PARA
LA PRODUCCION MASIVA DEL ROTIFERO
Brachionus calyciflorus.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO
P R E S E N T A
ELVIA LUCIA PAVON MEZA



LOS REYES IZTACALA EDO. DE MEX.

NOV. 1993



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Con todo cariño:

A mis padres: Aurelio Pavón y Juanita Meza porque al guiarme mediante el ejemplo y darme la oportunidad de elegir hacen que cada logro mío sea un tributo a su paciencia y dedicación constantes.

A mis hermanos: Malú, Alfredo y Edgar, porque su apoyo incondicional durante todo el tiempo de mi formación profesional es el mejor aliciente para seguir desarrollándome como ser humano.

A mi hermanita: Gladys, por demostrarme lo difícil que es entender el mundo de los adultos e impulsarme a seguir superándome un poco más cada día.

A mi gran amiga Yola, por todos los grandes momentos que me ha permitido compartir con ella.

Y a quienes, de alguna manera han constituido un peldaño en mi historia y hoy forman parte de mi presente...

AGRADECIMIENTOS

Al Biólogo Mario A. Fernández Araiza porque sin sus consejos y comentarios, el resultado final de este trabajo no hubiera sido el mismo.

Al M. en C. Manuel Elías Gutiérrez por su valioso apoyo para la elaboración del presente trabajo y la revisión del mismo.

Al Biólogo Mario Chávez por sus valiosas sugerencias para el enriquecimiento y presentación de este escrito.

Al Biólogo Agustín Vargas por su apoyo en la elaboración de la parte estadística y la revisión del presente trabajo.

A la Bióloga Regina Sánchez Merino por su buena voluntad y disposición para la revisión de este trabajo.

Al Profr. José Luis Gama Flores por su valiosa ayuda en la realización del estudio bromatológico de los rotíferos y sobre todo por su amistad.

A la M. en C. Gloria Vilaclara por su apoyo en la identificación del alga Scenedesmus spinosus.

Al Ing. Harm Gerdes por sus sugerencias y consejos para la reproducción y cuidados de las cebras (Brachidanio rerio), pero sobre todo por su confianza y cariño.

A los profesores de la carrera de Biología, quienes contribuyeron a mi formación profesional.

A mis amigos Laura, Pablo, Vero, Alberto y Gabriel porque aún sin saberlo, de una u otra forma siempre han estado presentes en los momentos más trascendentales para mí y su compañía me ha permitido seguir adelante cada día.

A todos ellos... mil gracias.

INDICE

<i>Introducción</i>	<i>1</i>
<i>Antecedentes</i>	<i>4</i>
<i>Metodología</i>	<i>9</i>
<i>Resultados y Discusión</i>	<i>17</i>
- <i>Aislamiento y cultivo del alga</i>	<i>17</i>
- <i>Cultivo de rotíferos a diferentes temperaturas</i>	<i>20</i>
- <i>Estructura reproductiva de la población de rotíferos</i>	<i>25</i>
- <i>Análisis bromatológico de los Rotíferos</i>	<i>28</i>
- <i>Los rotíferos como alimento de crías de <u>Brachidanio rerio</u></i>	<i>29</i>
<i>Conclusiones</i>	<i>32</i>
<i>Recomendaciones</i>	<i>33</i>
<i>Apéndice 1</i>	<i>34</i>
<i>Apéndice 2</i>	<i>37</i>
<i>Bibliografía</i>	<i>38</i>

INTRODUCCION

A nivel mundial, la acuicultura se ha venido desarrollando con gran interés puesto que es un medio importante para el abastecimiento de alimento con alto valor proteico, al mismo tiempo que permite hacer una explotación controlada de los recursos acuáticos. En México, desde que se inició el desarrollo de esta actividad, se ha apoyado la creación de técnicas para el cultivo de organismos tanto marinos como dulceacuícolas (Cházari, 1977), de tal forma que para el año de 1987 se cultivaban 57 especies de importancia comercial, para las cuales, en doce ya existía una tecnología de cultivo conocida, es decir el ciclo completo, mientras que para las dieciseis restantes se estaba en proceso de alcanzar una biotecnología más desarrollada (Bol. de Acuicultura, 1987); para hacer más dinámico el crecimiento de esta actividad se creó el programa de Desarrollo Integral de la Acuicultura y se hicieron modificaciones a la Ley Federal de Pesca con la finalidad de permitir la participación de la inversión privada en el cultivo de especies de elevado valor económico (Diario Oficial; 1990, 1992).

Con el aumento de la actividad acuícola, es necesario disponer de mayor cantidad de alimento que, por su contenido nutricional, permita satisfacer los requerimientos energéticos de los organismos en cultivo. Por tal motivo se han formulado y elaborado algunos tipos de alimento en forma balanceada con la finalidad de cubrir tales demandas (Wesche, 1988); sin embargo, su uso se ve limitado ante el desconocimiento que existe acerca de las necesidades nutricionales de un buen número de especies que actualmente se cultivan; además, es frecuente que debido a los procesos de elaboración utilizados, el costo de estos alimentos sea elevado y se afecte de esta

manera la inversión de los acuacultores.

Por otro lado, existe el inconveniente de que para algunas especies de moluscos, crustáceos y peces de importancia económica, es indispensable el consumo de alimento vivo en las primeras etapas de su crecimiento, impidiendo de esta forma el uso de los alimentos balanceados (Martínez, et.al. 1988). De ahí que algunos acuacultores empleen ciertas técnicas para obtener alimento vivo, tales como la cosecha de zooplancton en su medio natural (Azcárate, 1981), o la fertilización, orgánica o inorgánica, de los estanques de crecimiento (FONDEPESCA, 1985); sin embargo, en estos casos existen las desventajas de que la distribución del zooplancton es desigual, la abundancia es temporal y pueden presentarse formas de tamaño inadecuado que compitan o depreden a las especies que se pretende utilizar como alimento.

De esta manera, se ha hecho necesario el desarrollo de técnicas de cultivo masivo de organismos que presenten el tamaño y valor nutritivo adecuado para ser utilizados como alimento en la acuicultura; en Japón por ejemplo, uno de los países más desarrollados en acuicultura, se le ha dado gran importancia al avance de técnicas para los cultivos de apoyo empleados en maricultura; de tal forma que los cultivos de rotíferos (*Brachionus plicatilis*), copépodos (*Tigriopus japonicus*) y *Artemia sp.* son fundamentales, pues se emplean como alimento en las etapas larvarias de algunas especies de importancia comercial (Morales, 1990); el interés que despierta su cultivo radica en que, al ser organismos filtradores, sintetizan la energía proveniente del fitoplancton para transferirla a los organismos de mayor tamaño que se tienen en cultivo y a los cuales sirven de alimento (Neumann-Leitão y Vitoriano, 1987).

El empleo de los rotíferos como alimento de larvas de peces y crustáceos se ha incrementado debido al tamaño que poseen, a su rápido crecimiento y a su alto valor nutritivo (Bennett y Boraas, 1988; Ruthhaupt, 1990; Gilbert, 1991). En particular la especie eurihalina *Brachionus plicatilis* ha sido objeto de cultivo masivo y su uso se ha difundido en varios países del mundo; por tal motivo, se han realizado gran cantidad de estudios a nivel laboratorio con la finalidad de mejorar su producción (Lubzens, et. al., 1980; Neumann-Leitão, et. al., 1989).

En el caso de los rotíferos dulceacuícolas, han sido pocos los estudios realizados con fines de cultivo (Ríos y Ramírez, 1987), por lo que, es necesario desarrollar investigaciones que permitan conocer, tanto características poblacionales como las condiciones requeridas para el cultivo de especies susceptibles de utilizarse como alimento en la producción de especies dulceacuícolas con alto valor comercial.

ANTECEDENTES

El estudio biológico de los rotíferos se ha incrementado gracias a su uso en la acuicultura y como indicadores de la calidad del agua (Sládeček, 1983; Sarma, 1988). Su importancia se debe a que estos organismos juegan un papel esencial en el ciclo de producción de los ecosistemas acuáticos, pues se caracterizan por ser cosmopolitas y muchas especies se alimentan principalmente de detritos y bacterias que, consecuentemente, les permite ser independientes de la producción fitotrófica (Ruttner-Kolisko, 1974). A nivel laboratorio, los rotíferos han sido objeto de cultivo con fines de investigación; Pennak (1953), por ejemplo, describe algunos medios elaborados a base de leche que sirven para mantener a ciertas especies de rotíferos durante algún tiempo. Por su parte, Pourriot (1980) reporta el desarrollo de cultivos axénicos desde 1953, cuando se utilizaban de manera empírica, diversos medios y algas como alimento.

