

71
2EJ

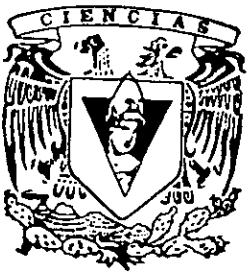


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LOS ROTIFEROS:
Brachionus calyciflorus PALLAS, *Brachionus patulus*
(O.F.Muller) Y *Asplanchna sieboldi* (Leydig) EN
RELACION A DIFERENTES ALIMENTOS BAJO
CONDICIONES DE LABORATORIO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
PAULA SUSANA LARIOS JURADO



DIRECTOR DE TESIS: DR. SINGARAJU SRI SUBRAHMANYA SARMA

1999

2-7-72

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Crecimiento poblacional de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* Pallas,
Brachionus patulus (O.F.Muller) y *Asplanchna sieboldi* (Leydig)
en relación a diferentes alimentos bajo condiciones de laboratorio**

Bióloga

Paula Susana Larios Jurado

Dr. Sarma Singaraju Sri Subramanya



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVANZADA DE
MEXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO

Jefa de la división de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
Crecimiento poblacional de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* Pallas, *Brachionus patulus* (O.F.Muller) y *Asplanchna sieboldi* Leydig en relación a diferentes alimentos bajo condiciones de laboratorio.

realizado por
Paula Susana Larios Jurado

con número de cuenta 8726653-7 ,pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Singaraju Sri Subrahmanya Sarma

S. S. S. Sarma

Propietario M. en C. Rosa Estela Toral Almazán

R. Toral

Propietario Dra. Nandini Sarma

Nandini Sarma

Suplente M. en C. Jorge Luis Hernández Aguilera

J. L. Hernández Aguilera

Suplente Dr. Héctor Guillermo Barrios López

H. Barrios López

Consejo Departamental de Biología

Edna M. Suárez Díaz

Dra. Edna María Suárez Díaz

Con cariño a:

A la memoria de mi querido abuelo *Simón Larios Rodríguez*, de mis abuelas *Virginia Sánchez* y *Paula Yañez* y de mi padre *Sergio Larios Yañez* por sus enseñanzas, amor, comprensión y consejos que a pesar de su partida me han motivado para alcanzar mis metas, con gratitud, admiración y amor.

A mi madre *Isabel Jurado Sánchez* por todo su cariño, comprensión, esfuerzo y apoyo que me enseñaron a ser libre, y a seguir enfrentando la historia que voy escribiendo día a día, este logro es también tuyo.

A mi tía *Virginia, Luis, Pavel y Luis Cervantes* por todo su amor, cuidados y apoyo en todo momento.

A mis hermanos: *César, Juan Carlos, Ana Gabriela y Martín Javier* por su compañía y cariño.

A mi tía *Teresa Sánchez* por su apoyo, comprensión y confianza.

A mis tíos: *Rosa, Flavio, Alfonso, Francisco, Gloria Zavala, Alicia Pineda y Gloria S. Alicia, Omar, Elba, Enrique, Saúl, Héctor.*

A *Félix Méndez* por su apoyo y consejos.

A *José Luis Monroy*: por todo su amor, consejos y apoyo incondicional en todo momento.

*Que sólo quede de mi aquel poquito con
que pueda llamarte mi todo.*

*Que sólo quede de mi voluntad aquel poquito
con que pueda sentirte en todas partes, volver a tí en cada cosa,
ofrecerte mi amor en cada instante.*

Que sólo quede de mi aquel poquito con que nunca pueda esconderte

*Que sólo quede de mis cadenas aquel poquito
con que llevo a cabo tu propósito en mi vida: la cadena de tu amor*

Agradecimientos:

Al Dr. Sarma S. por su confianza, dedicación, apoyo, amistad y bibliografía para la realización del presente trabajo.

A la Dra. Nandini por sus consejos académicos, comprensión, amistad y revisión del escrito.

Al Dr. Héctor G. Barrios López por sus acertadas aportaciones en la revisión del escrito y por brindarme su amistad y consejo durante mi formación académica.

A la M. en C. Rosa Estela Toral Almazán y Al M. en C. Jorge Luis Hernández Aguilera por su apoyo, comprensión, por su ayuda en la revisión del escrito de mi tesis, por todo el cariño y los consejos académicos que me han brindado durante la carrera y después de esta.

A mis amigos y compañeros que durante mi vida me han dado el espíritu para seguir forjando el mañana. Gracias por su amistad y por los agradables momentos que hemos compartido.

Especialmente A: Pavel, Jaina, Salvador B., Pilar, Raymundo Alfredo, Verónica, Tania, Oscar H., Teresa Ruiz, Ferestroiko, Daniel, Beatriz Palacios Silvia, Nora y Marco, Fernando Peña, Lilia, Angélica, Clara, Elia, Dolores, Marithza, Gabi Ayala, Irene, Claudina, Gerardo, Betsabe, Leoncio y los negros, Marina, Emiliana Cerezo, Jesús V., Francisco, Laura Estrada, Luis G. Medina, Edgar, César, Benjamín, David G., Christian y Julia, Sara T., Roberto, Luz Ma. Landa, Norma Zamorano, Teresa López., Cesiah, Luis Felipe, Arcelia, Mónica, Liliana, Omar, Elsa, Rafael, Charlotte, Ernesto Bravo, Fabian, Gabriela Alfaro, Bruno, Abril, Luz, T. Zariñán.

A: Sandra, Erika, Marisol., Paola, Alberto, Héctor, Arturo, Jesús, Rocio, Evelyn, Lupita, Luis M., Paty, Daniel, Miroslava, Lidia, Felipe, Dulce, Irma, Fabiola, Gustavo, Julio, J. Luis López, Carmen, Jorge, Ricardo Paz, Miguel. Por ser mis amigos y por los agradables momentos que compartimos en el museo.

A los Drs. Marco Velasco, Flora, Gina, Rocio y Guillermo Alvarez Liera, por su apoyo académico, sus consejos y su gran entusiasmo y amistad que siempre me brindaron durante mi estancia en la facultad de Medicina.

A mis amigas del Barco/Oceanográfico "El Puma": especialmente al C. Pascual Barajas y a su gran tripulación con quienes disfrute los mejores momentos, los recuerdo con mucho cariño.

A mi Profr. Mignel A. Palomino por sus consejos, regaños, apoyo académico y especialmente por su gran amistad.

A Humberto y Abel agradezco su apoyo académico y amistad que han tenido conmigo en todo momento.

Al Biol. Alberto Luna por tu gran amistad y consejos que fueron determinantes para la elaboración del escrito sobre las técnicas de cultivo de células algales.

Al Dr Carlos Robinson por gran su amistad y consejo académico.

A mis amigos del CICIMAR de la Paz especialmente a Roxana. A mi amigo de la UAP Ernesto por todo su apoyo y amistad.

Especialmente al Sr. Francisco González y a Rosita, Hernández por todo su apoyo y cariño incondicional en todo momento. Gracias a ustedes es posible este sueño.

A mis amigos de la E. N. E. P Izacala especialmente a Jessica y Benigno por esos sustos y por su inigualable apoyo y compañía.

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por el apoyo para la corrección del escrito de mi tesis y a mis amigos: Paty, Javier y Gabriel.

Al Instituto de Investigaciones Biomédicas por el apoyo recibido durante la huelga para la realización de mi examen profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por todo lo que me ha brindado.

A todas las personas que me dieron su amistad, apoyo, entusiasmo y consejos para mi superación profesional y personal.

A mis profesores de la Facultad de Ciencias por participar en mi formación académica, por su amistad y por sus palabras de aliento; los recuerdo con mucho cariño.

A todos ustedes mil gracias.

CONTENIDO

Resumen.....	1
Antecedentes.....	3
Capítulo 1	
Introducción.....	6
Objetivo general.....	7
Objetivos particulares.....	7
Material y Métodos.....	7
Resultados.....	8
Discusión.....	17
Conclusiones.....	17
Referencias.....	26
Capítulo 2	
Introducción.....	28
Objetivo general.....	29
Material y Métodos.....	29
Resultados.....	30
Discusión.....	31
Conclusiones.....	32
Recomendaciones.....	32
Referencias.....	46
Capítulo 3	
Introducción.....	47
Objetivos.....	48
Material y Métodos.....	48
Resultados.....	48
Discusión.....	48
Conclusiones.....	50
Recomendaciones.....	50
Referencias.....	51
Apéndice 1	
Introducción.....	52
Objetivo general.....	53
Material y Métodos.....	53
Resultados.....	54
Discusión.....	54
Conclusiones.....	55
Referencias.....	55
Apéndice 2	58
Apéndice 3	59
Apéndice 4	59
Apéndice 5	60
Apéndice 6	60

RESUMEN

Actualmente se ha utilizado el agua de desecho de diversas industrias de la alimentación, debido a que estas contienen un alto aporte de nutrientes disueltos que tienen un importante interés ambiental. Esto ha desencadenado el aprovechamiento de sustancias orgánicas a costos más bajos con el fin de enriquecer los medios de cultivo, obteniendo mejores tamaños y rendimientos poblacionales de rotíferos, sustituyendo incluso las dietas tradicionales de algas. Sin embargo, en la práctica acuícola, se ha demostrado que no sólo el tamaño y la densidad poblacional de los rotíferos garantizan un aporte nutritivo para la alimentación inicial de los peces, crustáceos y moluscos, entre otros consumidores terciarios. Por lo que las densidades y el tipo de alimento empleados durante los cultivos (Yúfera, 1980; Sarma 1998) y las condiciones experimentales, tienen un significativo impacto en el crecimiento poblacional diario.

Se comparó el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* en relación a la concentración y tipo de alimento empleado (alga verde *Chlorella vulgaris*, y levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae* y una mezcla de ambas en igual proporción como alimento). Las dietas se proporcionaron una vez cada 24 horas en 2 concentraciones (Baja= 1×10^6 y Alta= 3×10^6 células ml^{-1}) independientemente para cada especie. El experimento se realizó durante 15 días consecutivos de cultivo, cuando la población completo un ciclo poblacional. En general, en un solo tipo o concentración de alimento *Brachionus patulus* alcanzó una mayor densidad poblacional estadísticamente significativa cuando se compara con *Brachionus calyciflorus*. En la densidad de alimento de 1×10^6 células/ml *B. calyciflorus* registró un crecimiento poblacional de 77 ± 12 individuos/ml en la misma densidad *B. patulus* tuvo una densidad de 109 ± 26 ind/ml. El cultivo en levadura sola en una densidad de 3×10^6 células/ml *Brachionus calyciflorus* tuvo un crecimiento poblacional de 103 ± 8 ind/ml bajo condiciones similares *B. patulus* obtuvo una abundancia de 296 ± 20 ind/ml en la dieta con *C. vulgaris* en alta concentración.

Cuando se cultivo usando la mezcla de *Chlorella* y levadura como alimento, la máxima densidad poblacional de *B. calyciflorus* fue estadísticamente inferior a la de los adultos en *Chlorella*. Bajo condiciones similares el máximo valor de abundancia de *B. patulus* fue comparable en ambos tipos de alimento. La tasa de crecimiento por día (r) va de 0.633 ± 0.045 a 0.130 ± 0.026 ind/ml para *B. calyciflorus* y de 0.372 ± 0.11 a 1.86 ± 0.010 ind/ml para *B. patulus*. Los resultados indican que el alga *Chlorella* es una dieta significativamente superior a la levadura sola, que no deja de ser una importante fuente de alimento.

Se evaluó la calidad nutritiva relativa de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* alimentados con alga y levadura en tres combinaciones y en cuatro densidades de presa en un medio particular, se observó que el crecimiento poblacional del rotífero depredador *Asplanchna sieboldi* mostró diferencias relacionadas con la densidad y calidad nutricional de los braquióidos en tres diferentes alimentos en una alta y baja concentración. Los *Asplanchna* alcanzaron un pico de abundancia máxima que varía del día 6 al 9 cuando se alimentaron con *Brachionus patulus* y para *B. calyciflorus* variaron del día 9 al 11. El día en que el cultivo alcanzó la máxima abundancia poblacional no fue significativa ($P > 0.05$) excepto para *B. patulus* criado en varios tipos de alimento, el valor de (r) para *Asplanchna sieboldi* fue significativamente influenciado por la calidad

nutricional de los rotíferos-dieta, pero su interacción no fue significativa estadísticamente. La tasa de crecimiento poblacional de *A. sieboldi* incrementó con el aumento de la densidad de la presa, a pesar de su calidad nutricional. El valor para *Asplanchna* varía desde 0.14 ± 0.02 a 0.37 ± 0.02 .

En este estudio se indican los parámetros para optimizar la producción del cultivo cerrado de alga verde *Chlorella vulgaris*. Se registró el crecimiento poblacional por día. Los resultados muestran que el cultivo incrementó 7 veces la concentración inicial al 8° día. La densidad encontrada fue de $8.4 \pm 1.8 \times 10^6$ células/ml. La tasa de crecimiento poblacional por día (r) de *C. vulgaris* es 0.27 ± 0.03 (promedio y \pm error estándar).

Las cantidades totales de proteínas y carbohidratos que presentan los rotíferos que se cosecharon al 8° día y fueron sometidos únicamente a la dieta de microalga *C. vulgaris*. La cantidad de proteína total encontrada para *B. calyciflorus* es de $6.55 \mu\text{g}$ y $6.05 \mu\text{g}$ para *B. patulus* así como $3.9 \mu\text{g}$ y $4.4 \mu\text{g}$ de carbohidratos totales para *B. calyciflorus* y *B. patulus* respectivamente. Sin embargo en el presente estudio no se determinó la relación que existe entre las cantidades de proteínas y carbohidratos con respecto a los diferentes alimentos y la concentración proporcionada.

SUMMARY

The rotifers are highly nutritious and their biochemical composition can be further improved by specialized diet. (Watanabe, 1983). They are also used as indicators of the state of aquatic environmental. Rotifers are widely used as ideal first food rearing larval fish, crustaceans, and mollusks in aquaculture (Torrans, 1986).

In the chapter 1 of the present study is compared the growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* in relation to the concentration and food type using green algae *Chlorella vulgaris*, the baker's yeast or their mixture in equal proportion as food. Food offered once every 24 hrs in two concentrations (low 1×10^6 and high 3×10^6 cells/ml) separately for each species. The experiments were terminated after 15 days when most population completed one population cycle. In general at any food type or concentration *B. patulus* reached higher population density when compared to *B. calyciflorus*. In 1×10^6 cells/ml⁻¹, *B. calyciflorus* reached 77 ± 12 ind/ml at the same density *B. patulus* attained 109 ± 26 ind/ml. At 3×10^6 cells/ml density *Brachionus calyciflorus* reached a peak density of 103 ± 8 ind/ml. Under comparable conditions *B. patulus* reached much higher peak abundance 296 ± 20 ind/ml. Regardless of food type and density the rate of population increase per day (r) for *Brachionus calyciflorus* varied from 0.633 ± 0.045 to 0.130 ± 0.026 . These values for *Brachionus patulus* ranged from 0.372 ± 0.011 to 0.186 ± 0.010 . The results indicate that thought algae *Chlorella* is a superior diet for the tested rotifers than yeast as food source in species specific.