El primer reporte de cultivo a nivel masivo del rotífero *Brachionus plicatilis* data del año 1964 (Torreñtera, 1983) y su uso como alimento para larvas de camarón y peces se reporta desde 1965 (García, 1988), cuando se cultivaban transfiriéndolos de un estanque a otro de *Chlorella*. Por lo impráctico de esta técnica se iniciaron una serie de investigaciones tratando de encontrar un método adecuado que permitiera la producción continua de rotíferos sin depender de los cultivos masivos de *Chlorella*.

Después de varios experimentos se encontró que en las larvas de peces alimentadas con rotíferos producidos a partir de levadura o mezcla de levadura y *Chlorella* ocurrían altas

mortalidades, debido al desbalance nutricional causado por la falta de ácidos grasos esenciales en los rotíferos (Whyte y Nagata, 1990); esto desencadenó una serie de estudios con el fin de determinar las causas de esta baja calidad nutricional y en base a ellos, se determinó que la cantidad de nutrientes que los rotíferos pueden aportar como alimento, depende a su vez de calidad del alimento que estos consumen y al realizar pruebas con ocho especies de fitoplancton marino, solo dos se evaluaron como excelente alimento para *Brachionus plicatilis* (Hirayama, et.al., 1979).

En estudios posteriores se encontró que utilizando *Chlorella* como alimento, se incrementa en un 6.1% el contenido de ácidos grasos en los rotíferos, respecto a los valores obtenidos al alimentarlos solo con levadura (Torreterra, 1983). De aquí se deriva que mientras mayor sea la acumulación de ácidos grasos y componentes de esteroles en los rotíferos, mayor es la cantidad que éstos aportan al utilizarse como alimento de larvas de peces (Teshima et.al., 1981; Lubzens et.al., 1985).

Teniendo en cuenta las características anteriores, se han hecho experimentos con la finalidad de determinar las condiciones óptimas para el crecimiento de *Brachionus plicatilis* alimentado con *Chlorella* marina y así poder optimizar su producción. Cuantificar la cantidad de filtración del alimento (Hirayama y Ogawa, 1972), observar el efecto de diferentes temperaturas en el cultivo (Hirayama y Kusano, 1972) y la influencia de la cantidad de alimento sobre el crecimiento de la población (Hirayama et.al., 1973) son algunos de ellos; los cuales han permitido el desarrollo de mejores técnicas de cultivo en maricultura.

Respecto a las especies de rotíferos dulceacuícolas, hasta

el momento se han utilizado solo algunas con fines de cultivo y en diversos experimentos desarrollados sobre su biología, se reporta que existen ciertos factores que afectan de manera significativa el crecimiento poblacional, tales como las condiciones tróficas del medio (Radwan, 1980; Stemberger y Gilbert, 1985), la temperatura, la concentración de oxígeno y el pH (Arora, 1966; Radwan, 1980), por lo que es indispensable tomarlos en cuenta al momento de establecer un cultivo en el laboratorio.

En general, *B. rubens* y *B. calyciflorus* son las especies dulceacuícolas que se han logrado aislar y mantener con fines de cultivo (Schlüter, 1980; Ríos y Ramírez, 1987; Bennet y Boraas, 1988; Rico y Dodson, 1992) y se ha encontrado que con una dieta adecuada, *B. calyciflorus* puede tener valores nutricionales cercanos a los que se han encontrado en *B. plicatilis* (Rico y Dodson, op. cit.), por lo que se le considera susceptible de ser utilizado como alimento. Este organismo, cuyas características biológicas se encuentran en el Apéndice 1, se describió desde 1766; se caracteriza por habitar aguas alcalinas, se ha localizado en sistemas acuáticos de diversos países (Ahlstrom, 1940) y ha sido empleado favorablemente para mejorar la calidad del agua utilizándolo como un agente para eliminar *E. coli* en cuerpos de agua contaminados (Seaman, et. al., 1986). Del primer estudio sobre rotíferos realizado en México, se reporta su localización en los cuerpos de agua de Xochimilco, Córdoba y el Lago de Chapultepec (Osorio, 1942), posteriormente se caracteriza como un organismo mesosapróbico y habitante común en los cuerpos de agua del Lago de Chapultepec (Vilaclara y Sládeček, 1989).

Un aspecto interesante en esta especie es el polimorfismo que presenta (Ahlstrom, 1940) y que se ha definido como un

mecanismo de defensa asociado con la presencia del rotífero *Asplanchna* (Wetzel, 1981; Gilbert, 1991); sin embargo, en estudios de laboratorio se ha encontrado que por efecto de bajas temperaturas o bajas concentraciones de alimento se puede inducir la presencia de espinas posterolaterales como una respuesta hacia las condiciones adversas del medio (Bogdan y Gilbert, 1982; Stemberger, 1990).

Por todo lo anterior y con el fin de producir un alimento vivo en forma continua para utilizarse en el cultivo de especies dulceacuícolas altamente comerciales, el presente trabajo tiene por objeto obtener una producción masiva de *Brachionus calyciflorus* y conocer las características productivas del sistema tomando como guía los trabajos realizados con el rotífero *B. plicatilis*; para lo cual se cumplirá con los siguientes objetivos específicos:

- 1).- Establecer la densidad del alga *Scenedesmus spinosus* adecuada para la siembra de rotíferos *Brachionus calyciflorus*, en base a su curva de crecimiento.
- 2).- Determinar la temperatura en la que se lleva a cabo el mejor desarrollo de la población del rotífero *Brachionus calyciflorus*.
- 3).- Caracterizar la estructura reproductiva durante el crecimiento poblacional de los rotíferos.
- 4).- Determinar las características nutritivas de los rotíferos mediante un análisis bromatológico.

- 5).- Evaluar la calidad nutricional de *B. calyciflorus* al emplearlos como alimento en crías de peces (*Brachidanio rerio*).

METODOLOGIA

En base a los objetivos establecidos, el desarrollo del presente trabajo se dividió en varias etapas, las cuales se describen a continuación.

1).- Aislamiento y cultivo de Algas.

Con ayuda de una red cónica de 125 micras se filtró agua a aproximadamente 30 cm. de profundidad en las orillas del Lago Mayor de Chapultepec y se colectaron tres muestras de 500 ml. cada una, las cuales se trasladaron al Acuario "Juan Luis Cifuentes Lemus" de la E.N.E.P. Iztacala.

Se encontraron cuatro especies de algas en las muestras obtenidas, de las cuales, tomando en cuenta su abundancia, tamaño y facilidad para el cultivo se decidió aislar la especie *Scenedesmus spinosus* mediante la técnica de placa de agar descrita por Umebayashi (1973). Una vez aislada, esta especie se cultivó en matraces de 250 ml. conteniendo 150 ml. de medio Bold (APHA, 1975) y aireación constante durante 8 días, tiempo en el que se estableció la cepa.

Establecida la cepa del alga, se procedió a su cultivo masivo con el fin de obtener la cantidad adecuada para utilizarse como alimento de los rotíferos. El cultivo se desarrolló en frascos de vidrio con 1.5 lt. de capacidad, temperatura promedio de 26°C (+/- 1°C) mediante calentadores Spot de 75 watts, aireación constante (Bomba Elite 802 y aireadores de poro fino) y fotoperíodo de 12 horas (lámpara fluorescente de luz de día de 30 watts). Con el fin de

determinar la curva de crecimiento correspondiente que permitiera encontrar la densidad de algas adecuada para establecer el cultivo de los rotíferos, según la descripción de Yamasaki y Hirata (1980). Se hicieron conteos en la población del alga mediante una cámara de Neubauer (Umebayashi, 1973), a intervalos de 24 horas durante 14 días, cuando se observó una disminución considerable en el número de células sin que la población pudiera recuperarse.

Por medio de un potenciómetro de campo Cole Parmer Modelo 5941.00, se registraron los valores del pH con la finalidad de observar los cambios ocurridos en el medio con relación al aumento poblacional de las algas y evitar que la presencia de metabolitos afectase el crecimiento de los rotíferos. En base a la relación entre el número de algas y el pH registrado se decidió sembrar a los rotíferos en la concentración de 20×10^6 cel/ml del alga. Se comprobó que es una concentración adecuada para el crecimiento de los rotíferos, al sembrarlos en densidades de alga de 5 y 30×10^6 cel/ml respectivamente y obtener pocos organismos en la primera y nulo crecimiento en la segunda.

2).- Aislamiento del rotífero.

De las mismas muestras trasladadas al Acuario de la E.N.E.P.I., con ayuda de un microscopio estereoscópico y mediante micromanipulación, se aislaron en agua destilada 20 rotíferos de la especie *B. calyciflorus*; se realizaron los cambios necesarios hasta no encontrar organismos de otra especie que pudiera afectar el cultivo.

Los rotíferos aislados se mantuvieron en un matraz de 250 ml, aireación constante y temperatura de 26°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$), ya

que debido al tamaño del recipiente fué la única que se logró mantener controlada; se alimentaron con levadura de pan (Hirayama et. al., 1973; García, 1988) durante tres días, tiempo en que la población se incrementó a 35 individuos. A partir de ésta se aislaron 20 rotíferos y se trasladaron a un matraz conteniendo 150 ml. de medio con *Scenedesmus spinosus* a una concentración de 5×10^4 cel/ml, temperatura de 26°C y aireación constante, con el propósito de verificar la aceptación del alga como alimento (observando el tracto digestivo de los rotíferos) y pudieran ser trasladados a este medio. Los 15 rotíferos restantes se conservaron bajo las características mencionadas, pero utilizando levadura de pan como alimento.

Después de una semana se observó mayor número de organismos en el medio con algas, por lo que se consideró establecida la población en este tiempo. Durante el desarrollo experimental del presente trabajo se conservó una cepa bajo las condiciones de cultivo antes mencionadas resemebrando los rotíferos en medio nuevo de algas cada semana.

3).- Cultivo de rotíferos a diferentes temperaturas.

Con los resultados obtenidos en la fases anteriores y tomando en cuenta que la temperatura es un factor determinante en el crecimiento de los rotíferos (Hirayama y Kusano, 1972; Rutner-Kolisko, 1974; Radwan, 1980), se determinó la temperatura óptima para el desarrollo poblacional de *B. calyciflorus*. Para ello se tomaron en cuenta los trabajos realizados por Hirayama y Kusano (1972) con *B. plicatilis* y por Rico y Dodson (1992) con *B. calyciflorus*. Se montaron tres lotes con cuatro repeticiones cada uno, estableciendo los cultivos correspondientes a las temperaturas de 25°, 27° y

29°C, con una variación de $\pm 1^\circ\text{C}$ cada una.

En cada tratamiento se inició el cultivo sembrando 2 rot/ml en cada recipiente conteniendo el alga *S. spinosus* a la densidad de 20×10^6 cel/ml. Se disminuyó la aireación por medio de una válvula manual para permitir el desplazamiento de los organismos, pero logrando mantener en suspensión el alimento. El fotoperíodo se mantuvo constante en 12 horas a lo largo del trabajo.

Mediante la desviación estándar (APHA, 1975) se determinó el número de muestras para evaluar el crecimiento de la población en cada uno de los sistemas de cultivo. El crecimiento se determinó contando diariamente el número de organismos (vivos) presentes en cinco alícuotas de 1 ml., las cuales se tomaron con una pipeta graduada de 1 ml. después de haber homogenizado el medio.

El conteo de los rotíferos se realizó bajo el microscopio estereoscópico con ayuda de una cámara para zooplancton (Yamasaki e Hirata, 1980) y una pipeta Pasteur con bulbo; los conteos se terminaron cuando se registró disminución del número de rotíferos en la población, ya que en todos los casos se observó que esto ocurre al agotarse el alimento y la población se elimina al siguiente día.

Las curvas de crecimiento de la población se elaboraron conforme al promedio de los valores obtenidos en las repeticiones correspondientes a cada tratamiento, habiéndose comprobado mediante el análisis de pendientes que no hubo diferencias estadísticamente significativas. De acuerdo al resultado de la prueba de error estándar de los estimadores, se decidió utilizar la fórmula del modelo logístico (Odum, 1983) cuya ecuación es la siguiente:

$$N(t) = \frac{K}{1 + e^{(a - rt)}}$$

Donde : $N(t)$ = Número de individuos al tiempo t .
 K = Capacidad de soporte del medio.
 r = Tasa intrínseca de crecimiento.
 e = Constante de los logaritmos naturales.
 $a = r/K$

Para determinar la significancia de los resultados ($P < 0.001$) entre los tratamientos se utilizó el análisis de comparación de pendientes y la diferencia mínima significativa real (Tukey) para pendientes (Zar, 1972). Esto se corrió con el paquete XY-vers. A.01.01 elaborado en el Área de Matemáticas de la E.N.E.P. Iztacala.

Se calcularon los valores de la tasa de crecimiento poblacional (C_p) mediante la fórmula descrita por Neumann-Leitao, et. al. (1989):

$$C_p = \frac{\ln N_t - \ln N_o}{t}$$

Donde: C_p = Tasa de crecimiento poblacional
 N_o = Número inicial de organismos.
 N_t = Número máximo de organismos.
 t = Tiempo de N_o a N_t .

4).- Determinación de la Estructura reproductiva en la población de rotíferos.

Se sembraron por duplicado rotíferos a una concentración de 2 ind/ml en matraces con 125 ml. del medio de algas a una densidad de 5×10^6 cel/ml, temperatura de 26°C y aireación constante, se catalogó a los organismos en juveniles (hembras sin huevo), hembras con un huevo (huevos de resistencia), hembras con más de un huevo y machos.

La densidad del alga empleada se modificó en este caso, con la finalidad de facilitar el conteo y la clasificación de los organismos en los diferentes grupos establecidos, ya que con las poblaciones obtenidas en los tratamientos de la fase anterior se dificultaba este procedimiento; de tal forma que se realizó bajo las condiciones de cultivo en las cuales se estableció la cepa de rotíferos (fase 2).

La fertilidad se determinó mediante la fórmula descrita por Radwan (1980) para poblaciones de rotíferos.

$$E = \frac{N_e}{N} \cdot \text{ml}^{-1}$$

Donde: E = Fertilidad

N_e = Número de hembras con huevo.

N = Total de hembras.

ml = Unidad de volumen.

5).- Análisis bromatológico.

La evaluación de la calidad nutricional de los rotíferos requirió que se hicieran cosechas subsecuentes de organismos

hasta reunir la cantidad necesaria a utilizar en las técnicas correspondientes. Para ello se filtró el medio (cuando la población se encontraba en el punto de cosecha) a través de una malla nylon de 20 micras y se centrifugó a 500 r.p.m. durante diez minutos para obtener un concentrado de rotíferos y proceder a su secado, el cual se realizó colocando la masa de rotíferos directamente al sol durante 48 horas.

La cantidad de proteína cruda en peso seco se determinó utilizando tres muestras de 200 miligramos cada una, a través de la técnica de Micro-Kjeldahl (Chino, et. al., 1991). Para cuantificar la cantidad de lípidos mediante la Técnica de Extracción de Golfish se utilizaron tres muestras de 500 miligramos y para cuantificar carbohidratos se utilizaron tres muestras de 150 miligramos empleando la Técnica de Nelson-Simogy (González y Peñaloza, 1984).

6).- Efecto de la calidad nutricional de los rotíferos en el desarrollo de crías de peces.

Se emplearon los rotíferos como alimento de crías del pez cebra (*Brachidanio rerio*), y se comparó con la alimentación a base de yema de huevo, comúnmente utilizada en el cultivo de peces de ornato (Gerdes, H. A., comunicación personal). Para ello, se colocaron tres lotes por duplicado, cada uno con 50 crías recién nacidas (0.35 cm. de longitud) en peceras con 40 litros de agua, aireación constante y temperatura promedio de 26.5°C (+/- 1°).

Las crías se alimentaron dos veces al día en un lapso de 10 días, ya que a esta edad se recomienda hacer cambio en la dieta de los peces. Los 3 tratamientos utilizados fueron rotíferos, rotíferos y yema de huevo (aplicando los primeros

en la ingesta matutina y lo segundo en la ingesta vespertina) y yema de huevo.

Al término del experimento se midieron 10 crías de cada lote (longitud total); los datos obtenidos se analizaron estadísticamente utilizando un Análisis de Varianza (ANDVA) para comparar las medias y poder determinar diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.02$), posteriormente se realizó la comparación de medias por el estadístico de Tukey. (Zar, 1972).