The chapter 2 is showed the nutritional quality of prey rotifer *Brachionus calyciflorus* and *B. patulus* grown on 2 types food (algae, yeast and mixture), and two density was tested compared the growth of predatory rotifer *Asplanchna sieboldi*. The population growth of *A. sieboldi*, showed food density and the nutritional quality related

ANTECEDENTES

Los rotíferos representan un eslabón en la cadena alimenticia acuática, particularmente en la transferencia de energía de un nivel trófico inferior a otro superior. Su alimento consiste de materia orgánica, bacterias y protozoarios disponibles en el medio (Pourriot, 1965; Ruttner-Kolisko, 1974; Arndt, 1993). Los rotíferos son uno de los metazoarios con más rápido crecimiento, algunas especies como *Brachionus calyciflorus* Pallas tienen la capacidad de duplicar su población en 24 horas (Bennet y Boraas, 1989).

Utilizando restos de porquerizas y otros residuos de sustancias orgánicas para alimentar a los rotíferos, se ha obtenido una alta producción de estos organismos en más de 500 individuos ml⁻¹ (Jhingran, 1991).

Cuando los rotíferos se utilizan en la acuicultura, es importante conocer el tamaño, la densidad poblacional y su calidad nutritiva. Los rotíferos del género *Brachionus* han sido utilizados como alimento inicial para cultivar larvas de peces, crustáceos y moluscos (Lubzens, 1989).

El rotífero *Brachionus calyciflorus* habita en aguas alcalinas y se localiza en varios países (Ahlostrom, 1940; Koste, 1978), incluido México en donde se caracteriza como un organismo habitante del lago de Chapultepec (Osorio, 1942; Vilaclara y Sladeczek, 1989). El rotífero *B. patulus* Muller 1añ es un rotífero cosmopolita habitante de los cuerpos de agua de la India. Tanto *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* son especies dulceacuicolas las cuales se han aislado y mantenido con fines de cultivo.

Se considera que el uso de los rotíferos del género *Brachionus* como dieta es un factor alimenticio favorable para el cultivo de especies en la acuicultura, que presentan un alto valor comercial como: la perca *Anabas testudineus*, el pez gato africano *Clarias gariepinus*, el ciprinido *Hemibarbus barbatus* y que requieren de alimento vivo adecuado para su desarrollo durante sus diferentes etapas larvianas, por lo que se han perfeccionado técnicas de cultivo masivo de rotíferos que tienen un óptimo tamaño y alto valor nutritivo (Neumann-Leitao y Vitoriano, 1987; Lubzens, Tandler & Minkoff, 1980, Kitajima y Romanenco, 1994; Kohinoor, 1994; Takeshita y Kimura, 1995).

El tamaño de los individuos y su tasa de crecimiento poblacional esta regulada por las condiciones del ambiente trófico acuático como: *Asplanchna* (Halbach, 1970; Sarma, 1983; Bennet y Boraas, 1989). El crecimiento poblacional depende de numerosos parámetros fisico-químicos como: el pH, la temperatura y el nivel de nutrientes. Los factores biológicos que afectan la tasa de crecimiento son: el tamaño del cuerpo, la densidad y diversidad del alimento (algas), competencia inter e intraespecífica, depredación, parasitismo y conducta epizoica.

Los datos obtenidos sobre la tasa de crecimiento de una misma especie son variables de acuerdo con las localidades y los experimentos (Bennet y Rothaupt, 1993). Amplias investigaciones indican que la riqueza nutritiva del género *Brachionus* depende de la naturaleza de la dieta proporcionada y de su estado fisiológico (Scott y Baynes, 1978; Hamza y Robin, 1992).

Cada cultivo de *B. calyciflorus* muestra respuestas diferentes al tipo de alimento, concentración y temperatura como: el tamaño del individuo, calidad nutritiva y crecimiento poblacional (Gilbert, 1970; Starkweather y Keller, 1993; Weithoff y Waalz, 1995; Sarma *et al.*, 1997).

Whyte y Nagata (1990) han encontrado que en las larvas de peces alimentadas con rotíferos producidos a partir de levadura y algas presentan una alta mortalidad, debido al desbalance nutricional (entre las concentraciones de cada una de las dietas y el número apropiado de los rotíferos para su óptimo crecimiento poblacional). Los rotíferos cultivados solo en levadura son deficientes en ácidos grasos esenciales, no así los braquiúridos alimentados con alga verde *Chlorella vulgaris* que constituye por sí misma una dieta completa (Rodríguez, 1996).

Las carencias de ácidos grasos de las dietas empíricas (Kokova, 1976; Yúfera, 1980; Lubzens, 1987; Guisande, 1989) han desencadenado una serie de estudios con el fin de determinar de qué factores depende la calidad y cantidad de los nutrientes que los rotíferos pueden aportar como alimento vivo.

Yúfera, 1980; Sarma, 1997 y Arévalo, 1998 muestran la importancia de suministrar una apropiada combinación entre la densidad de inoculación inicial de rotíferos y la cantidad de alimento proporcionada, lo cual puede ser una expectativa de resultados efectivos para la óptima producción de rotíferos. La alta inoculación de rotíferos en bajas concentraciones de alimento puede provocar un colapso alimenticio en la población en pocos días, y una baja inoculación de rotíferos con una alta densidad alimenticia puede ocasionar la declinación e intoxicación del cultivo.

Hasta el momento no existe manera de precisar como una especie de rotífero cultivado incrementa su densidad poblacional con el aumento del contenido nutricional del alimento y bajo variaciones ambientales de temperatura, por lo que se debería determinar de qué manera es posible mantener la producción masiva de rotíferos como un alimento vivo, más efectivo para la cría de peces, moluscos, crustáceos entre otros consumidores de importancia económica.

En México el cultivo en masa de braquiúridos es reciente y las técnicas de producción son mejoradas (Ramírez-Sevilla *et al.*, 1991; Castellanos-Paez *et al.*, 1994).

Los rotíferos cultivados en alga tienen un balance de aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas y minerales, en cambio los cultivos desarrollados en levadura de panificación presentan una deficiencia en Ácidos Grasos Altamente Insaturados (HUFA), estudios como este se han realizado por Tandler, 1995 en el pez *Sparus aurata*. Se ha demostrado que enriqueciendo los rotíferos cultivados en levadura con aceite de hígado de calamar (Fukusho, Lubzens; 1989) se aporta el aminoácido w3 HUFA, aminorando así la deficiencia nutritiva. En estudios posteriores se encontró que utilizando alga verde *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 (Torrentera, 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 de nutrientes que estos

aportan al utilizarse como alimento de larvas de peces (Teshima, 1981; Lubzens, 1985, 1987; Yoshimatsu, 1995; Zheng, 1995).

Estudios nutricionales sobre el crecimiento de las larvas de peces han aportado datos sobre la composición bioquímica de los rotíferos. Whyte y Nagata (1990); Yoshimatsu & Zheng (1995) han realizado estudios donde las larvas de peces alimentadas con rotíferos conteniendo un bajo porcentaje de ácidos grasos altamente insaturados (n-3 HUFA) mostraron poco crecimiento y alta mortalidad pero mejoraron al elevar el nivel de ácidos grasos (n-3 HUFA) en los rotíferos a 5.53%. Si las concentraciones de ácidos grasos son mayores a ésta se presenta un efecto negativo en el crecimiento y sobrevivencia de las larvas de peces.

Referencias

- Arndt, H. 1993. Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic, flagellates, ciliates): A review. Hydrobiology 255-256: 231-246.
- Barnabé, G., 1991. Acuicultura. Vol. 1. Ediciones Omega. Barcelona. pp 172-183
- Diario Oficial de la federación. Ley de pesca. Jueves 25 de Junio de 1992. pp 62-68.
- Gilbert, J. J., 1991. Further observations on developmental polymorphism and its evolution in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Freshwater Biology N.10. pp 156-294.
- Odum, 1983. Ecología. 3a. Ed. Interamericana. México. pp 139-142.
- Pourriot, R. 1977. Food and feeding habits of rotifera. Archiv. für Hydrobiologie Beift 8:243-260.
- Pourriot, J., 1980. Workshop on culture techniques of rotifers. Hydrobiology. No 73. pp 33-35.
- Rao, T. R., and S. S. S. Sarma. 1986. Demography parameters of *Brachionus patulus* Müller (Rotifera exposed to sublethal DDT concentrations at low and high food levels. Hydrobiology 139:193-200
- Rico, R. y Dodson, S. I. 1992. Culture of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Aquaculture N. 105. pp 191-199.
- Ruttner-Kolisko, A., 1974. Plankton Rotifers. Biology and Taxonomy. pp 30-45.
- Sládeček, V., 1983. Rotifers as indicators of quality water. Hydrobiology 100. pp 169-201.
- Sarma, S. S. S., 1988. World trends in rotifers research. Biology education 5 (4). pp 240-243.

Capítulo 1

Efecto de la alimentación con el alga *Chlorella vulgaris* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* sobre el crecimiento poblacional de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* Pallas y *Brachionus patulus* (O.F. Muller) (Rotifera: Monogononta: Brachionidae)

1.1 Introducción

Los rotíferos que presentan una alta conversión alimenticia pueden ser un canal de transferencia efectiva de energía en la producción de organismos secundarios. El crecimiento de muchos rotíferos esta en función de los niveles de suministro de alimento (Edmondson, 1946; King, 1967). El tamaño del cuerpo esta en función de la eficiencia alimenticia (Bogdan and Gilbert, 1982).

Se ha observado en *Euchlanis dilatata* que el nivel de la densidad de alimento tiene un profundo efecto sobre su crecimiento poblacional en un tiempo de 12 horas (King, 1967).

Los costos para la producción de microalgas generalmente son altos, por esta razón se han considerado otras sustancias orgánicas para sustituir las dietas de microalgas como alimento tradicional de los rotíferos. Los gastos son más bajos si se alimenta a los braquiiónidos con levadura, esto debido a que al reducir el volumen de cultivo de las algas se obtiene un ahorro considerable en el gasto de iluminación artificial y en la utilización de los nutrientes donde las algas crecen y representan un alimento óptimo para los rotíferos, sin embargo los rendimientos de producción de rotíferos tardan mucho más tiempo y estos presentan una deficiente calidad nutricional, que los que se obtienen si se les alimenta con alga (Yúfera, 1980), en este trabajo se decidió evaluar a la levadura como alimento alternativo para comparar la producción de rotíferos alimentados con alga como alimento tradicional.

Hirata (1979), menciona que los cultivos de rotíferos originalmente alimentados con microalgas producen menos individuos (50 ind/ml) que los alimentados con levadura; sin embargo, cuando los braquiiónidos se usan como alimento de larvas de peces, sobrevive un mayor número de larvas alimentadas con rotíferos nutridos con microalgas que con levadura.

El cultivar rotíferos utilizando levadura de pan *Saccharomyces cerevisiae* como alimento, nos acarrea problemas que consisten en el rápido deterioro del medio como consecuencia de la descomposición de las células de la levadura. Este efecto determina por que no aumentan los rendimientos poblacionales de braquiiónidos, al aumentar los suministros diarios de levadura sola. La adición de algas ayuda a retrasar el proceso de descomposición, permitiendo mantener los cultivos durante un mayor lapso de tiempo que con levadura sola (Yúfera, 1980). Un requisito para el cultivo de rotíferos en levadura es que los inóculos iniciales de rotíferos sean altos, del orden de 100 individuos por ml, debido, a que la levadura no consumida aumenta el deterioro del medio en poco tiempo. Este tipo de alimentación exige un constante control. Las densidades poblacionales altas inducen cambios en las condiciones del medio. Cuando se compara el efecto de las dos

dietas se tiene que para cultivar rotíferos con algas se requieren instalaciones costosas para el crecimiento del inóculo microalgal, mientras que para los cultivos en levadura todo el espacio se puede dedicar a la producción, salvo una pequeña estancia para los necesarios inóculos de alga.

1.2 Objetivos:

1.21 Valorar el alga *Chlorella vulgaris* y la levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae* y una mezcla de ambas en alta y baja densidad como alimentos para el cultivo de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus*.

1.22 Evaluar como se ve afectado el crecimiento poblacional de los rotíferos por la dieta proporcionada

1.3 Material y Método

Para este trabajo se usaron poblaciones clonales de los rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* mantenidos por separado en 2 peceras de 20 lts de capacidad. Los cultivos masivos de rotíferos fueron mantenidos en peceras de vidrio de 10 lts de capacidad, a temperatura ambiente, luz y aireación constante durante las 24 hrs, la densidad de braquiónidios mantenidos normalmente en los acuarios fue de 100 individuos/ml y se alimentaron diariamente con 3 dietas consistentes en: 100% alga, 100% levadura y 50% alga + 50% levadura (mezcla) en dos densidades (Baja= 1×10^6 (Tabla 4 y 5 *B. calyciflorus*) y Alta= 3×10^6 células/ml (Tabla 6 y 7 *B. patulus*)). Cada día se colocaron los braquiónidios en medio fisiológico EPA (Anónimo, 1985), usado para el cultivo de rotíferos y otras especies, ver apéndice 5. Se midió la densidad poblacional inicial, obteniéndose una cantidad aproximada de 5 rotíferos ml^{-1} , dicha cantidad se inoculó en recipientes transparentes de 200 ml con 20 ml de EPA + una de las tres dietas consideradas. Se utilizaron dos tratamientos experimentales por cada combinación (3 concentraciones) de alimento, se utilizaron cuatro réplicas con un total de 24 recipientes.

Se cultivo alga *C. vulgaris* (Apéndice 1) para la alimentación de los braquiónidios, la levadura no recibió ningún tratamiento previo a su uso como alimento, sólo se mantuvo en refrigeración por espacio de 15 días consecutivos de cultivo experimental. Se realizó un conteo diario con tres réplicas de la cantidad de células de cada una de las dietas, (alga, levadura y la mezcla) mediante una cámara de Neubauer para determinar la densidad del alimento. El conteo de rotíferos y la estimación de la densidad poblacional se efectuó diariamente de la siguiente manera:

- 1) Conteo individual cuando eran menos de 50 individuos ml^{-1}
- 2) Conteo por alicuotas de 0.2 a 0.5 ml^{-1} cuando las densidades eran mayores a 50 individuos por ml^{-1}

El conteo se realizó para cada una de las réplicas, tomando al menos 2 alicuotas con una pipeta graduada, hasta completar 1 ml, por cada muestra, mediante una cajita de acrílico, 1 microscopio estereoscopio Nikon, 1 pipeta Pasteur y durante un lapso de 15 días consecutivos. La población era transferida diariamente a otro recipiente con medio fresco (EPA) y con la dieta asignada desde el inicio del cultivo. Para estimar la densidad

poblacional de los rotíferos se calculó la tasa de crecimiento poblacional por día (r), la cual es importante porque es sensible a cambios en el medio y se determinó con la siguiente fórmula:

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

donde:

N_0 = densidad poblacional inicial.

N_t = densidad poblacional después del tiempo t .

t = tiempo en días

Los resultados gráficos para ambas especies de rotíferos tienen un comportamiento normal y fueron comparadas mediante un análisis de varianza (ANOVA, Tabla 1). Si una población de rotíferos crece de una manera exponencial la derivación del valor de (r) a alguno de los puntos sobre la curva de crecimiento será suficiente, pero más poblaciones de rotíferos desvían su curva de crecimiento ideal, especialmente bajo diferentes alimentos y temperatura. Bajo condiciones naturales la tasa de crecimiento de los rotíferos va en un intervalo de 0.2 a 2 por día, no obstante la mayoría presenta valores menores a 1. Normalmente los rotíferos presentan características regulares y predecibles en ausencia de depredadores.