RESULTADOS Y DISCUSION

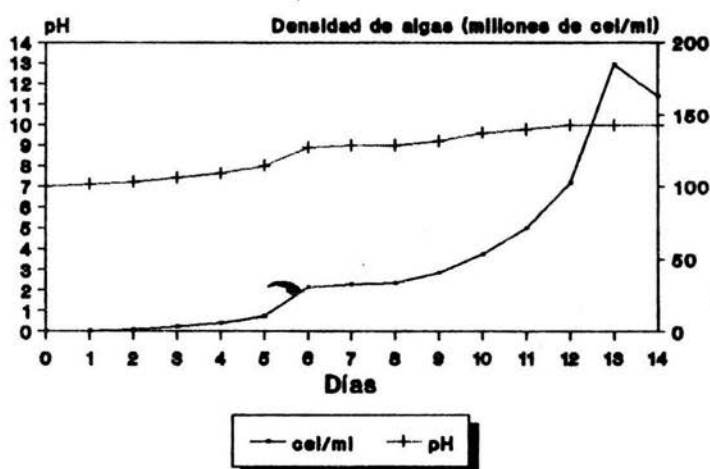
Durante la primera fase del presente trabajo, correspondiente al aislamiento y cultivo de algas, se decidió utilizar la especie *Scenedesmus spinosus* en base a sus características poblacionales, considerando además que al habitar el mismo medio donde se localiza al rotífero *Brachionus calyciflorus*, se garantiza una alimentación adecuada de este, pues se observó que aún cuando las células en cultivo forman cenobios (Apéndice 2), estos no sobrepasaron las 10 micras de ancho, permitiendo así ser consumidas por el rotífero. Esta es una característica importante pues se ha encontrado que, debido a la configuración del mástax, el rango de partícula favorable para su alimentación es de 6 a 12 micras y el tamaño óptimo es de aproximadamente 10 micras (Ruthhaupt, 1990).

De ahí que en su medio natural, las poblaciones de rotíferos se vean claramente influenciadas por la cantidad y tipo del alimento presente (Radwan, 1980; Wetzel, 1981). En Brasil, por ejemplo, se ha reportado la presencia de *Brachionus calyciflorus calyciflorus* asociada con la abundancia de clorofíceas, principalmente de *Actinastrum spp.* y *Chlorella sp.* (Neumann-Leitão y Vitorino, 1987).

Por lo tanto, en el cultivo masivo de rotíferos ha sido primordial el desarrollo de diversos experimentos con la finalidad de observar el efecto que produce el suministro de diferentes tipos de alimento sobre su crecimiento. De las algas empleadas en la dieta de los rotíferos, algunas especies pertenecientes al género *Scenedesmus*, tanto marinas como de agua dulce, han sido favorables para el desarrollo de poblaciones de *B. plicatilis* (Hirayama, et. al., 1979) y *B.*

rubens (Shlüter, 1980) respectivamente.

En base al crecimiento poblacional de *Scenedesmus spinosus*, representado en la siguiente gráfica (Gráfica 1), se decidió la densidad de alimento adecuada para la siembra de los rotíferos.



GRAFICA 1. CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *Scenedesmus spinosus*, CON LOS VALORES DE pH CORRESPONDIENTES.

En esta gráfica se observa que durante el cultivo del alga se registró un máximo poblacional de 185×10^6 cel/ml, el cual se obtuvo al día trece del cultivo, disminuyendo al siguiente día, debido al agotamiento de nutrientes en el medio (pues no hubo adición de medio nuevo).

También se registra un aumento paulatino en los valores de pH (de 7.0 a 9.6) durante el crecimiento poblacional, lo cual

es un aspecto característico en el cultivo de diversas especies de microalgas (Barnabé, 1991) y, aunque los valores obtenidos caen dentro del rango de tolerancia de *B. calyciflorus* (Arora, 1966), es necesario tomar en cuenta que este incremento es causado por la acumulación de toxinas en el medio (Stemberger y Gilbert, 1985), con lo que se puede afectar el desarrollo poblacional de los rotíferos si, al sembrarlos directamente en el medio de las algas, las condiciones de este se encuentran saturadas.

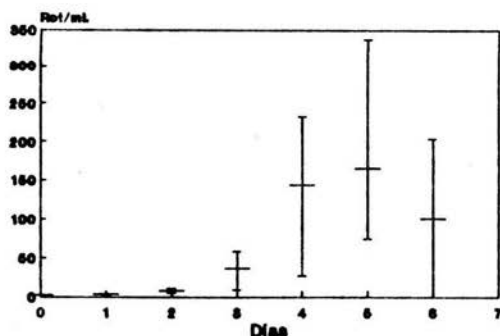
Tomando en cuenta lo anterior y haciendo una relación entre la curva registrada durante el crecimiento poblacional del alga *Scenedesmus spinosus* (Gráfica 1), y el hecho de que Guisande y Mazuelos (1991) encontraron que la cantidad y calidad del alimento influye de manera determinante en el patrón reproductivo de *B. calyciflorus* respecto al número y tamaño de huevos producidos, se decidió realizar la siembra de los rotíferos cuando la población de algas alcanzó una concentración de 20×10^6 cel/ml, cantidad en la que el valor de pH correspondiente (8.4) es intermedio entre el mínimo y el máximo registrados.

En las pruebas que se realizaron para observar el efecto de utilizar densidades de alga diferentes a la establecida para la siembra de los rotíferos (Fase 1 de la metodología), se encontró que en concentraciones menores (5×10^6 cel/ml) el número de organismos que se logra es bajo (aproximadamente 40 rot/ml), mientras que al sembrarlos en la concentración de 30×10^6 cel/ml los rotíferos morían. Esto último es debido a la forma de alimentación característica del género *Brachionus*, que provoca la obstrucción del sistema de filtración de los organismos cuando existen elevadas concentraciones de partículas alimenticias en el medio (Shlüter, 1980; Wetzel, 1981; Ruthhaup, 1990).

De los resultados obtenidos durante el aislamiento de los rotíferos (fase 2), se puede afirmar que, aunque no se tienen reportes acerca de la utilización del alga *Scenedesmus spinosus* en cultivos de rotíferos, ésta presenta características favorables para el crecimiento poblacional de *B. calyciflorus*; siendo también una opción importante para alimentar otras especies pertenecientes a los denominados "cultivos de apoyo" (Cladóceros, Copépodos, Artemia, etc.). En el estudio realizado por Castillo y Berger (1983) sobre el cultivo de algas pertenecientes al género *Scenedesmus*, se reportan valores proteicos muy semejantes a los encontrados en *Chlorella sp.*, que es el alga típicamente empleada por su alto valor nutritivo (Geldenhuys et. al., 1988).

Los resultados registrados durante el cultivo de rotíferos a diferentes temperaturas (fase 3), muestran que en el tratamiento a 25°C, el máximo poblacional se obtiene a los cinco días de haberse iniciado el cultivo y corresponde a 165 rot/ml (Gráfica 2). El modelo de este crecimiento se representa de la siguiente forma:

$$N_t = \frac{165}{1 + e^{4.8715 - (0.0564)(t)}} \quad r^2 = 0.9266$$

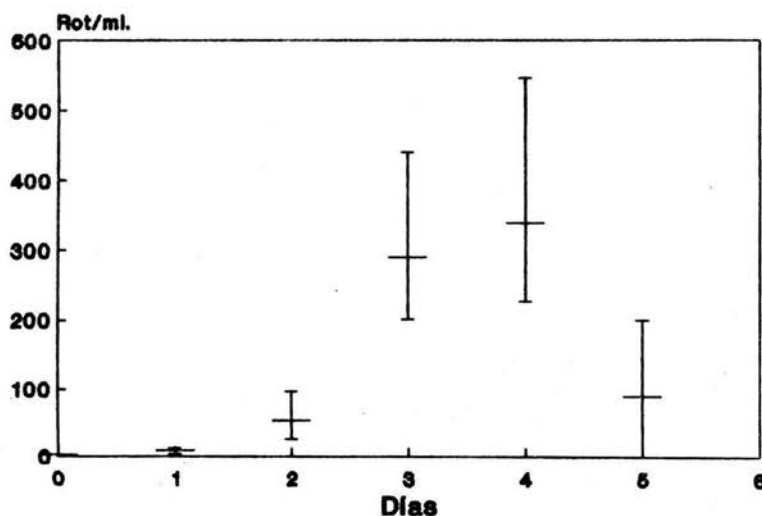


GRAFICA 2. CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *Brachionus calyciflorus* A LA TEMPERATURA DE 25 GRADOS C.

Organismo
A. calyciflorus
Rotíferos
estirpe
autóctona

A los 27 °C la cosecha de organismos se logra, en promedio, al cuarto día posterior a la siembra, correspondiente al punto máximo del crecimiento de la población, en el cual los rotíferos se encuentran en óptimas condiciones nutricionales, ya que existe mayor proporción de juveniles y estos presentan el tracto digestivo lleno de algas (observación personal). Esto se observa en la Gráfica 3, con el siguiente modelo:

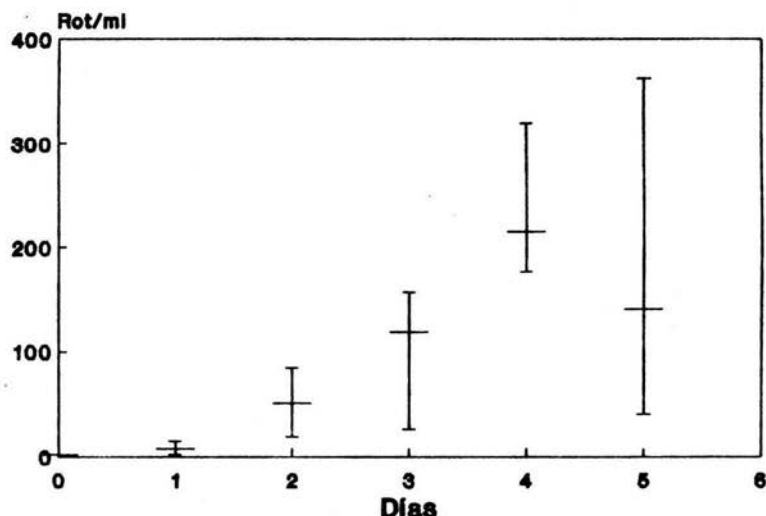
$$N_t = \frac{340}{1 + e^{4.8687 - (0.0559)(t)}} \quad r^2 = 0.9116$$



GRAFICA 3. CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *Brachionus calyciflorus* A LA TEMPERATURA DE 27 GRADOS C.

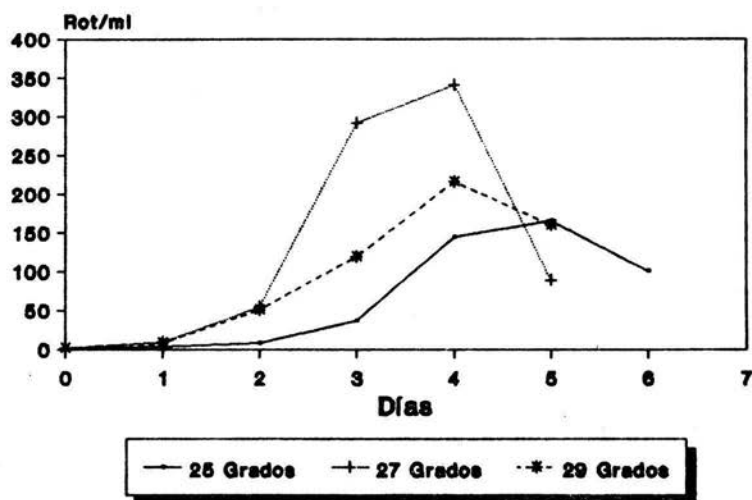
Finalmente, en el tratamiento a 29°C se obtiene el máximo poblacional a los cuatro días de haber sembrado los rotíferos, y corresponde a 215 rot/ml (Gráfica 4), cuyo modelo es:

$$N_t = \frac{215}{1 + e^{4.3358 - (0.0534)(t)}} \quad r^2 = 0.9535$$



GRAFICA 4. CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *Brachionus calyciflorus* A LA TEMPERATURA DE 29 GRADOS C.

Las variaciones en el crecimiento poblacional a diferentes temperaturas se representan en la Gráfica 5, donde se observa que en las tres curvas disminuye la población en el último punto, debido a que no hubo aporte de medio nuevo y, al agotarse la cantidad de alimento, ésta decae sin recuperarse.



GRAFICA 5. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LOS ROTIFEROS.

Comparando los resultados en los tratamientos utilizados, se observa un mejor desarrollo de la población de rotíferos a la temperatura de 27°C, ya que es donde se presenta mayor número de organismos (Gráfica 3) y crecimiento más acelerado (Gráfica 5), lo cual se corroboró mediante el análisis de comparación de pendientes, en el que se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las pendientes ($P < 0.001$) con un valor de $F = 7.7678$; además, a través de la diferencia mínima significativa real (Tukey) para pendientes se encontró que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos. Esto nos muestra la especificidad de *Brachionus calyciflorus* para desarrollarse adecuadamente, ya que aún cuando la diferencia de temperatura no es tan amplia ($\pm 2^\circ\text{C}$), la cantidad de organismos varía significativamente. En los rotíferos, las condiciones de cultivo son específicas para

lograr establecer máximas producciones en las diferentes especies, ya que a diferencia de los resultados en el presente trabajo, para el cultivo de *Brachionus plicatilis* se ha establecido que hay una mayor producción a la temperatura de 25°C (Hirayama y Kusano, 1972; Barnabé, 1991).

Las condiciones descritas para el cultivo de *Brachionus calyciflorus*, permiten establecer un cultivo continuo de organismos que pueden ser utilizados directamente como alimento de crías de peces y crustáceos o, en forma alternativa, sembrarse en recipientes de mayor capacidad para obtener una producción masiva. Cabe señalar que en base a la temperatura se pueden regular el crecimiento poblacional según se requiera, ya sea en el tiempo de cosecha o en la cantidad de organismos a obtener.

En relación al cultivo a 27 °C y el máximo número de organismos obtenido (340 rot/ml.), se establece una producción promedio aproximada de 340,000 rot/l día⁻¹. Dato interesante si se toma en cuenta que Rico y Dodson (1992) citan una producción diaria de 122,000 rot/l para *B. plicatilis* con una densidad de 790 rot/ml y, para *B. calyciflorus* de 168,200 rot/l con una densidad de 891 rot/ml, que correspondería aproximadamente a la mitad de la producción obtenida bajo las condiciones de cultivo establecidas en el presente trabajo, sin embargo, no es posible hacer una comparación detallada puesto que no describen la técnica utilizada en el cultivo.

Las tasas de crecimiento (Cp) obtenidas en los diferentes tratamientos y que se muestran en la Tabla 1, indican que existe un elevado crecimiento poblacional en los cultivos de *B. calyciflorus* a diferentes temperaturas.

25 °C	27 °C	29 °C
0.88	1.28	1.17

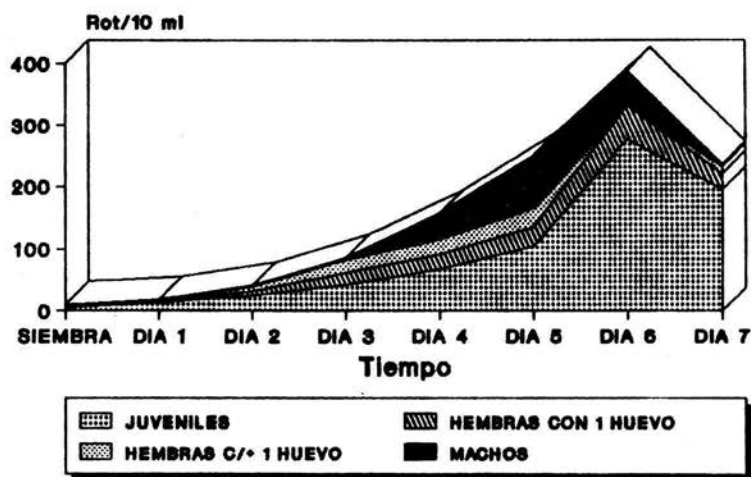
TABLA 1. • Valores de la tasa intrínseca de crecimiento a diferentes temperaturas.

Aún en el tratamiento a 25 °C, donde hubo menor crecimiento, se observa que el valor correspondiente (0.88) es notablemente superior a los obtenidos en otros trabajos, como en el de Rico y Dodson (op. cit.) con *B. calyciflorus*, del cual se determinó una tasa intrínseca de crecimiento de 0.24 o en el de Neumann-Leitão et. al. (1989) con *B. plicatilis*, quienes consideran que se tiene una buena tasa de crecimiento en valores entre 0.24 y 0.49.