1.4 Resultados

La densidad poblacional máxima de *Brachionus patulus* se incrementó significativamente ($p < 0.01$) con el tipo (alga, levadura y una mezcla de ambas) y concentración (alta o baja) de alimento, pero no fue así para *Brachionus calyciflorus* ($p > 0.05$, Tabla 1). En general para cualquier tipo o concentración de alimento *Brachionus patulus* alcanzó la más alta densidad poblacional comparado con *Brachionus calyciflorus* (Tabla 9). En 1×10^6 células/ml *B. calyciflorus* alcanzó 77 ± 12 individuos/ml (Tabla 1) en la misma densidad *B. patulus* alcanzó 109 ± 26 individuos/ml (Tabla 4), en 3×10^6 células/ml, la gráfica de densidad para *B. calyciflorus* alcanzó un máximo de 103 ± 8 individuos/ml. Bajo condiciones comparables *B. patulus* alcanzó el pico más alto de abundancia 296 ± 20 ind/ml.

Cuando fue usada levadura como alimento exclusivo la abundancia máxima alcanzada por *B. calyciflorus* fue de 62 ± 19 y 57 ± 25 individuos/ml (Tabla 1), en la densidad baja (1×10^6 células/ml) y en la alta (3×10^6 células/ml) respectivamente. Sobre el otro cultivo de *B. patulus* mostró un pico de abundancia poblacional de 97 ± 17 y 50 ± 6 individuos/ml (Tabla 4) en alta y baja concentración de levadura, respectivamente. Cuando se usaron ambos tipos de alimentos en iguales concentraciones *B. calyciflorus* alcanzó un pico de abundancia de 54 ± 9 y 86 ± 3 ind/ml. Para baja y alta densidad de alimento comparable a los valores de *B. patulus* que fueron 251 ± 12 y 259 ± 32 individuos/ml.

El día de máxima densidad poblacional fue diferente significativamente para la concentración (alta = 1×10^6 o baja = 3×10^6 células/ml) de alimento usado para ambas especies de rotíferos ($p > 0.05$) No obstante el tipo de alimento (alga, levadura, mezcla) tiene un efecto significativo sobre la concentración del tipo de alimento como variable ($p < 0.01$, Tabla 9).

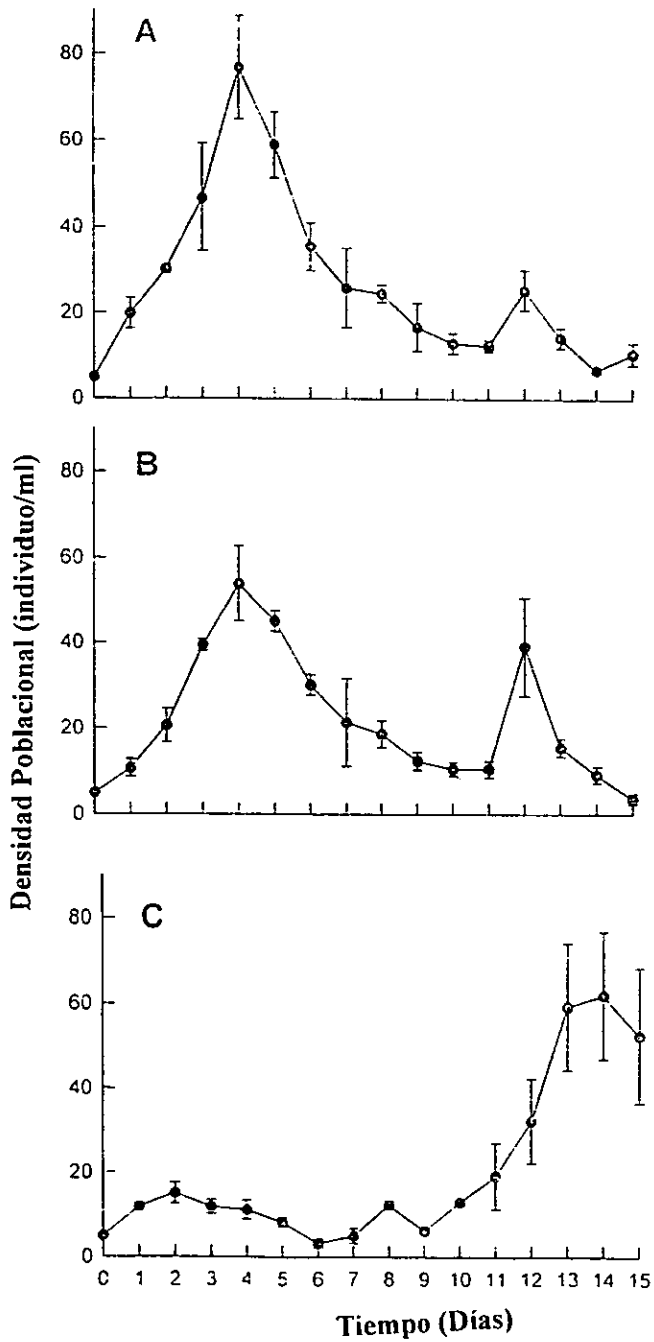


Fig. 1. Crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus calyciflorus* en relación a un tipo y densidad de alimento (1×10^6 células ml.)

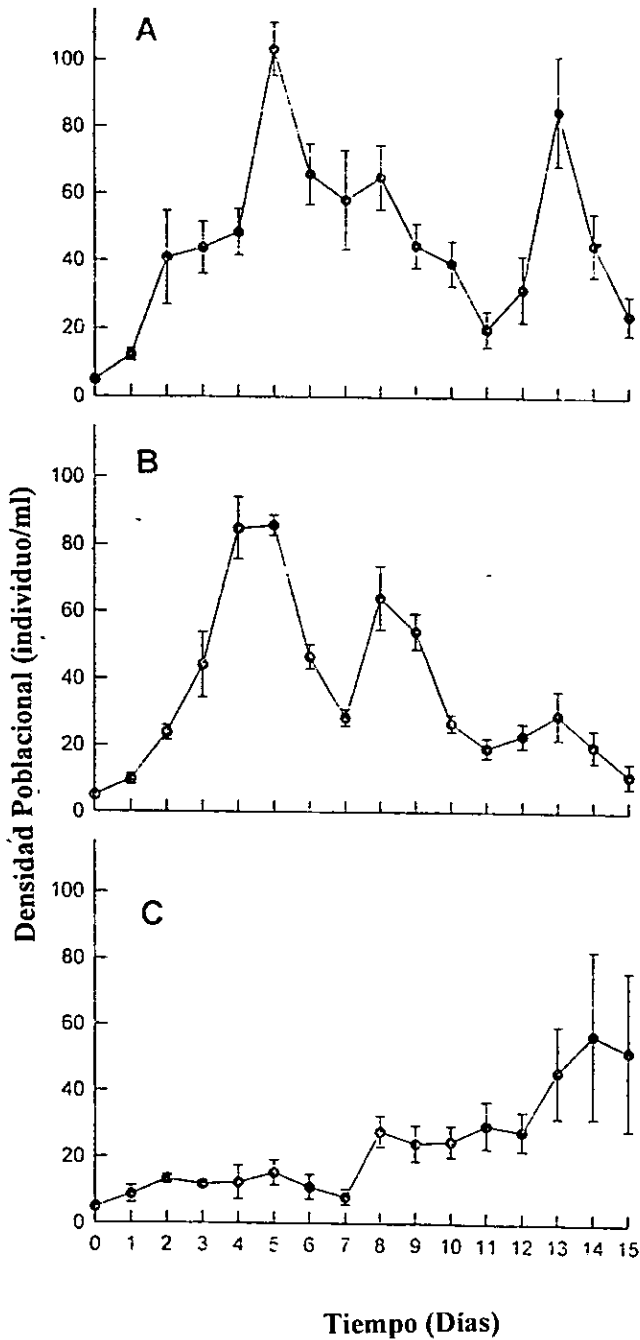


Fig. 1 a. Crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus calyciflorus* en relación a un tipo y densidad de alimento (3×10^6 células ml.)

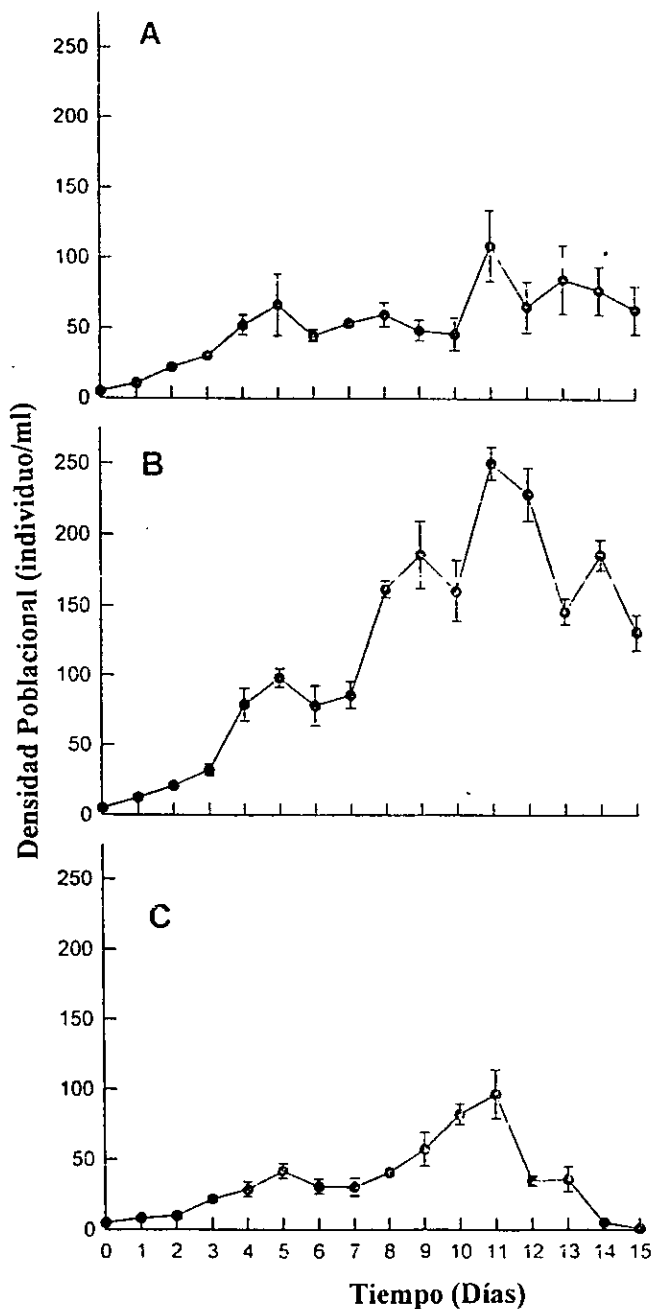


Fig. 2. Crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus patulus* en relación a un tipo y densidad de alimento (1×10^6 células/ml)

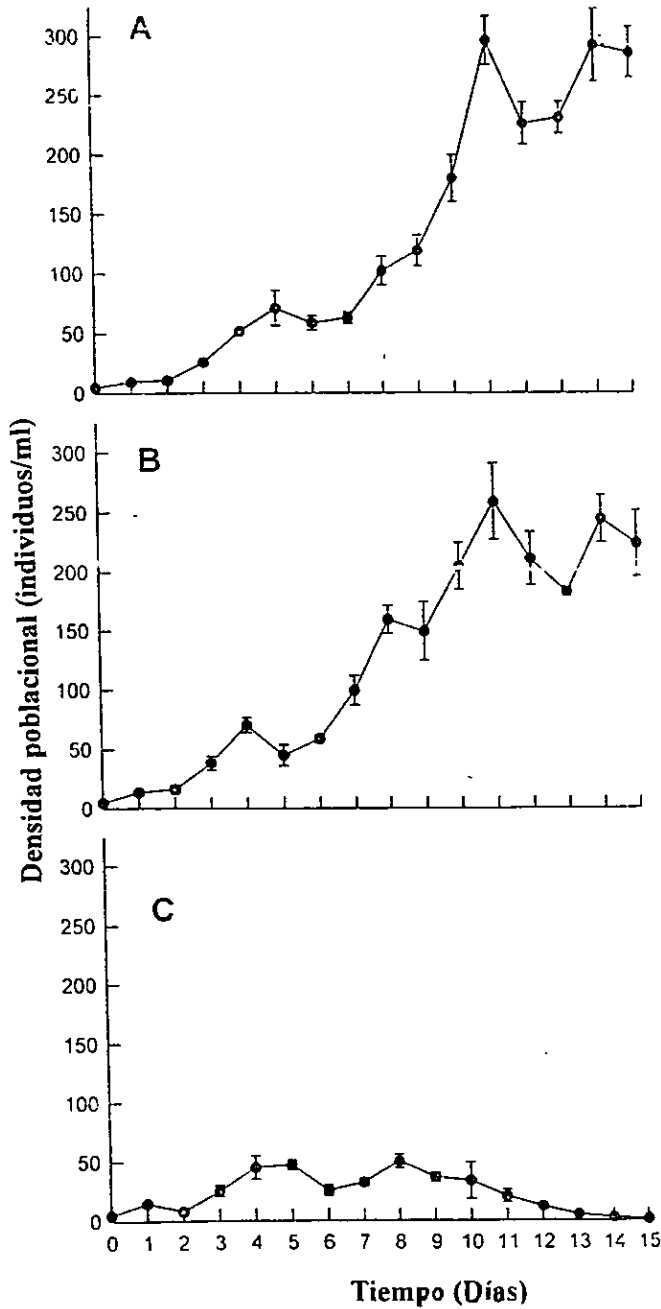


Fig. 2a. Crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus patulus* en relación a un tipo y densidad de alimento (3×10^6 células/ml)

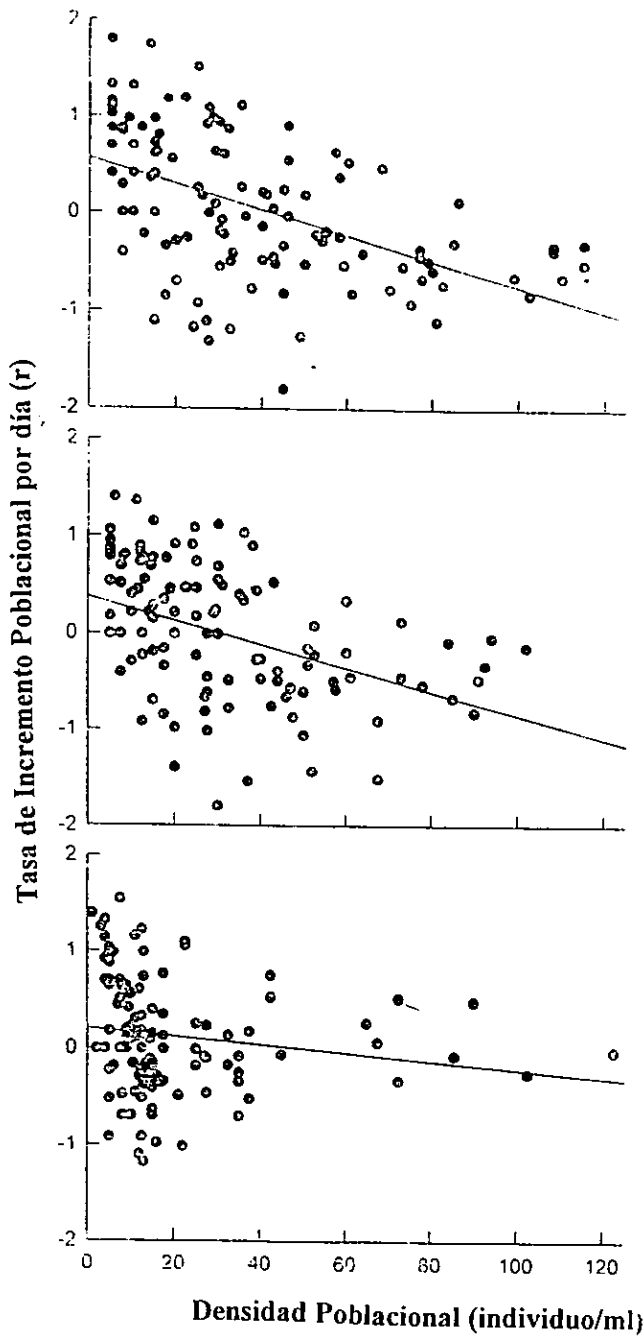


Fig. 5. Tasa e incremento poblacional diario en *Brachionus calyciflorus* en relación a dos densidades y tres tipos de alimento.

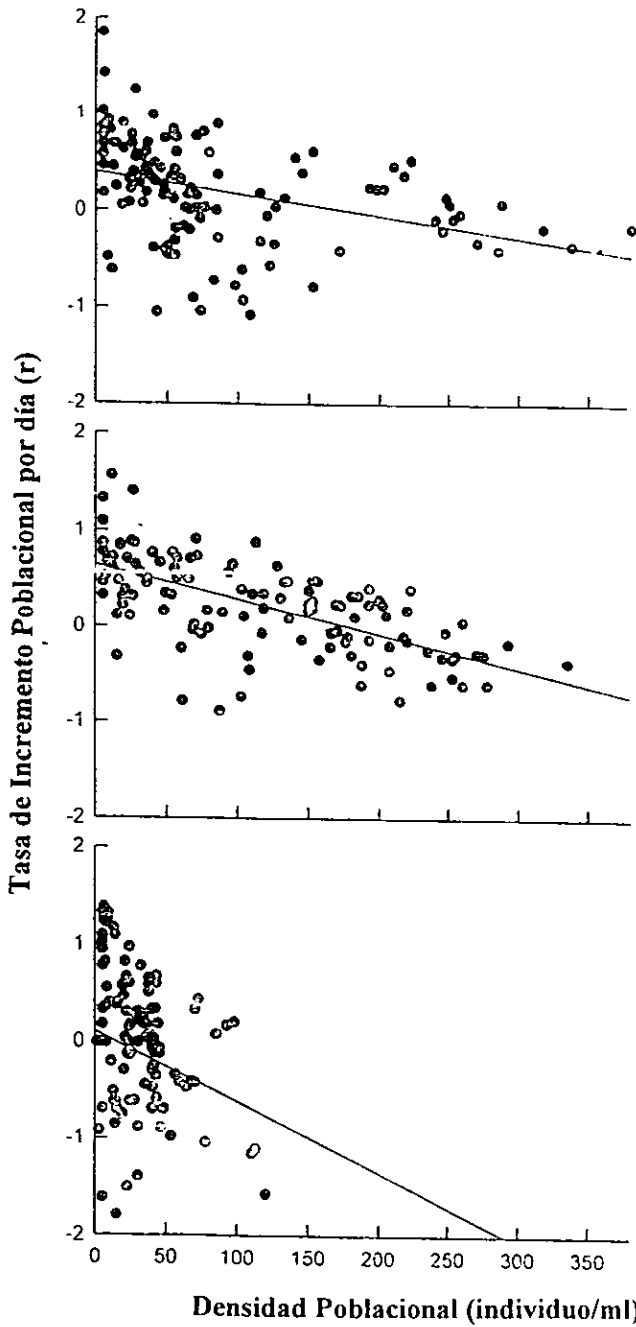


Fig. 6. Tasa e incremento poblacional diario en *Brachionus patulus* en relación a 2 densidades y tres tipos de alimento.

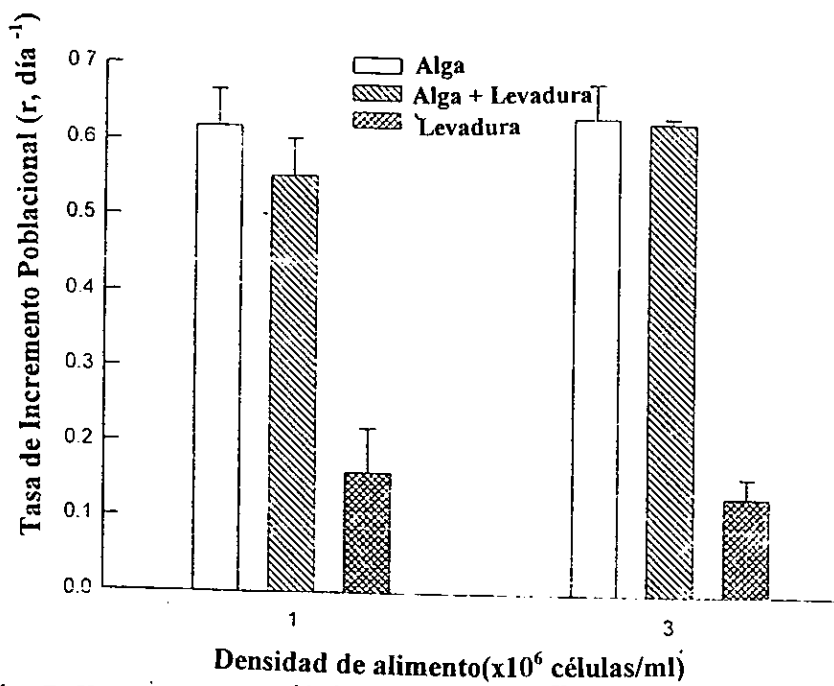


Fig. 7. Tasa e incremento poblacional (r) en *Brachionus calyciflorus* en relación a dos densidades y tres tipos de alimento.

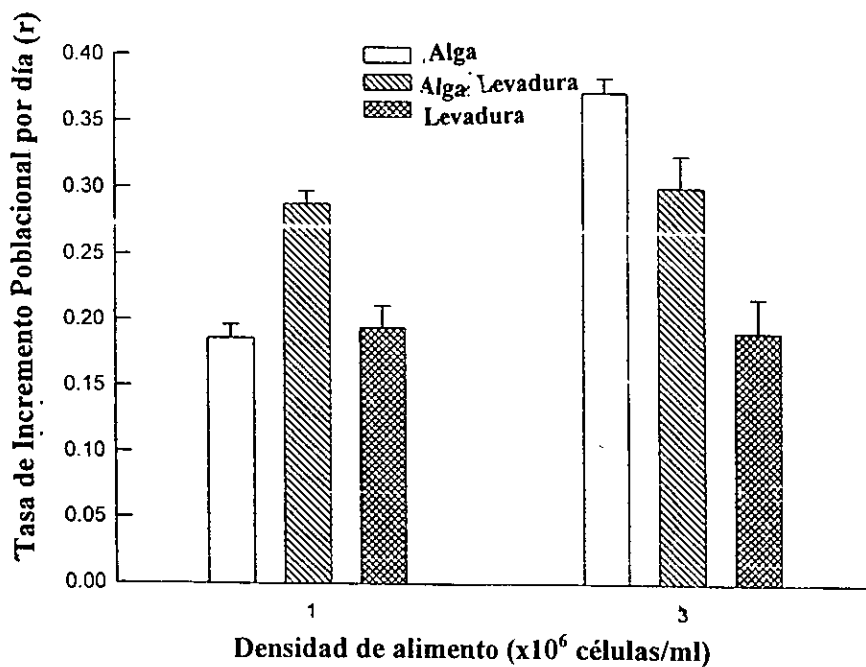


Fig. 8. Tasa y e incremento poblacional (r) en *Brachionus patulus* en relación a dos densidades y tres tipos de alimento.

La tasa diaria de crecimiento poblacional muestra que en el mismo día, la densidad poblacional tiene una relación inversa significativamente ocurrida para ambas especies por efecto de la dieta y su concentración *Brachionus calyciflorus* (Fig. 3) y *B. patulus* (Fig. 5).

1.5 Discusión

Las dietas que incluyen alga verde *Chlorella vulgaris* o un aporte de ella a concentraciones de 1×10^6 y 3×10^6 células ml^{-1} mantienen un crecimiento poblacional de rotíferos *Brachionus calyciflorus* (Figuras 1, 1a) y *Brachionus patulus* (Fig. 2, 2a) desde los primeros días de cultivo hasta el final de la experimentación, no así las dietas que incluyen levadura sola (Tabla 1).

El cultivo de alga *Chlorella vulgaris* contiene la cantidad adecuada de materia orgánica para producir una densidad de rotíferos de alrededor de 50 individuos/ml (Hirata, 1979). En el presente estudio no se evaluó la calidad bioquímica del alga. La producción de rotíferos en levadura como una sola dieta para el cultivo masivo tiene numerosos problemas entre los que se puede mencionar una alta mortalidad de individuos (Watanabe, 1983).

La levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae* como alimento para el cultivo de rotíferos es inestable y provoca un descenso en la densidad poblacional (Hyarayama, 1983). Es inadecuada como dieta sola porque tiene una cantidad deficiente de ácidos grasos. Yúfera (1980) señala que la levadura puede aportar una porción substancial de nutrientes adicionada con las células algales vivas sin disminuir la producción de biomasa de rotíferos y al mismo tiempo aportando a estos una mejor calidad nutricional. La levadura como alimento exclusivo mostró una abundancia máxima para *B. calyciflorus* de 62 ± 19 y 57 ± 25 ind/ml en la densidad baja y alta respectivamente, *B. patulus* tuvo una abundancia poblacional de 97 ± 17 y 50 ± 6 ind/ml, cuando se usaron ambas dietas (alga y levadura) en alta y baja densidad *B. calyciflorus* alcanzó una abundancia de 54 ± 9 y 86 ± 3 ind/ml y *B. patulus* registró una abundancia de 251 ± 12 y 259 ± 32 ind/ml.

El crecimiento poblacional de los rotíferos cultivados en levadura muestra que es un alimento óptimo, pero es necesario controlar los parámetros de cultivo, ya que de no ser así, las poblaciones crecen demasiado, pudiendo ser un alimento tóxico para otros organismos y nutritivamente deficiente. Por tanto es preciso establecer una relación adecuada entre el tipo de alimento y la densidad así como con la población de rotíferos que se inocula al inicio del cultivo y con la que se espera producir.

Para los cultivos de rotíferos alimentados con levadura o con un aporte de la misma es preciso evaluar su crecimiento poblacional y se señala que la admisión de un alimento por un individuo filtrador depende de la relación que existe entre el tipo y la densidad del alimento proporcionado (Rothaupt, 1990).

1.6 Conclusiones

La alta concentración de partículas de materia orgánica saturan el aparato digestivo de los rotíferos y por lo tanto hacen deficiente la asimilación del alimento (Downing y Rigler, 1894), esto es evidente en el crecimiento poblacional (Tablas 2 y 3), que se muestra

lento durante los primeros días de cultivo, luego tiene un incremento y con los cambios diarios se mantiene la misma concentración de levadura, que es mayor a la densidad de los individuos, llevando a la muerte celular de los excedentes de levadura que provocan una contaminación del medio, debido a que los rotíferos no son suficientes al inicio del cultivo para consumir toda la densidad celular de la levadura por varios días, y por tanto las poblaciones de braquiúridos muestran un descenso.

La dieta tradicional de alga, *Chlorella vulgaris* es una buena dieta y se sugiere su utilización, las dietas alternativas a base de levadura de panificación y una mezcla de ambas en dos concentraciones (Baja= 1×10^6 y Alta= 3×10^6 células ml^{-1}) son buenas opciones para la producción de rotíferos: *B. calyciflorus* (Tablas 4 y 5) y *B. patulus* (Tablas 6 y 7), con las que se obtienen densidades poblacionales óptimas para la producción constante y de óptima calidad nutritiva. Los cultivos pueden ser utilizados en la acuicultura a niveles masivos cuidando cada uno de los parámetros (densidad de alimento, cambio diario de medio fisiológico, mantenimiento de temperatura, aireación constantes) del cultivo para evitar contaminación, sobrealimentación, decaimiento de la población, producción de machos, entre otros. La calidad nutritiva que se obtiene de los rotíferos como alimento es buena (Hyarayama, 1973; Gilbert, 1991).

La tasa de crecimiento poblacional (r) más baja en los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* tiene rangos que varían de 0.130 ± 0.026 a 0.633 ± 0.45 (Fig. 7 y 8) a pesar del tipo y densidad del alimento. Estos resultados muestran que la producción y calidad nutricional de los braquiúridos dependen de la densidad celular y calidad de los alimentos empleados en el sistema de cultivo.

Los rotíferos alimentados solo con levadura *Saccharomyces cerevisiae* son pobres en su contenido total de lípidos que es lo contrario a lo que se observa en los rotíferos criados solo en alga o que han recibido un aporte de ella en su dieta. Así, los niveles de lípidos pueden elevarse (Minkoff, 1987) alimentando a los rotíferos con levadura enriquecida con lípidos o complementando con dietas de alga (Dendrinis y Thorpe, 1987).

- Es necesario conocer el tipo y la densidad inicial de alimento y el tiempo en que se obtiene el crecimiento poblacional del cultivo de rotíferos. Se sugiere usar la dieta de alga *Chlorella* en alta o baja densidad. La dieta de levadura es recomendable como fuente de nutrientes, pero, no debe ser suministrada sola, sino como complemento de otra dieta.
- Es importante establecer una óptima combinación entre la inoculación inicial de rotíferos y la densidad de alimento, la baja inoculación puede causar un colapso alimenticio en pocos días y la sobrealimentación puede producir intoxicación del cultivo
- Los rotíferos cultivados en levadura sola son inadecuados como alimento para las larvas de organismos superiores (peces, crustáceos y moluscos) debido a que el crecimiento de los braquiúridos es más tardado, y se obtiene una escasa cantidad, que presenta deficiencias nutritivas. Si se van a cultivar rotíferos que van a ser alimentados con levadura sola, es necesario complementar la dieta con alga.

- Las densidades poblacionales altas de rotíferos inducen cambios en las condiciones del medio.
- El cambio a medio de cultivo fresco debe ser diario.
-
- No es recomendable sobrealimentar a los rotíferos con alimentos altamente concentrados, debido a que una alta concentración de partículas de materia orgánica saturan el aparato digestivo y por consecuencia hace deficiente la asimilación del alimento.

Tabla 1. Crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*. Promedio y \pm Error estándar con relación a dos densidades y tres tipos de alimento (1×10^6 (1=Baja densidad)) células/ml) 1a: Alga, 1b: Alga + Levadura, 1c: Levadura.