Durante la determinación de la estructura reproductiva de la población (fase 4), se registró la presencia de machos, aspecto interesante en relación al comportamiento reproductivo de los rotíferos, pues se sabe que en ambientes naturales las poblaciones de hembras amícticas cambian una o dos veces al año, sin que se hayan logrado establecer los mecanismos que determinan este cambio (Wetzel, 1981). Sin embargo, al establecerse las poblaciones de rotíferos en laboratorio comúnmente se ha visto que poblaciones pequeñas permanecen partenogénicas y la bisexualidad aparece durante el incremento de la población (Pennak, 1953).

En la gráfica correspondiente a la estructura reproductiva (Gráfica 6), se observa que la proporción de juveniles a lo largo del crecimiento poblacional es mayor con respecto a los demás organismos presentes (> 42 %). Los machos aparecen a partir del segundo día de cultivo y presentan mayor proporción al 5o. (33 %), un día antes de que la población llegue al

punto máximo. Las hembras con un huevo y las hembras con más de un huevo se presentaron en mayor cantidad al tercer día del cultivo (23 % y 24 % respectivamente).



GRAFICA 6. ESTRUCTURA REPRODUCTIVA DE LA POBLACION DE ROTIFEROS, SEMBRADOS EN 5 MILLONES DE CEL/ML DE ALGA Y TEMPERATURA DE 26 GRADOS C.

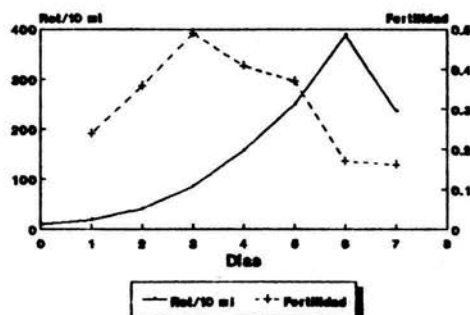
Estos resultados concuerdan con los obtenidos en diferentes cultivos de *B. plicatilis*, donde Lubzens et. al. (1980) reportan la aparición de machos a partir del segundo día de transferir hembras a algún medio con diferente salinidad y Neumann-Leitão, et. al. (1989) encontraron mayor proporción de juveniles durante el desarrollo del cultivo.

La presencia de machos durante el presente estudio se debió a que los organismos sembrados provenían de la cepa de rotíferos establecida durante la fase 2, pues a través de

trabajos experimentales se ha demostrado que los cambios en la calidad o cantidad de alimento, el pH, así como la restricción del espacio y adición de medio de cultivo fresco, son algunos de los factores responsables del cambio en el tipo de reproducción y la aparición de machos en las poblaciones de rotíferos en cultivo (Pennak, 1953). Por otro lado, mediante la técnica utilizada no fué posible sembrar sólo organismos juveniles sino que también se sembraron hembras con huevos (Gráfica 6), entre los que posiblemente se incluyeron huevos micticos.

Cabe mencionar que las hembras con un solo huevo aparecen al día siguiente que se registró la presencia de machos en la población, por lo que se puede afirmar que hubo reproducción sexual y que los huevos de estas hembras corresponden a los llamados huevos de resistencia, pues mediante observaciones personales se registraron diferencias morfológicas con los que cargan las hembras con más de un huevo. Además, concuerda con lo registrado por Ramakrishna y Sarma (1985) en hembras de *Brachionus patulus*, las cuales cargan sólo un huevo de resistencia.

La siguiente gráfica muestra que la curva de fertilidad aumenta de manera inversa a la curva del crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*, mostrando el punto máximo al 3er. día de cultivo (0.49), cuando la curva de crecimiento de la población se encuentra en la fase ascendente y disminuye considerablemente al 6o. día (0.17), cuando la población se encuentra en el punto máximo de crecimiento (388 rot/10 ml).



GRAFICA 7. CRECIMIENTO POBLACIONAL Y VALORES DE FERTILIDAD DE LOS ROTIFEROS SEMBRADOS EN 5 MILLONES DE CEL/ML DE ALGAS Y TEMPERATURA DE 26 GRADOS.

Relacionando los valores de fertilidad con la estructura reproductiva de la población, el valor máximo se presenta cuando existe una proporción semejante entre hembras con huevos y juveniles y decrece conforme aumenta la cantidad de machos y de hembras con un solo huevo, etapa que corresponde a la formación de huevos micticos (Ruttner-Kolisko, 1974).

Los porcentajes obtenidos a través del análisis bromatológico de los rotíferos (fase 5) en relación al contenido de proteína cruda, lípidos y carbohidratos se sintetizan en la siguiente tabla.

PROTEINAS	LIPIDOS	CARBOHIDRATOS
36.16 % (+/- 0.6)	2.4 % (+/- 0.4)	15 % (+/- 0.0)

TABLA 2. Análisis proximal del rotífero *Brachionus calyciflorus*.

En esta Tabla se observa que el valor nutritivo de *B. calyciflorus* es alto, sin embargo, es menor al reportado para nauplios de *Artemia salina*, que comúnmente se han utilizado

como alimento de crías de peces y crustáceos. Los valores reportados en los nauplios recién eclosionados son de 41.6% de proteína, 23.1% de lípidos y 22.7% de carbohidratos; sin embargo es importante tomar en cuenta que por lo regular, éstos son utilizados algunas horas después su eclosión, por lo que la cantidad de nutrientes ha disminuido considerablemente (Benijts, et. al., 1975) y también se ha encontrado que el valor nutricional de los nauplios varía según la raza geográfica, las condiciones del medio y el tiempo de eclosión (Barnabé, 1991).

Por otro lado, durante las primeras etapas de su desarrollo, algunas especies de peces y crustáceos presentan una talla muy pequeña, por lo que tienen dificultades para consumir los nauplios de *Artemia*. Lo que ha hecho necesario el empleo de otro tipo de microorganismos que sirvan de alimento y cumplan con los requerimientos nutricionales de los organismos en cultivo para permitir su desarrollo a tallas mayores. De esta forma, al utilizar al rotífero *B. calyciflorus* como alimento de crías recién nacidas de *Brachidanio rerio* (fase 6 de la metodología), se obtuvieron los siguientes resultados.

TIPO DE ALIMENTO	LONGITUD INICIAL (cm.)	LONGITUD FINAL (cm.)	INCREMENTO (cm.)	DESV. STANDAR
(A) ROTIFEROS	0.350	0.630	0.280	0.082
(B) HUEVO/ROTIFEROS	0.350	0.659	0.309	0.093
(C) HUEVO	0.350	0.579	0.229	0.090

TABLA 3. Crecimiento de las crías de *Brachidanio rerio*, comparando diferentes dietas.

En esta Tabla se observa que el mayor incremento de longitud se logra con la dieta B, seguido por la dieta A y el menor incremento fué con la dieta C. Al comparar estos resultados mediante el análisis de varianza (ANDVA), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.02$), pero al realizar la comparación de medias por el estadístico de Tukey no se registró diferencia significativa entre la dieta B y la dieta A (0.029), por lo que aún cuando el mejor alimento es la combinación huevo/rotífero, la dieta a base de rotíferos también permite el buen crecimiento de los organismos.

Aún cuando en la práctica la yema de huevo ha resultado ser buen alimento en diversos peces de ornato (entre ellos *Brachidanio rerio*), al comparar esta dieta con el suministro de rotíferos (Tabla 3), se observa que las crías presentan un menor crecimiento, lo que significa que no cubre los requerimientos nutricionales para el buen desarrollo de éstas.

Por lo anterior se considera que el uso del rotífero *Brachionus calyciflorus* como alimento es un factor favorable para el cultivo de organismos que tengan alto valor comercial y que requieran del suministro de alimento vivo durante sus primeras etapas de crecimiento. Sin embargo, es necesario tomar en cuenta algunos aspectos para establecer un cultivo de rotíferos a nivel masivo con fines de alimentación, pues, si bien mediante la técnica de cultivo establecida en el presente trabajo existen resultados favorables en relación a la cantidad de organismos obtenida y la calidad alimenticia que presentan, respecto a los costos que representa una producción a gran escala, no es una técnica costeable si se compara con el uso de otros alimentos no convencionales, como la yema de huevo, que se utilizan en las crías de peces.

En base a lo anterior, se considera que el cultivo masivo de rotíferos puede ser viable, también desde el punto de vista económico, si se desarrolla buscando otras alternativas para los medios de cultivo, de tal forma que para la producción de microalgas se utilicen otras sustancias más económicas, como pueden ser los fertilizantes inorgánicos utilizados en agricultura.