Días	1a promedio	Error Estándar	1b Promedio	Error Estándar	1c Promedio	Error Estándar
0	5.000	0.000	5.000	0.000	5.000	0.000
1	20.000	3.611	10.750	2.026	12.000	0.935
2	30.375	1.028	20.750	3.966	15.250	2.487
3	47.000	12.416	39.500	1.443	12.000	1.683
4	77.000	11.923	54.000	8.888	11.250	2.250
5	59.250	7.554	45.250	2.529	8.250	1.181
6	35.750	5.588	30.250	2.358	3.250	1.031
7	26.000	9.283	21.500	10.243	5.000	1.732
8	24.750	2.056	18.750	3.146	12.500	1.021
9	16.875	5.625	12.500	2.041	6.250	0.722
10	13.125	2.366	10.625	1.573	13.125	0.625
11	12.500	1.443	10.625	1.875	19.375	7.864
12	25.625	4.719	39.375	11.519	32.500	19.445
13	14.375	2.366	15.625	2.135	59.375	31.940
14	6.875	0.625	9.375	1.875	62.000	18.909
15	10.625	2.577	3.750	1.250	52.500	15.877

Tabla 2. Crecimiento poblacional de *B. calyciflorus*. Promedio y \pm Error estándar con relación a una alta densidad (3×10^6 células/ml= Alta Densidad) y tres tipos de alimentos: 2a: Alga, 2b: Alga + Levadura, 2c: Levadura.

Días	2a Promedio	Error Estándar	2b Promedio	Error Estándar	2c Promedio	Error Estándar
0	5.000	0.000	5.000	0.000	5.000	0.000
1	12.375	1.819	9.875	1.612	8.750	2.537
2	41.000	13.838	23.875	2.193	13.250	1.331
3	44.000	7.724	44.250	9.733	11.750	0.946
4	48.750	6.921	85.000	9.110	12.250	5.056
5	103.250	7.889	86.000	2.972	15.250	3.750
6	66.000	9.065	46.750	3.637	11.000	3.719
7	58.250	14.744	28.500	2.533	8.000	2.345
8	65.000	9.629	64.375	9.540	28.125	4.719
9	44.625	6.641	54.375	5.340	24.375	5.532
10	39.375	6.644	26.875	2.577	25.000	4.787
11	20.000	5.303	19.375	2.954	30.000	7.144
12	31.875	9.756	23.125	3.733	28.125	5.984
13	85.000	16.425	29.375	7.386	46.250	13.901
14	45.000	9.354	20.000	4.895	57.500	25.249
15	24.375	5.807	11.250	3.750	52.500	23.870

Tabla 3. Crecimiento poblacional de *B. patulus*. Promedio y Error estándar (E.E.) con relación a tres tipos de alimento (1a: Alga, 1b: Alga + Levadura, 1c: Levadura) en una baja densidad (1×10^6 células/ml)

días	1a	E.E.	1b	E.E.	1c	E.E.
0	5.000	0.000	5.000	0.000	5.000	0.000
1	10.750	0.750	12.500	2.327	8.250	1.601
2	22.250	1.109	20.750	1.702	9.750	2.250
3	30.750	2.287	32.250	4.385	21.750	2.250
4	52.750	7.087	79.000	11.747	28.750	5.313
5	67.000	22.008	98.250	6.537	41.750	5.297
6	45.000	4.378	78.250	14.268	30.750	5.154
7	53.750	2.496	86.000	9.600	30.500	6.117
8	59.750	8.518	162.000	5.715	41.000	0.913
9	48.750	7.252	186.250	23.684	57.500	11.946
10	46.250	11.570	160.125	21.875	82.500	7.360
11	109.500	25.621	250.625	11.654	96.875	17.422
12	65.625	18.211	228.750	18.750	35.000	3.680
13	85.625	24.630	146.250	9.382	36.250	8.927
14	77.500	17.230	186.250	10.631	5.000	1.021
15	63.750	16.910	131.250	12.849	1.000	0.000

Tabla 4. Crecimiento poblacional de *B. patulus*. Promedio y E.E. con relación a tres tipos de alimento (2a: Alga, 2b: Alga + levadura, 2c: Levadura) en una alta densidad (3×10^6 células/ml).

Días	2a	E.E.	2b	E.E.	2c	E.E.
0	5.000	0.000	5.000	0.000	5.000	0.000
1	9.750	1.750	14.000	2.517	14.750	1.652
2	10.750	3.146	16.500	3.428	8.000	0.707
3	26.000	2.739	38.500	5.781	25.250	4.715
4	52.000	2.121	70.500	6.357	44.750	9.844
5	71.250	14.710	45.125	8.809	47.000	4.183
6	58.750	5.921	59.000	3.082	25.500	4.628
7	63.000	5.066	99.500	12.312	32.500	3.304
8	102.250	12.086	159.250	11.579	50.250	5.865
9	119.375	13.005	149.375	24.693	36.875	4.002
10	180.000	19.711	205.000	19.764	33.750	15.495
11	296.125	20.177	259.375	31.859	20.625	5.625
12	226.250	17.810	211.250	22.419	11.875	2.366
13	231.250	13.444	183.125	4.130	5.000	1.443
14	292.500	30.397	244.375	19.800	2.625	1.625
15	286.250	20.979	223.750	27.886	1.000	0.000

Tabla 5. Crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* con relación a una baja densidad de alimento (1×10^6 células/ml) valores con 4 réplicas (1a1:Alga, 1b1: Alga + Levadura, 1c1: Levadura)

Días	1a1	1a2	1a3	1a4	1b1	1b2	1b3	1b4	1c1	1c2	1c3	1c4
0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1	15	30.5	15.5	19	12	14.5	5	11.5	9.5	14	12	12.5
2	31	28.5	29	33	25	29	11	18	14.5	10	22	14.5
3	57	77	32	22	40	36	43	39	13	11	8	16
4	108	50	77	73	31	51	73	61	9	15	15	6
5	79	61	54	43	51	44	47	39	10	8	10	5
6	49	27	41	26	37	27	27	30	1	5	5	2
7	14	9	50	31	8	14	12	52	4	10	4	2
8	20	24	30	25	17.5	17.5	27.5	12.5	10	12.5	12.5	15
9	10	7.5	17.5	32.5	7.5	12.5	17.5	12.5	5	7.5	5	7.5
10	20	10	12.5	10	7.5	10	15	10	12.5	15	12.5	12.5
11	15	10	10	15	12.5	7.5	7.5	15	15	7.5	12.5	42.5
12	225	15	37.5	27.5	27.5	15	67.5	47.5	22.5	7.5	10	90
13	17.5	15	17.5	7.5	10	17.5	15	20	65	7.5	17.5	147.5
14	7.5	5	7.5	7.5	12.5	7.5	12.5	5	85.5	35	25	102.5
15	10	10	5	17.5	0	5	5	5	80	25	25	80

Tabla 6. Crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* con relación a una alta densidad de alimento (3×10^6 células/ml) valores con 4 réplicas (2a1: Alga, 2b1:Alga + Levadura, 2c1: Levadura).

Días	2a1	2a2	2a3	2a4	2b1	2b2	2b3	2b4	2c1	2c2	2c3	2c4
0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1	12	16	7.5	14	13	12	6	8.5	12.5	6	13.5	3
2	29	36	18	81	22.5	29.5	24.5	19	15	16	11.5	10.5
3	55	35	59	27	36	38	73	30	13	12	13	9
4	46	46	35	68	102	94	84	60	27	9	4	9
5	80	115	108	110	90	91	78	85	25	11	8	17
6	45	86	75	58	40	57	46	44	21	7	4	12
7	58	99	30	46	25	35	24	30	13	11	4	4
8	85	52.5	77.5	45	52.5	52.5	60	92.5	35	35	15	27.5
9	63.5	42.5	40	32.5	42.5	57.5	50	67.5	32.5	17.5	12.5	35
10	42.5	45	50	20	20	32.5	27.5	27.5	37.5	17.5	17.5	27.5
11	27.5	7.5	30	15	20	15	15	27.5	45	12.5	37.5	25
12	27.5	60	25	15	25	32.5	20	15	42.5	15	22.5	32.5
13	82.5	102.5	115	40	30	20	50	17.5	72.5	17.5	67.5	27.5
14	40	45	70	25	30	7.5	17.5	25	122.5	17.5	72.5	17.5
15	35	20	32.5	10	5	5	15	20	120	20	52.5	17.5

Tabla 7. Crecimiento poblacional de *Brachionus patulus* con relación a dos densidades (1=baja densidad (1×10^6 células/ml). 1a1: Alga, 1b1: Alga + Levadura, 1c1: Levadura, 2=alta densidad (3×10^6 células/ml) y tres tipos de alimentos con cuatro replicas cada uno.

Días	1a1	1a2	1a3	1a4	1b1	1b2	1b3	1b4	1c1	1c2	1c3	1c4
0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1	10	12	9	12	12	19	11	8	7	13	7	6
2	23	19	23	24	22	24	21	16	16	7	10	6
3	25	36	32	30	45	27	31	26	24	24	15	24
4	50	73	48	40	89	65	55	107	44	28	22	21
5	32	26	102	108	104	108	102	79	53	36	30	48
6	48	39	56	37	117	69	49	78	20	28	41	24
7	59	55	47	54	110	71	70	93	36	41	32	13
8	82	41	55	61	156	150	176	166	43	39	40	42
9	40	67.5	35	52.5	255	180	152.5	157.5	85	70	37.5	37.5
10	27.5	27.5	55	75	192.5	135	202.5	112.5	92.5	97.5	67.5	72.5
11	48	97	122	171	247.5	220	260	175	110	120	45	112.5
12	32.5	45	70	115	237.5	192.5	277.5	207.5	35	25	42.5	37.5
13	35	70	152.5	85	130	170	152.5	132.5	22.5	30	30	62.5
14	42.5	72.5	70	125	177.5	165	187.5	215	5	5	7.5	5
15	15	67.5	82.5	90	162.5	135	127.5	100	1	1	1	1

Tabla 8. Crecimiento poblacional de *B. patulus*, 2a1: Alga, 2b1:Alga + Levadura, 2c: Levadura.

días	2a1	2a2	2a3	2a4	2b1	2b2	2b3	2b4	2c1	2c2	2c3	2c4
0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1	6	8	11	14	19	15	15	7	19	14	11	25
2	14	5	6	18	26	11	17	12	9	6	9	8
3	28	32	25	19	36	53	40	25	32	21	34	14
4	50	56	55	47	60	74	87	61	70	22	45	42
5	35	103	85	62	48	68.5	36	28	46	43	40	59
6	65	41	65	64	57	68	57	54	19	24	20	39
7	54	56	66	76	118	66	96	118	34	24	32	40
8	126	120	84	79	169	136	187	145	41	64	40	56
9	132.5	115	85	145	217.5	150	102.5	127.5	42.5	40	25	40
10	152.5	140	210	217.5	200	222.5	152.5	245	77.5	5	22.5	30
11	285	245	337.5	317	270	335	252.5	180	27.5	5	20	30
12	192.5	202.5	240	270	207.5	235	150	252.5	15	5	15	12.5
13	247.5	257.5	222.5	197.5	172.5	185	192.5	182.5	2.5	2.5	7.5	7.5
14	287.5	252.5	380	250	220	260	292.5	205	1	1	7.5	1
15	312.5	235	327.5	270	267.5	142.5	250	235	1	1	1	1

Tabla 9. Tasa de incremento poblacional (r) en *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* con relación a 2 densidades (Baja densidad= 1×10^6 y Alta densidad= 3×10^6 células/ml) de alimento (alga, levadura, mezcla). Se muestra el promedio y \pm error estándar.

Variable s Poblacionales	Parámetro	Parámetro	Parámetro	Parámetro
Tasa de Crecimiento	Df	SS	MS	F
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus calyciflorus</i>	2	0.028	0.01	11.31 ***
Concentración de Alimento (B) <i>Brachionus calyciflorus</i>	3	0.075	0.02	20.08 ***
A x B	6	0.007	0.00	0.89 ns
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus patulus</i>	2	0.010	0.00	6.40 **
Concentración de Alimento (B) <i>Brachionus patulus</i>	3	0.143	0.05	61.27 ***
AxB	6	0.000	0.00	0.10 ns
Día de Abundancia Máxima				
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus calyciflorus</i>	2	0.210	0.10	14.38 ***
Concentración de Alimento (B) <i>Brachionus calyciflorus</i>	1	0.006	0.01	0.77 ns
AxB	2	0.950	0.48	65.07 ***
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus patulus</i>	2	21.167	10.28	15.24 ***
Concentración de Alimento (B) <i>Brachionus patulus</i>	3	5.861	1.95	2.81 ns
AxB	6	9.055	1.51	2.17 ns
Densidad Máxima				
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus calyciflorus</i>	2	0.3643	1.82	23.12 ***
Concentración de alimento (B) <i>Brachionus calyciflorus</i>	3	10.596	3.53	44.82 ***
AxB	6	1.374	0.23	2.91 *
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus patulus</i>	2	0.462	6.23	4.00 *
Concentración de Alimento (B) <i>Brachionus patulus</i>	3	15.387	5.13	88.88 ***
A x B	6	0.000	0.03	0.56 ns

***, ** = Grado de significancia., ns = No significativo estadísticamente

A = Tipo de Alimento. B = Concentración de Alimento (1×10^6 y 3×10^6 células/ml)

Tabla 10. Tasa de incremento poblacional (r) en *Brachionus calyciflorus* con relación a dos densidades de alimento (1×10^6 y 3×10^6 células/ml) Se muestra promedio y error estándar y valores con 4 réplicas

Alimento	Promedio	Error E.	Promedio	Error E.	Promedio	Error E.
1.000	0,619	0,047	0,053	0,049	0,159	0,059
3.000	0,633	0,045	0,627	6,845e-3	0,130	0,026

Alimento	Promedio	Alim.	Promedio	Alim.	Promedio	Alim.	Promedio	Alim.	Promedio	Alim.	Promedi
1a1	0.726	1b1	0.458	1c1	0.197	2a1	0.705	2b1	0.618	2c1	0.121
1a2	0.529	1b2	0.485	1c2	0.052	2a2	0.532	2b2	0.646	2c2	0.072
1a3	0.550	1b3	0.670	1c3	0.078	2a3	0.713	2b3	0.627	2c3	0.199
1a4	0.670	1b4	0.597	1c4	0.309	2a4	0.580	2b4	0.616	2c4	0.128
1a	0.619	1b	0.553	1c	0.159	2a	0.633	2b	0.627	2c	0.130
	0.047		0.049		0.059		0.045		6.84e-3		0.026

Tabla 10a. Tasa de incremento poblacional (r) en *B. patulus* con relación a dos densidades de alimento (1×10^6 y 3×10^6 células/ml). Se muestra promedio y error estándar y valores con 4 réplicas.