CONCLUSIONES

- 1.- El alga *Scenedesmus spinosus* en la concentración de 20×10^6 cel/ml se considera un alimento adecuado para el cultivo del rotífero *Brachionus calyciflorus*.
- 2.- La temperatura de 27°C es la óptima para el cultivo del rotífero *B. calyciflorus*.
- 3.- Al cuarto día de la siembra, la producción promedio de rotíferos en el cultivo a 27°C es de 390 rot/ml, correspondiente a 598 000 rot/1.5 l.
- 4.- La población de rotíferos está compuesta, a lo largo del cultivo, por mayor proporción de juveniles.
- 5.- Por las condiciones en la siembra de los rotíferos, se presenta reproducción sexual en el cultivo.
- 6.- La calidad nutricional de los rotíferos es favorable para el desarrollo de crías de *Brachidanio rerio*, por lo que se puede emplear durante las primeras etapas de desarrollo de diversas especies comerciales en cultivo.
- 7.- Mediante la técnica de cultivo establecida para el rotífero *Brachionus calyciflorus*, se dan las bases para el establecimiento de una producción masiva de alimento vivo con alta calidad nutricional.

RECOMENDACIONES .

- 1.- Experimentar con el uso de fertilizantes agrícolas para disminuir costos en el cultivo del alga *Scenedesmus spinosus*.
- 2.- Probar el empleo de recipientes de mayor tamaño en el cultivo de las algas, con el fin de conocer el tiempo en el que se alcance la densidad deseada.
- 3.- Probar el efecto de densidades entre 20 y 30 X 10⁶ cel/ml. del alga *Scenedesmus spinosus* en el desarrollo poblacional de los rotíferos.
- 4.- Comparar el crecimiento de los rotíferos logrado en los recipientes de 1.5 litros con algunos de mayor capacidad (de 5 a 20 litros).
- 5.- Realizar experimentos para caracterizar la reproducción sexual y asexual que se presenta durante el cultivo.
- 6.- Realizar análisis de costos en relación al desarrollo de instalaciones para una producción a gran escala.
- 7.- Experimentar el empleo del alga *Scenedesmus spinosus* como alimento de otras especies en cultivo (por ejemplo rotíferos, cladóceros, copépodos o langostinos).

APENDICE 1**

CLASE: Monogononta
ORDEN: Ploima
FAMILIA: Brachionidae
SUBFAMILIA: Brachionidae
GENERO: Brachionus
ESPECIE: *Brachionus calyciflorus*
(Ruttner-Kolisko, 1974).

Organismos dulceacuícolas de vida libre, característicos de aguas alcalinas; son filtradores omnívoros cuya longevidad alcanza los 6 días, su longitud varía entre 200 y 500 micras y presentan dos espinas posterolaterales cuya forma difiere en relación a ciertos factores medioambientales. De manera general su morfología corporal se divide en tres regiones:

- 1.- Cefálica, la cual posee una corona ciliada modificada en un área triangular situada en la región anterior de la boca, se encuentra bordeada por líneas de cilios fusionados (Pseudotroco) y rodeada anteriormente por una serie de penachos de cirros rígidos. Presenta una estrecha línea de cilios, evidentemente los remanentes de la banda circumpical.

Esta región se encarga de las funciones básicas de locomoción, la captura de nutrientes y la sensorial. la corona está dividida en cinco lóbulos distintos entre los que se encuentran largas cerdas sensoriales y el ojo cerebral.

2.- Troncal o tronco, el cual está cubierto por una lórica en forma de saco con cuatro espinas sobre el margen anterior y prolongaciones en forma de espina en la región posterior; se encuentra lleno de fluido corporal donde se distribuyen los siguientes órganos: tracto digestivo (mástax, esófago e intestino), el órgano excretor con células flama, la vejiga, el órgano genital (germarium y vitellarium); el cerebro manda inervaciones hacia las antenas dorsal y lateral y finalmente, numerosos músculos circulares y longitudinales extendidos entre la cabeza y el pie.

3.- Terminal o pie. Esta última región es estrecha, segmentada y retráctil sobre sus segmentos. En su extremo se encuentran dos prolongaciones o dedos con glándulas para la fijación que además son locomotores.

Presentan un mástax grande denominado "Maleado" cuya función es triturar, asir y bombear el alimento, su reproducción es tanto sexual como partenogénica. Son dioicos y presentan marcado dimorfismo sexual, siendo las hembras más grandes que los machos. Las hembras cargan los huevos en la apertura del pie y cada huevo se presenta unido individualmente al cuerpo.

Durante la gran parte del año las hembras se reproducen exclusivamente por partenogénesis. Estas hembras son llamadas amícticas y producen a su vez huevos amícticos que son diploides. Existe un segundo tipo de hembras llamadas mícticas, las cuales sólo aparecen cuando hay condiciones críticas y especialmente cuando se presentan cambios en los factores ambientales. Los huevos de las hembras mícticas se desarrollan

en base a la doble división meiótica y por lo tanto son haploides.

En contraste con las hembras amícticas, las hembras míticas son capaces de ser fecundadas por los machos. Si se lleva a cabo la fecundación, el huevo es fertilizado y forma una pared gruesa y altamente resistente a las condiciones adversas por lo que tienden a llamarse "huevos de invierno" o "huevos de resistencia". Si alguna hembra mítica no es fecundada, deposita huevos que producen machos; mientras que de los huevos fecundados se producen hembras amícticas.

Bajo condiciones naturales normalmente solo se producen una o dos generaciones míticas y veinte o cuarenta generaciones amícticas por año.

Los machos son de vida corta, no presentan tracto digestivo, la lórica es desprovista de espinas; la corona se sitúa en la parte anterior y está bien provista de cilios. Son nadadores muy activos, especialmente en la presencia de las hembras, pues están listos para la cópula aproximadamente una hora después de haber eclosionado; la transferencia del esperma dura aproximadamente dos segundos y se lleva a cabo a través de la apertura cloacal de la hembra. El macho muere inmediatamente después; si no logra localizar alguna hembra, el macho logra sobrevivir sólo dos o tres días.

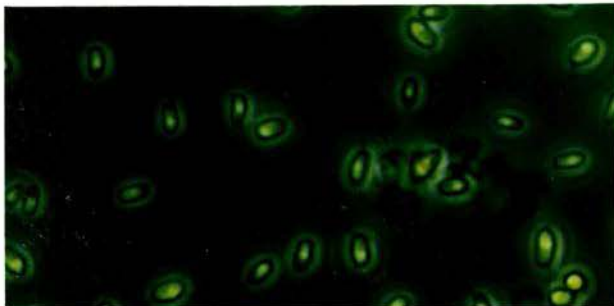
* (Ruttner-Kolisko, 1974; Pennak, 1953.)

APENDICE 2**

El alga *Scenedesmus spinosus* Chodat, es una especie cosmopolita. Se caracteriza por formar cenobios de dos a cuatro y, raras veces, de ocho células muy compactas en forma lineal o alternadas. Cada célula mide de 5.5 a 12 X 2 a 4.5 micras.

En ambos polos de las células exteriores de los cenobios se presenta una espina fuerte y ligeramente inclinada, de aproximadamente la mitad o hasta el total del largo de la célula, mientras que en los polos de las células interiores se presentan espinas pequeñas de una a dos micras.

En su medio natural presentan una gran variedad en el acomodo de las espinas laterales llegando a causar dudas taxonómicas; se ha encontrado que cuando se desarrollan cultivos de esta especie se pueden presentar también variaciones, teniendo que en cultivos con linajes puros de células con espinas, posteriormente pierden estas y por el contrario, de linajes donde las células no presentan espinas, posteriormente pueden presentarse éstas.



* (Uherkovich, 1966).

BIBLIOGRAFIA

Ahlstrom, E.H., 1940. A Revision of the Rotatorian Genera *Brachionus* and *Platyas* with Descriptions of the new Species and Two New Varieties. Bulletin American Musseum of Natural History. Vol. LXXVII pp. 143-184

American Public Healt Association (APHA), 1975. Standard Methods for Examination of Wastewater. 12a. Ed. N.Y. pp. 345-350.