Alimento	Promedio	Error E.	Promedio	Error E.	Promedio	Error E.
1.000	0.186	0.010	0.288	9.183e-3	0.194	0.016
3.000	0.372	0.011	0.301	0.024	0.191	0.026

Alimento	Promedi	Alim	Prom.	Alim	Prom.	Alim.	Prom.	Alim	Prom.	Alim.	Prom.
1a1	0.161	1b1	0.282	1c1	0.184	2a1	0.376	2b1	0.274	2c1	0.145
1a2	0.201	1b2	0.267	1c2	0.183	2a2	0.374	2b2	0.370	2c2	0.232
1a3	0.206	1b3	0.311	1c3	0.167	2a3	0.395	2b3	0.295	2c3	0.149
1a4	0.176	1b4	0.292	1c4	0.242	2a4	0.341	2b4	0.264	2c4	0.240
1a	0.186	1b	0.288	1c	0.194	2a	0.372	2b	0.301	2c	0.191
	0.010		0.0092		0.016		0.011		0.024		0.026

1.7 Referencias

- Anonymous. 1985. Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organism. Environment Protection Agency. EPA/600/4-85/013.
- Arndt, H. 1993. Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria heterotrophic, flagellates ciliates): a review Hydrobiol: 255/256: 231-246.
- Awaiss, A.;Kestemont. 1992. P. An investigation into the mass production of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. 1-An eco-physiological approach to nutrition. Aquaculture 105: 325-336. Amsterdam.
- Awaiss A., Kestemont. 1992. P. 2.- Influence of temperature on the population dynamics Aquaculture 105: 337-344
- Arévalo-S. R. A. 1998. Uso del nejayote para el cultivo del rotífero: *Brachionus calyciflorus* Pallas bajo condiciones de laboratorio. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. 60 p.
- Bennet, W. N., Borass, M. E. 1989. A demographic profile of the fastest growing metazoan: a strain of *Brachionus calyciflorus* (rotifera) Oikos Vol. 55, pp.365-369.
- Dumont, H., S. S. S. Sarma and A. Jawahar. 1995. A. Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (rotifera) in relation to food density. Freshwater Biology. Vol. 33: 39-46
- King, C. E. 1967. Food, age, and the dynamics of laboratory population of rotifer. Ecology 48:111-128.
- Mitchell, S. A. 1986. Experiences with outdoor semi continuous mass culture of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifera). Aquaculture 51: 289-297.
- Mitchell, S. A., & H. B. Joubert 1986. The effect of elevated pH on the survival and reproduction of *Brachionus calyciflorus*. Aquaculture 55: 215-220.
- Pandian, T. J. 1991. Manual on culture of live food organism for prawns. Product export development authority. India.
- Pourriot, R. 1965. Recherches sur l'ecologie des rotiferes. Vie et Milieu (Suppl) 21:1-224.
- Rao, T. R. & S. S. S. Sarma. 1988. Effect of food and temperature on the cost of reproduction in *Brachionus patulus*. Indian Nature. Sci. Acad. B54 N. 6 pp.435-438.
- Rico-Martínez, R. & S. I. Dodson. 1992. Culture of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Aquaculture 105:191-199.
- Rodríguez, C., Pérez, J. A. Izquierdo, M. S. Cejas, J. R. Bolaños, A. and Lorenzo A. 1996. Improvement of the nutritional value of rotifers by varying the type and concentration of oil and enrichment period. Aquaculture 147:93-105.
- Rothaupt, K.O. 1995. Algal nutrient limitation affects rotifer growth rate but not ingestion rate. Limnology and Oceanography 40:1201-1208.
- Ruttner-Kolisko, A. 1997. Suggestions for biomass calculation of plankton rotifers. Arch. Hydrobiol. Beih. 8:71-76.
- Sarma, S. S. S. 1985. Effect of food density on the growth of the rotifer *Brachionus patulus* Muller. Bull. Bot. Soc. Sagar. 32:54-59.
- Sarma, S. S. S. & T. R. Rao. 1991. The combined effects of food and temperature on the life history parameters of *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) Int. Revue Ges. Hydrobiol. 76, 2, 225-239.

- Sarma, S. S. S. & T. R. Rao 1990. Population dynamics of *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) in relation to food and temperature. Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.), Vol. 99. N. 4: 335-343 pp.
- Sarma, S.S.S. 1989. Effect of *Chlorella* density and temperature on somatic growth and age at maturity of the rotifer *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) Current Science, July 20. Vol. 58. N. 14 pp. 788-791.
- Sarma, S. S. S. & T. R., Rao. 1987. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Muller. Arch. Hydrobiol. 111.2.-245-253.
- Sarma, S. S. S., Arévalo Stevenson R. A. & Nandini.S. 1988. Influence of food (*Chlorella vulgaris*) concentration and temperature on the population dynamics of *Brachionus calyciflorus* Pallas. (Rotifera). Ciencia Ergosum 5(1):77-81(México).
- T. R. Rao & S. S. S. Sarma. 1985. Mictic and amictic modes of reproduction in the rotifer *Brachionus patulus* Muller. Current Science. Vol. 54. n.11. pp 499-501.
- Walz N. S. S. Sarma & U. Benker. 1995. Egg size in relation to body size in rotifers: an indication of reproductive strategy. Hydrobiol. 313-314:165-170.

Capítulo 2

Crecimiento poblacional del rotífero depredador *Asplanchna sieboldi* (Leydig) alimentado con las presas *Brachionus calyciflorus* Pallas y *Brachionus patulus* (O.F. Muller)

2.1 Introducción

En acuicultura es importante para la alimentación de un depredador, que la presa tenga un óptimo tamaño y calidad nutritiva. El género *Brachionus* muestra en alto grado una dependencia de la naturaleza de la dieta proporcionada (Hamza y Robin, 1992).

El rotífero *Asplanchna* es un importante depredador de zooplancton de talla pequeña, especialmente para los rotíferos, ciliados, cladóceros, y copépodos. Las dietas para los asplánchnidos muestran limitaciones en su crecimiento poblacional, por el tamaño morfológico, y tendencias evasivas de la presa. Por lo que el depredador responde de manera funcional y numérica al incremento de la densidad de presa (Tablas 12, 13 y 14 y 15). Esto también tiene un importante papel en la estructura comunitaria del zooplancton (Gandy, 1995).

Liao (1971) observó que la calidad, tamaño, densidad y movilidad del alimento vivo es un factor importante para el desarrollo de las técnicas de crianza de los depredadores. Los rotíferos como alimento vivo incrementan, el crecimiento y sobrevivencia poblacionales de los consumidores terciarios cuando se les proporciona una dieta tradicional o alternativa con un óptimo aporte de materia orgánica (Lubzens, 1984)

El cultivo de rotíferos alimentados con levadura, con respecto al que se desarrolla con algas verdes como *Chlorella* presenta deficiencias en ciertos ácidos grasos esenciales (Rodríguez *et al.* 1996). En este trabajo se determinó que *Brachionus calyciflorus* (Fig. 1-1a) y *Brachionus patulus* (Fig. 2, 2a) se pueden cultivar en diferentes medios nutritivos, obteniendo una alta producción que puede ser aprovechada para la alimentación y cultivo de larvas de peces, crustáceos, langostinos, entre otros consumidores terciarios de importancia comercial.

En bioensayos realizados con *Brachionus patulus* y *B. calyciflorus*, usando al rotífero depredador *Asplanchna sieboldi* como indicador, se comparan los rangos de crecimiento obtenidos cuando se alimenta con *Brachionus calyciflorus* (Fig. 9, 9a, 9b, 9c) y *B. patulus* (Fig. 10, 10a, 10b, 10c) bajo tres condiciones de experimentación: 100% alga, 50% alga y 50% levadura, 100% levadura, con cuatro densidades de presa. La relación entre el volumen del cuerpo de *Asplanchna* y el contenido proteico en diferentes concentraciones de presa dada fue obtenido de manera relativa.

La calidad nutritiva de las presas es incrementada en proteína total contenida, cuando la concentración de alimento también se incrementa en el rotífero *Keratella tropica*, manifiesta este patrón (Hoffmann, 1983).

2.2 Objetivos: Evaluar a los rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* usados como presa del rotífero depredador *Asplanchna sieboldi* alimentados con alga *Chlorella vulgaris*, levadura *Saccharomyces cerevisiae* y una mezcla de ambas

2.21 Determinar el efecto de la calidad nutritiva relativa de los rotíferos *B. patulus* y *B. calyciflorus* en el crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi*

2.22 Establecer la morfometría del rotífero *Asplanchna sieboldi* alimentado con alga *Chlorella vulgaris*.

2.3 Material y Método

Para la realización de este trabajo se usaron dos especies de rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* como presas y como depredador al rotífero *Asplanchna sieboldi*.

En el laboratorio cada especie de rotífero fue cultivada independientemente en peceras de vidrio de 20 lts de capacidad, proporcionándoles tres tipos de alimentación. Los braquiúridos estaban contenidos en recipientes de plástico de 200 ml, con 20 ml totales de medio fisiológico EPA + alga, levadura, y una mezcla de ambas en pequeñas cantidades (2 ml), para simular las condiciones de cultivo en que se mantuvieron los rotíferos-presa. Se proporcionaron diariamente cuatro diferentes concentraciones de *Brachionus calyciflorus* (Tablas 12 y 13) y *B. patulus* (Tablas 14 y 15) a los rotíferos depredadores (Densidades de presa de 2.5=50 ind/ml, 5=100 ind/ml, 10=200 ind/ml, 20=400 individuos/ml/24 hrs) como alimento. Inicialmente se colocaron 2 rotíferos depredadores en cada uno de los recipientes. Se manejaron tres réplicas para cada concentración de presa. Se experimentó en 36 recipientes de prueba (3 tipos de presa nutritiva x 4 densidades de presa x 3 réplicas=36), Tablas 11 y 13.

La densidad de las presas y los depredadores se contó diariamente por separado mediante un microscopio estereoscopio, una cajita pequeña de acrílico para tomar alícuotas de las muestras de las réplicas y una pipeta Pasteur adaptada al tamaño de los rotíferos. Se utilizó un análisis de varianza (Tabla 10, ANOVA) para monitorear la densidad de los depredadores cada 24 horas, los asplánchnidos sobrevivientes fueron transferidos a un recipiente nuevo con medio fresco y con la misma densidad de alimento (Figuras 10, 10a, 10b, 10c, para *B. calyciflorus* y 9, 9a, 9b, 9c, para *B. patulus*) asignada al comenzar el experimento que concluyó al día 10, cuando la población mostró una meseta en el crecimiento, se calculó la tasa de crecimiento poblacional (r) de *Asplanchna sieboldi* en cada una de las densidades alimenticias ya descritas anteriormente, y se determinó la calidad nutritiva relativa de *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* criados en alga, levadura y en una mezcla de ambas como alimento del depredador *Asplanchna sieboldi*.

Se estimó la morfometría de 100 rotíferos de la especie *A. sieboldi* alimentados con *Brachionus patulus* y *B. calyciflorus*, los asplánchnidos se conservaron en formalina concentrada al 10%. Con un Microscopio compuesto marca Nikon y un micrómetro ocular se midió el tamaño de los individuos en un aumento de 10x multiplicado por la fórmula de Ruttner y Kolisko, 1997. Las medidas incluyen: el largo y el ancho del cuerpo, los que se dibujaron sobre una hoja de papel usando una cámara lúcida, también fue medida la faringe

o mástax (el fulcrum, la base del ramus, el ramus, la espina), para su localización se usó hipoclorito de sodio para separarlo del resto del cuerpo y se observó en un aumento de 40x. La relación entre el volumen del cuerpo de *Asplanchna* y el contenido proteico en diferentes concentraciones de presa dada fue obtenida de manera relativa las medidas y formas se expreso en forma de dibujos. El tamaño del cuerpo de *Asplanchna* se expresó en unidades de volumen (μm^3). De acuerdo a Ruttner-Kolisko; 1997 y Walz et al., 1995.

2.4 Resultados

El crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* mostró diferencias significativas relacionadas con la densidad poblacional y la calidad nutricional de *Brachionus calyciflorus* (Tabla 12 y 13) y *B. patulus* (Tabla 14 y 15) cultivados en diferentes alimentos y en diferentes densidades.

Los *Asplanchna* alcanzaron un pico de abundancia de 0.43 ± 0.10 (Tabla 11a-2.5 ind/ml), 0.47 ± 0.07 (Tabla 11b-5 ind/ml), 0.65 ± 0.20 (Tabla 11c-10 ind/ml) y 1.28 ± 0.20 (Tabla 11d-20 ind/ml) bajo concentraciones de presa. Los valores comparables de los asplánchnidos fueron 0.42 ± 0.11 (Tabla 13a-2.5 ind/ml), 1.07 ± 0.15 (Tabla 13b-5 ind/ml), 1.17 ± 0.30 (Tabla 13c-10 ind/ml) y 2.45 ± 0.19 20 ind/ml (Tabla 13d-20 ind/ml), respectivamente. Cuando se uso *Brachionus patulus* como tipo de presa cultivados en levadura y alga, *A. sieboldi* mostró el pico más alto de densidad de 3.00 ± 0.26 individuos/ml (Tabla 11 y 12). Pero en el cultivo en levadura sola los *Asplanchna* mostraron un pico de abundancia de 2.30 ± 0.40 ind/ml (Tabla 13) bajo la más alta concentración de presa. Hubo un efecto significativo de los rotíferos *B. calyciflorus* y *B. patulus* ($p < 0.05$, Tabla 10) en su densidad ($p < 0.01$) sobre la abundancia máxima poblacional de los *Asplanchna* a pesar de las especies de braquiiónidos usados. Sin embargo el tipo de alimento y la densidad poblacional usada fué estadísticamente significativa para *Brachionus calyciflorus*, pero, no para *B. patulus*.

Los valores del día de abundancia máxima incrementaron del día 6 al 9 para *Brachionus patulus* (Tabla 13) y para *B. calyciflorus* (Tabla 11) incrementaron del día 9 al 11. El día en que *Asplanchna* alcanzó el cultivo la máxima abundancia poblacional no fué significativa ($p > 0.05$) excepto para *B. patulus* criado en varios tipos de alimento.

La tasa de crecimiento poblacional (r) de *A. sieboldi* incrementó con el aumento de la densidad de presa, a pesar de su alimentación de alga, levadura y una mezcla de ambas. El rotífero *Asplanchna sieboldi* alimentado con *B. patulus* (Fig., 10, 10a, 10b, 10c) mostró un alto valor para (r) comparado con *B. calyciflorus* (Fig. 9, 9a, 9b, 9c). El valor (r) es significativo para *Asplanchna* y varía desde 0.14 ± 0.02 a 0.37 ± 0.02 sin considerar el tipo de alimento-presa.

El valor de (r) para *A. sieboldi* fué significativamente influenciado por la calidad nutricional y densidad de los braquiiónidos ($p > 0.01$, Tabla 9), pero su interacción no fué significativa ($p > 0.05$, Tabla 9).

2.5 Discusión

La conducta alimenticia de *Asplanchna* consiste en 4 etapas (Gilbert, 1980): 1) Encuentro de la presa, 2) Ataque, 3) Captura, 4) Ingestión

Cuando los asplánchnidos se alimentaban solo con alga, levadura, o en la mezcla de ambas solo obtenían la energía necesaria para sobrevivir, pero no se reproducían, los bioensayos se mantenían durante los primeros días (1^o y 2^o) alimentados con las densidades de braquiiónidos antes citadas y no se reprodujeron porque se estaban adaptando a las nuevas condiciones del cultivo experimental (densidad de rotíferos adecuada, 20 ml de medio EPA de capacidad, mantenimiento de los 5 rotíferos depredadores iniciales, cambio diario del medio de cultivo, proporción del alimento donde se cultivaron los rotíferos-presa), a partir del 3^{er} día se registró un crecimiento poblacional.