Arora, H.C., 1966. Responses of Rotifera to Variations in Some Ecological Factors. Proc. Indian Acad. Soc. B. 63(2) pp. 57-61

Azcárate, J.C., 1981. Cultivo Masivo de Zooplancton en Torres. C.I.C.E.S.E. pp. 136-139

Barnabé, G., 1991. Acuicultura. Vol. I. Ediciones Omega, Barcelona. pp. 172-183

Benijts, F.; Voorden, E.V. y Sorgeloos, P., 1975. Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp *Artemia salina* L. 10th European symposium on marine biology, Ostend, Belgium, Sept. 17-23, Vol. I. pp.1-9

Bennett, W. N. y Boraas, M. E., 1988. Isolation of Fast-Growing Strain of the Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Using Turbidostat Culture. Aquaculture 73 pp. 27-36

Bogdan, K.G. y Gilbert, J.J., 1982. The effects of posterolateral spine length and body length on feeding rate in the rotifer, *Brachionus calyciflorus*. *Hydrobiologia* 89. pp. 263-268

Boletín de Acuacultura, 1987. No. 4, Sría de Pesca. pp.1-8

Castillo, J. y Berger, C., 1983. Las microalgas y sus principales aplicaciones. *Rev. Lat. Acui. Lima-Perú*. No. 16. pp. 12-26

Cházari, E., 1977. Esteban Cházari y la Piscicultura en México. *Sría. de Fomento. México*. pp. 57-65

Chino, S.; Delfín, I.; Muñoz, J.L. y Adan, Y., 1991. Manual de Prácticas de Química. E.N.E.P.I. pp. 30-32

Diario Oficial de la Federación. Ley de Pesca. Jueves 18 de octubre de 1990. pp. 64,67,68 y 78

Diario Oficial de la Federación. Ley de Pesca. Jueves 25 de junio de 1992. pp. 62-68

FONDEPESCA, 1985. La Tilapia y su Cultivo. pp. 29-30

García, M., 1988. Biología y Cultivo del Rotífero *Brachionus plicatilis*. *Acuavisión* # 15. pp 4-5

Geldenhuis, D.J., Walmsley, R.D. y Toerien, D.F., 1988. Quality of algal material produced on a fertilizer-tap water medium in outdoor plastic enclosed systems. *Aquaculture* 68. pp. 157-160

Gilbert, J.J., 1991. Further observations on developmental polymorphism and its evolution in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Freshwater Biology No. 10. pp. 156-294

González, S. y Peñaloza, I., 1984. Técnicas de Biomoléculas. E.N.E.P. Iztacala. pp. 219-221 y 248-250

Guisande, C. y Mazuelos, N., 1991. Reproductive pattern of *Brachionus calyciflorus* Pallas at different food concentrations. Journal of Plancton Research. Vol. 13 No. 2 pp. 279-286

Hirayama, K. y Ogawa, Sh., 1972. Fundamental Studies on Physiology of Rotifer for its Mass Culture-I. Filter Feeding of Rotifer. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 38(11). pp. 1207-1214

Hirayama, K. y Kusano, T., 1972. Fundamental Studies on Physiology of Rotifer for its Mass Culture-II. Influence of Water Temperature on Population Growth of Rotifer. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 38(2). pp. 1357-1363

Hirayama, K.; Watanabe, K. y Kusano, T., 1973. Fundamental Studies of Physiology of Rotifer for its Mass Culture-III. Influence of Phytoplankton Density on Population Growth. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 39(11). pp. 1129-1133

Hirayama, K.; Takagi, K. y Kimura, H., 1979. Nutritional Effects of Eight Species of Marine Phytoplankton on Population Growth of the Rotifer *B. plicatilis*. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 45(1). pp 11-16

Lubzens, E.; Fishler, R. y Berdugo-White, V., 1980. Induction of Sexual Reproduction and Resting Egg Production in *Brachionus plicatilis* Reared in Sea Water. *Hydrobiología* 73 pp. 55-58

Lubzens, E.; Marko, A. y Tietz, A., 1985. De Novo Synthesis of Fatty Acids in the Rotifer *B. plicatilis*. *Aquaculture* vol. 47 no. 27 pp. 27-37

Martínez, F.; Ramírez, R.; Villaseñor, R.; Ríos, G. y Espinoza, F., 1988. Cultivos de Apoyo para la Acuicultura; Producción de Alimento Vivo. *Acuavisión* No. 14 Año III pp. 18-24

Morales, J., 1990. Cultivo de Peces Marinos en Japón: el Pargo Rojo (*Pagrus major*). *Acuavisión* No. 20, Año IV. pp. 55-56

Neumann-Leitão, S. y Vitoriano, F.B., 1987. Rotíferos (rotatoria) Planctónicos do acude de Apipucos Recife-Pernambuco (Brazil). *Arq. Biol. Tecnol.* 30(3) pp. 393-418

Neumann-Leitão, S.; Carneiro, T.V. y do Amaral, L., 1989. Cultivo Experimental em Laboratorio do Rotífero *Brachionus plicatilis* O.F. Muller com *Tetraselmis tetrahele* (West). *Arq. Biol. Tecnol.* 32(4) pp. 709-718

Odum, 1983. *Ecología*. 3a. Ed. Interamericana. Mex. pp 139-142

Osorio, B.F., 1942. Rotíferos Planctónicos de México I, II y III. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. Vol. III No. 1-4 pp. 23-79 + 12 Figs.

- Pennak, R.W., 1953. Fresh-water invertebrates in the United States. The Ronald-Press Co., New York. pp. 168-187
- Pourriot, J., 1980. Workshop on culture techniques of rotifers. *Hydriobiología* No. 73. pp. 33-35
- Radwan, S., 1980. The Effect of Some Biotic and Abiotic Factors on the Fertility of Planktonic Rotifer Species. *Hydrobiología* 73 pp. 59-62
- Ramakrishna, T. y Sarma, S.S.S., 1985. Mictic and amictic modes of reproduction in the rotifer *Brachionus patulus* Mueller. *Curr. Sci.* 54 (11). pp. 499-501
- Rico, R. y Dodson, S.I., 1992. Culture of the Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture* 105. pp.191-199
- Ríos, J.G. y Ramírez, R., 1987. Aislamiento y Cultivo de Rotíferos de Agua Dulce *B. rubens*. *Memorias de Congreso Nacional de Zoología*. Tommo I. pp. 45-48
- Ruthhaupt, K.O., 1990. Changes of the functional responses of the rotifer *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particles sizes. *Limnol Oceanogr.* 35(1). pp.24-32
- Ruttner-Kolisko, A., 1974. Plankton Rotifers, Biology and Taxonomy pp. 30-45
- Sarma, S.S.S., 1988. World trends in rotifers research. *Biology Education* 5(4). pp. 240-243
- Sládeček, V., 1983. Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiología* 100. pp. 169-201

Schlüter, M., 1980. Mass Culture Experiments with *Brachionus rubens*. Hydrobiología 73 pp. 45-50

Seaman, M.T.; Gophen, M.; Cavari, V.Z. y Azoulay, B., 1986. *Brachionus calyciflorus* Pallas as agent for the removal of *E. coli* in sewage ponds. Hydrobiología 135. pp. 55-60

Stemberger, R.S. y Gilber, J.J., 1985. Body Size, Food Concentration and Population Growth in Planktonic-Rotifers. Ecology, 66(4) pp. 1151-1159

Stemberger, R.S., 1990. Food limitation, spination and reproduction in *Brachionus calyciflorus*. Limnol. Oceanography 85(1). pp.33-44

Teshina, S.; Kanazawa, A.; Kamezaki, N. y Hirata, H., 1981. Fatty Acids and Sterol Components of the Rotifers Cultured by a Feed Back System. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 47(4). pp. 515-521

Torrentera, L., 1983. Cultivo Semicontinuo de *Chlorella saccharophila*. Tesis pp. 4-6

Uherkovich, G., 1966. Die *Scenedesmus*- Arten Ungarns. Hungary. pp. 107-110

Umebayashi, O., 1973. Practical Culture of Microalgae. pp. 5-9

Vilaclara, G. y Sládecěk, V., 1989. Mexican Rotifers as Indicators of Water Quality with Description of *Collotheca rivierai*, n. sp. Arch. Hydrobiol. 115(2) pp.257-263

Wesche., P.R., 1988. Factores que afectan el valor nutritivo de las dietas para organismos acuáticos. Acuavisión No. 14 Año III pp. 6-7

Wetzel, R. G., 1981. Limnología. Ediciones Omega. pp. 382-396

Whyte, J. N. C. y Nagata, W. D., 1990. Carbohydrate and Fatty Acid Composition of the Rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed Monospecific Diets of Yeast or Phytoplankton. Aquaculture, 89 pp. 263-272

Yamasaki y Hirata, H., 1980. Phyto and Zooplankton Culture Methos. Kagoshima Suisan Gacobei. pp. 1-2

Zar, J.H., 1972. Bioestadistical analysis. Prentice-Hall, Inc. pp. 228-235