La calidad nutritiva relativa del alimento proporcionado (los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus*) determina el control de la abundancia de los depredadores *A. sieboldi*. La eficiencia nutritiva de los braquiiónidos usados como alimento es determinada por el tipo y densidad de alimento que consumen (Watanabe et al. 1993). Sin embargo la tasa de crecimiento poblacional de *A. sieboldi* incrementó con el aumento de la densidad de la presa, a pesar de su calidad nutricional. Se observaron variaciones en el crecimiento poblacional de los asplánchnidos con relación al tipo y densidad de las braquiiónidos (Tablas 13 y 14).

La curva de crecimiento para *Asplanchna* alimentada con *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* es común para el zooplancton oportunista (Downing y Rigler, 1984; Rothhaupt, 1988; Rothhaupt y Lampert, 1992; Rico-Martínez y Dobson; 1992).

Este estudio permite saber cual es la respuesta numérica de la población del rotífero depredador *Asplanchna*, que se obtiene con relación al tipo, densidad y movimiento de la presa. No se monitoreo la mortalidad.

La eficiencia nutritiva del alimento tiene un papel importante en la dinámica poblacional del depredador (Rothaupt, 1990; Smith, 1991; Vanni & Lampert, 1992; Mitchell, 1992), cuando se uso *B. calyciflorus* como tipo de presa cultivado en levadura sola y alga *A. sieboldi* evidenció el pico de abundancia más alto $3\ 00 \pm 0.06$ ind/ml (Tablas 13 y 14), pero en el cultivo con levadura sola los *Asplanchna* tuvieron una abundancia de 2.30 ± 0.40 ind/ml bajo la más alta concentración de presa (Tabla 13), es preciso mencionar que los depredadores dependen de la facilidad de captura, disponibilidad, tamaño, y tipo de dieta con la cual fueron nutridas sus presas. La tasa de crecimiento poblacional de un depredador depende de la densidad y características biológicas como: calidad nutritiva, morfología y movimientos de la presa. Los valores del día de abundancia máxima variaron del día 6 al 9 para *B. calyciflorus* y del día 9 al 11 para *B. patulus*

El volumen de *Asplanchna* se incrementa con relación a la densidad de presa consumida. Las diferencias en tamaño o volumen pueden deberse a la cantidad de encuentros y la tasa de captura a las altas densidades de presa. Hubo un efecto significativo para cada uno de los rotíferos usados como alimento y en su densidad sobre la abundancia

máxima poblacional de los *Asplanchna*. Sin embargo el tipo y densidad fue estadísticamente significativo para *B. calyciflorus*, pero no para *B. patulus*. Esquemas 1.

2.6 Conclusiones

Con el incremento de la densidad de la presa, *Asplanchna* ingiere mayores cantidades hasta saciarse, no se marca un límite en su ingestión, por lo que hay un incremento en la densidad poblacional del depredador. Sin embargo, las variaciones en la abundancia poblacional del depredador con relación a ambas especies de presa indican que la calidad nutritiva es determinada por estas últimas, *B. calyciflorus* es más fácil de capturar debido a sus desplazamientos lentos, pero su tamaño es mayor que el de *B. patulus* que es más veloz y más pequeño, pero es evidente que su calidad alimenticia depende de la dieta en la que se hayan criado.

El bioensayo muestra que la tasa de crecimiento de *Asplanchna* es baja cuando se alimenta de *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* criados en levadura sola, los que consumieron solo alga presentan un rendimiento alto en pocos días. Sin embargo estos resultados no implican que la calidad de los rotíferos no sea la adecuada para los asplánchnidos.

Los resultados que aquí se presentan sugieren que la calidad de los rotíferos del género: *Brachionus* alimentados con *Chlorella* son nutritivos, además de que se obtiene una alta cantidad en poco tiempo, lo cual es importante para el cultivo de consumidores terciarios como *Asplanchna*.

RECOMENDACIONES

- Es necesario hacer estudios con la presa que se nutre de un medio específico para ser consumida por un depredador posteriormente, para evitar un bajo crecimiento poblacional que no sea satisfactorio a los requerimientos nutricionales.
- El valor energético del alimento para un depredador depende de la densidad de la presa y de la facilidad de captura, así como de la calidad nutritiva (cantidad de carbohidratos, proteínas, aminoácidos, lípidos, minerales, entre otros) del alimento asignado.
- La densidad poblacional de los rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* tuvo un efecto significativo en el crecimiento poblacional del rotífero depredador *Asplanchna sieboldi* que es baja cuando los rotíferos presa se alimentan de levadura sola, sin embargo los que se alimentaron se alga o de un aporte de ella presentaron un crecimiento alto en pocos días y por lo tanto había una mayor disponibilidad y fácil colecta.

Tabla 11. Análisis estadístico de dos vías (Anova) de las variables seleccionadas en *Asplanchna sieboldi* con relación a dos tipos de alimentos (*Brachionus calyciflorus* y en *B. patulus*) en 3 densidades de alimento.

Variables	Parámetro	Parámetro	Parámetro	Parámetro
Tasa de Crecimiento	Df	SS	MS	F
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus calyciflorus</i>	1	0.002	0.00	0.32 ns
Concentración de Alimento (B)	2	1.149	0.57	78.64 **
A x B	2	0.011	0.01	0.74 ns
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus patulus</i>	1	0.026	0.03	20.91 ***
Concentración de Alimento (B)	2	0.048	0.02	19.61 ***
A x B	2	0.022	0.02	17.85 ***
Día de Abundancia Máxima				
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus calyciflorus</i>	1	13.5	13.5	1.48 ns
Concentración de Alimento (B)	2	209.250	104.63	11.48 ns
A x B	2	19.750	9.88	1.08 ns
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus patulus</i>	1	0.375	0.38	0.11 ns
Concentración de Alimento (B)	2	45.250	23.63	6.93 **
A x B	2	45.250	23.63	6.93 **
Densidad Máxima				
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus calyciflorus</i>	1	1641.750	1641.750	1.49 ns
Concentración de Alimento (B)	2	2762.766	1381.38	1.51 ns
A x B	2	1797.781	898.89	0.98 ns
Tipo de Alimento (A) <i>Brachionus patulus</i>	1	21301.000	21301.00	17.62 ***
Concentración de Alimento (B)	2	153962.688	76981.34	63.69 ***
A x B	2	56792.250	28396.13	23.49 **

, *, ***= Grado de significancia., ns= No significativo estadísticamente

A=Tipo de Alimento (Alga, levadura y Mezcla).

B=Concentración de Alimento (Alta= 3×10^6 y Baja= 3×10^4 células/ml)

Tabla 12. *Asplanchna sieboldi* (Promedio y Error estándar (E.E) crecimiento con relación a tipo y densidad de alimento con *Brachionus patulus*.

Densidad de presa =2.5 ind/ml o 50 ind/20 ml de medio EPA (fig.)						
	Alga	Error E.	Alga + Levadura	Error E.	Levadura	Error E.
0	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
1	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
2	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
3	0.167	0.033	0.117	0.000	0.183	0.044
4	0.200	0.029	0.267	0.017	0.217	0.017
5	0.217	0.060	0.333	0.060	0.250	0.076
6	0.267	0.044	0.367	0.073	0.367	0.120
7	0.317	0.017	0.517	0.067	0.567	0.093
8	0.283	0.044	0.600	0.133	0.767	0.101
9	0.433	0.109	0.733	0.044	0.733	0.101
10	0.433	0.067	0.667	0.067	0.733	0.033

Densidad de presa= ind/ml o 100 ind/20 ml de medio EPA						
	Alga	Error Estándar	Alga + Levadura	Error E.	Levadura	Error E.
0	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
1	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
2	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
3	0.100	0.000	0.167	0.033	0.267	0.093
4	0.167	0.033	0.300	0.076	0.333	0.088
5	0.217	0.017	0.350	0.029	0.450	0.087
6	0.283	0.044	0.433	0.088	0.650	0.176
7	0.250	0.029	0.367	0.060	0.750	0.218
8	0.300	0.076	0.467	0.101	0.750	0.115
9	0.467	0.67	0.783	0.101	0.683	0.136
10	0.467	0.044	0.550	0.076	0.683	0.101

Densidad de presa=10 ind/ml o 200 ind/20 ml de medio EPA						
	Alga	Error E.	Alga + Levadura	Error E.	Levadura	Error E.
0	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
1	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
2	0.133	0.017	0.133	0.017	0.100	0.000
3	0.133	0.017	0.100	0.000	0.183	0.083
4	0.150	0.000	0.150	0.029	0.317	0.148
5	0.333	0.060	0.267	0.073	0.433	0.145
6	0.533	0.073	0.633	0.186	0.567	0.093
7	0.517	0.130	1.017	0.295	0.617	0.130
8	0.617	0.073	1.567	0.529	0.767	0.176
9	0.650	0.029	1.600	0.176	1.400	0.132
10	0.617	0.130	1.833	0.292	1.133	0.242

Densidad de presa=20 ind/ml o 400 ind/20 ml de medio EPA						
	Alga	Error Estándar	Alga + levadura	Error E.	Levadura	Error E.
0	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
1	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
2	0.100	0.000	0.100	0.000	0.100	0.000
3	0.100	0.000	0.167	0.044	0.250	0.100
4	0.183	0.017	0.300	0.087	0.650	0.161
5	0.233	0.088	0.583	0.188	1.167	0.209
6	0.433	0.109	0.717	0.142	1.667	0.495
7	0.600	0.104	1.033	0.073	1.600	0.325
8	0.750	0.132	1.250	0.173	1.617	0.277
9	1.233	0.233	2.333	0.249	1.683	0.404
10	1.283	0.203	1.817	0.289	1.533	0.421

Tabla 13. Crecimiento con relación a *Brachionus calyciflorus* como alimento para *Asplanchna sieboldi* (Promedio y \pm Error estándar) Los valores de *Asplanchna* están dados en individuos/ml A50, B50, C50=50 presas/20 ml (2.5 ind/ml), A100, B100, C100=100 presas/ml (5 ind/ml), A200, B200, C200=200 presas/ml (10 ind/ml), A400, B400, C400=400 presas/ml (20 ind/ml).

Alga A50	Alga B50	Alga C50	Alga A100	Alga B100	Alga C100	Alga A200	Alga B200	Alga C200	Alga A400	Alga B400	Alga C400
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.150	0.100	0.150	0.100	0.100	0.100
0.200	0.100	0.200	0.100	0.100	0.100	0.300	0.150	0.150	0.100	0.100	0.100
0.200	0.150	0.250	0.100	0.200	0.200	0.400	0.150	0.150	0.200	0.150	0.200
0.300	0.100	0.250	0.200	0.200	0.250	0.300	0.250	0.450	0.200	0.100	0.400
0.250	0.200	0.350	0.200	0.300	0.350	0.500	0.650	0.550	0.400	0.350	0.700
0.300	0.300	0.350	0.200	0.250	0.300	0.300	0.750	0.500	0.450	0.550	0.800
0.350	0.200	0.300	0.250	0.200	0.450	0.500	0.750	0.600	0.500	0.800	0.950
0.650	0.300	0.350	0.400	0.400	0.600	0.700	0.600	0.650	0.800	1.600	1.300
0.500	0.500	0.300	0.400	0.450	0.550	0.400	0.600	0.850	0.950	1.650	1.250

A+L A50	A+L B50	A+L C50	A+L A100	A+L B100	A+L C100	A+L A200	A+L B200	A+L C200	A+L A400	A+L B400	A+L C400
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.150	0.100	0.150	0.100	0.100	0.100
0.100	0.150	0.100	0.200	0.100	0.200	0.100	0.100	0.100	0.100	0.250	0.150
0.150	0.300	0.350	0.350	0.150	0.400	0.200	0.150	0.100	0.150	0.450	0.300
0.200	0.350	0.450	0.400	0.300	0.350	0.400	0.250	0.150	0.250	0.900	0.600
0.300	0.300	0.500	0.600	0.300	0.400	0.400	0.400	1.000	0.500	0.550	1.000
0.250	0.650	0.650	0.250	0.450	0.400	1.600	0.800	0.650	1.150	1.050	0.900
0.200	0.900	0.700	0.700	0.650	0.450	2.600	0.850	1.250	1.550	1.250	0.950
0.650	0.800	0.750	0.750	0.950	0.800	1.800	1.250	1.750	2.800	1.950	2.250
0.600	0.800	0.600	0.450	0.700	0.500	2.100	1.250	2.150	2.300	1.850	1.300

Lev. A50	Lev B50	Lev C50	Lev A100	Lev B100	Lev C100	Lev A200	Lev B200	Lev C200	Lev A400	Lev B400	Lev C400
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
0.200	0.100	0.250	0.150	0.200	0.450	0.100	0.100	0.350	0.450	0.150	0.150
0.200	0.250	0.200	0.200	0.300	0.500	0.250	0.100	0.600	0.950	0.600	0.400
0.200	0.400	0.150	0.300	0.450	0.600	0.400	0.200	0.700	1.350	1.400	0.750
0.200	0.600	0.300	0.300	0.850	0.800	0.750	0.500	0.450	1.800	2.450	0.750
0.450	0.750	0.500	0.400	1.150	0.700	0.850	0.600	0.400	1.950	1.900	0.950
0.600	0.950	0.750	0.550	0.950	0.750	1.100	0.700	0.500	2.050	1.700	1.100
0.550	0.900	0.750	0.500	0.600	0.950	1.600	1.450	1.150	2.250	1.900	0.900
0.700	0.800	0.700	0.700	0.500	0.850	1.350	0.650	1.400	2.350	1.300	0.950

Tabla 14. Crecimiento con relación a densidad de alimento *Brachionus patulus* cultivado en 100% alga, 50% alga, 50% levadura, 100% levadura. Los valores de *Asplanchna* son individuos/ml (A, B, C= replicas: 2.5 ind/ml o 50 ind/20 ml de EPA.

Densidad de presa 2.5 ind/ml o 50 ind/20 ml de medio EPA

Día	Alga	E. E.	Alga + Levadura	E. E.	Levadura	E. E.
0.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
1.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
2.00	0.217	0.044	0.133	0.017	0.133	0.017
3.00	0.217	0.044	0.283	0.017	0.200	0.076
4.00	0.300	0.058	0.167	0.017	0.217	0.067
5.00	0.317	0.073	0.317	0.044	0.217	0.017
6.00	0.217	0.017	0.450	0.076	0.217	0.033
7.00	0.317	0.044	0.383	0.060	0.267	0.060
8.00	0.417	0.117	0.433	0.073	0.317	0.073
9.00	0.267	0.060	0.533	0.073	0.383	0.017
10.0	0.150	0.029	0.517	0.060	0.383	0.044

Densidad de presa 5 ind/ml o 100 ind/20 ml de medio EPA

Día	Alga	E. E.	Alga + Levadura	E. E.	Levadura	E. E.
0.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
1.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
2.00	0.317	0.044	0.083	0.017	0.117	0.017
3.00	0.217	0.044	0.400	0.029	0.300	0.076
4.00	0.283	0.136	0.200	0.058	0.300	0.076
5.00	0.367	0.093	0.400	0.076	0.200	0.050
6.00	0.433	0.044	0.567	0.088	0.300	0.087
7.00	0.750	0.100	0.500	0.076	0.433	0.120
8.00	1.067	0.148	1.017	0.101	0.550	0.087
9.00	1.033	0.159	1.267	0.117	0.867	0.044
10.0	0.533	0.083	1.144	0.088	0.850	0.029

Densidad de presa 10 ind/ml o 200 ind/20 ml de medio EPA

Día	Alga	E. E.	Alga + Levadura	E. E.	Levadura	E. E.
0.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
1.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
2.00	0.217	0.044	0.167	0.044	0.117	0.017
3.00	0.617	0.169	0.383	0.073	0.450	0.029
4.00	1.000	0.176	0.250	0.029	0.250	0.076
5.00	0.917	0.067	0.883	0.224	0.417	0.073
6.00	1.017	0.130	0.933	0.240	0.867	0.017
7.00	1.200	0.225	1.033	0.186	0.833	0.060
8.00	1.16722	0.300	1.267	0.348	0.967	0.164
9.00	1.083	0.101	1.367	0.196	0.967	0.148
10.0	0.717	0.130	0.950	0.104	0.533	0.017

Densidad de presa 20 ind/ml o 400 ind/20 ml de medio EPA

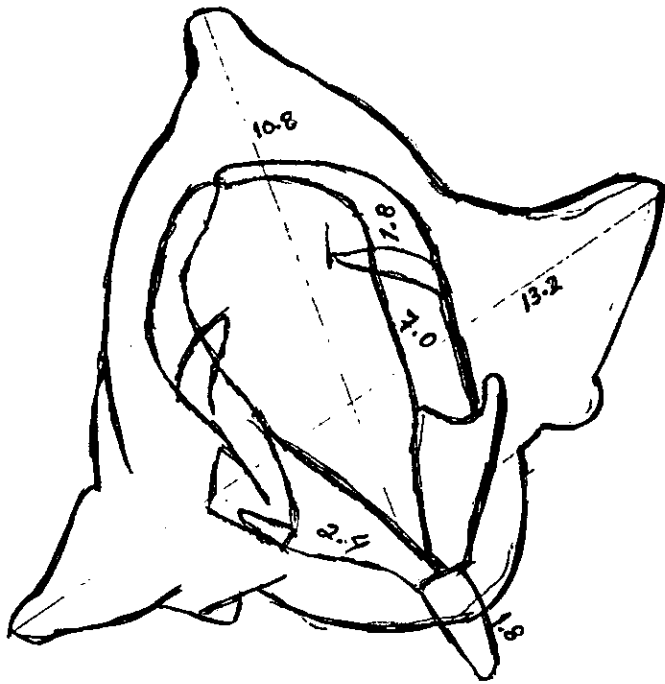
día	Alga	E. E.	Alga + Levadura	E. E.	Levadura	E. E.
0.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
1.00	0.100	0	0.100	0	0.100	0
2.00	0.617	0.169	0.117	0.017	0.133	0.017
3.00	0.383	0.044	0.450	0.058	0.333	0.044
4.00	0.667	0.093	0.383	0.088	0.333	0.044
5.00	0.867	0.117	0.700	0.173	0.733	0.209
6.00	1.017	0.109	0.967	0.319	1.033	0.209
7.00	1.250	0.340	0.817	0.060	1.083	0.060
8.00	2.100	0.176	1.600	0.318	1.400	0.058
9.00	2.400	0.189	3.033	0.260	2.300	0.409
10.0	1.233	0.318	2.250	0.289	2.250	0.029

Tabla 15. Crecimiento con relación a densidad de alimento *Brachionus patulus* cultivado en 100 % alga, 50% alga-50% levadura, 100% levadura. Los valores de *Asplanchna* son individuos/ml (A, B, C= replicas: 2.5 ind/ml=50 presas/20 ml de medio EPA*, 5 ind/ml=100 presas/20 ml*, 10 ind/ml=200 presas/20 ml*, 20 ind/ml=400 presas/ 20ml*

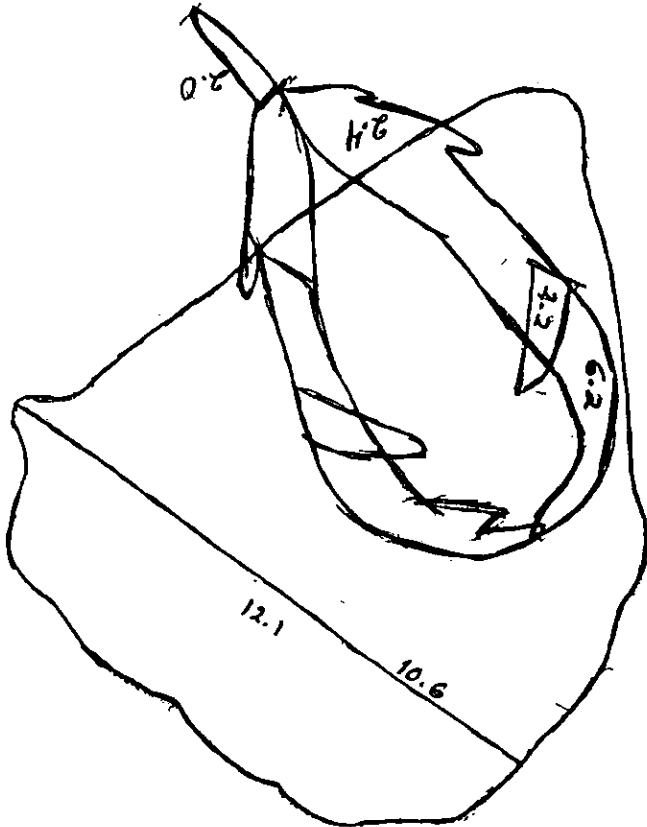
	Alga A50	AlgaB 50	AlgaC 50	AlgaA 100	AlgaB 100	AlgaC 100	AlgaA 200	AlgaB 200	AlgaC 200	AlgaA 400	AlgaB 400	AlgaC 400
0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.15	0.1	0.15	0.1	0.1	0.1
1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.15	0.1	0.15	0.3	0.1	0.1	0.1
2	0.3	0.15	0.2	0.4	0.25	0.3	0.2	0.15	0.3	0.5	0.95	0.4
3	0.3	0.15	0.2	0.2	0.15	0.3	0.5	0.95	0.4	0.4	0.45	0.3
4	0.3	0.4	0.2	0.1	0.2	0.55	1.2	0.65	0.85	0.85	0.6	0.55
5	0.3	0.45	0.2	0.25	0.3	0.55	1.05	0.85	0.9	0.9	0.65	1.05
6	0.2	0.25	0.2	0.35	0.45	0.5	1	0.8	1.15	1.15	0.8	1.1
7	0.25	0.3	0.4	1.25	1.05	1.35	0.75	1.4	1.75	1.75	0.6	1.4
8	0.65	0.3	0.3	1	1.35	1.4	1	1.75	2.25	2.25	1.75	2.3
9	0.15	0.3	0.35	1.05	1.3	0.75	0.9	1.25	1.1	2.5	2.75	2.1
10	0.1	0.2	0.15	0.45	0.7	0.45	0.5	0.95	0.7	1.6	1.5	0.6

	A+LA 50	A+LB 50	A+LC 50	A+LA 100	A+LB 100	A+LC 100	A+LA 200	A+LB 200	A+LC 200	A+LA 400	A+LB 400	A+LC 400
0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
2	0.15	0.15	0.1	0.1	0.05	0.1	0.25	0.1	0.15	0.15	0.1	0.1
3	0.25	0.3	0.3	0.4	0.45	0.35	0.25	0.4	0.5	0.35	0.45	0.55
4	0.15	0.15	0.2	0.2	0.3	0.1	0.3	0.2	0.25	0.55	0.25	0.35
5	0.3	0.4	0.25	0.45	0.5	0.25	1.2	1	0.45	1	0.4	0.7
6	0.35	0.6	0.4	0.7	0.6	0.4	1.4	0.8	0.6	1.55	0.45	0.9
7	0.3	0.5	0.35	0.45	0.65	0.4	1.4	0.9	0.8	0.85	0.9	0.7
8	0.45	0.55	0.3	1.2	0.85	1	1.9	1.2	0.9	1.05	2.15	1.6
9	0.55	0.65	0.4	1.45	1.3	1.05	1.75	1.25	1.1	2.6	3.5	3
10	0.55	0.6	0.4	1.3	1.1	1	1	1.1	0.75	1.75	2.75	2.25

	Lev A50	Lev B50	Lev C50	Lev A100	Lev B100	Lev C100	Lev A200	Lev B200	Lev C200	Lev A400	Lev B400	Lev C400
0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
2	0.15	0.15	0.1	0.1	0.1	0.15	0.15	0.1	0.1	0.15	0.15	0.1
3	0.35	0.15	0.1	0.2	0.45	0.25	0.4	0.5	0.45	0.4	0.35	0.25
4	0.35	0.15	0.15	0.2	0.45	0.25	0.4	0.15	0.2	0.4	0.35	0.25
5	0.2	0.2	0.25	0.15	0.4	0.15	0.55	0.3	0.4	0.5	0.55	1.15
6	0.15	0.25	0.3	0.15	0.55	0.3	0.4	0.5	0.85	0.85	0.8	1.45
7	0.15	0.35	0.3	0.2	0.9	0.85	0.85	0.85	0.8	1.05	1	1.2
8	0.2	0.45	0.35	0.55	0.4	0.7	0.65	1.05	1.2	1.4	1.5	1.3
9	0.4	0.4	0.4	0.95	0.8	0.85	0.75	1.25	0.9	1.75	3.1	2.05
10	0.3	0.45	0.4	0.85	0.8	0.9	0.55	0.5	0.55	2.2	2.25	2.3



Asplanchna sieboldi



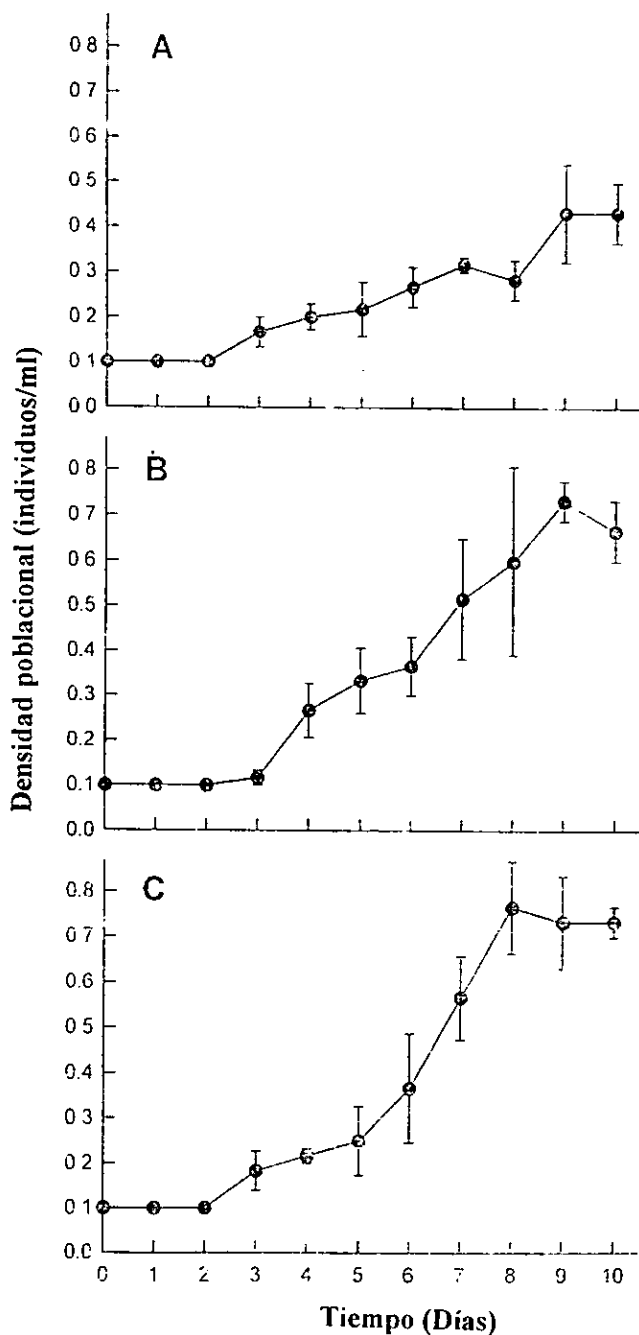


Fig. 9. Crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus calyciflorus* alimentado con tres dietas (alga, levadura, mezcla) como presa a una densidad de 2.5=individuos/ml ó 50 individuos/20 ml

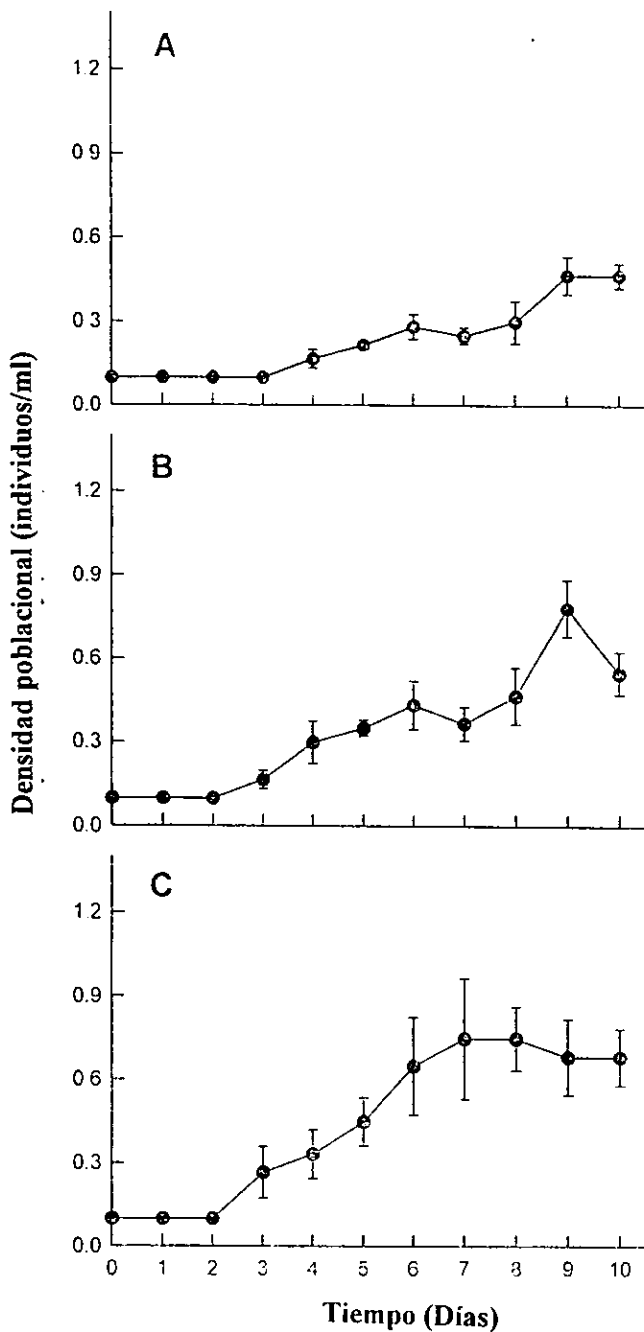


Fig 9a. Crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus calyciflorus* alimentado con tres dietas (alga, levadura, mezcla) como presa a una densidad de 5=individuos/ml ó 100 individuos/20 ml

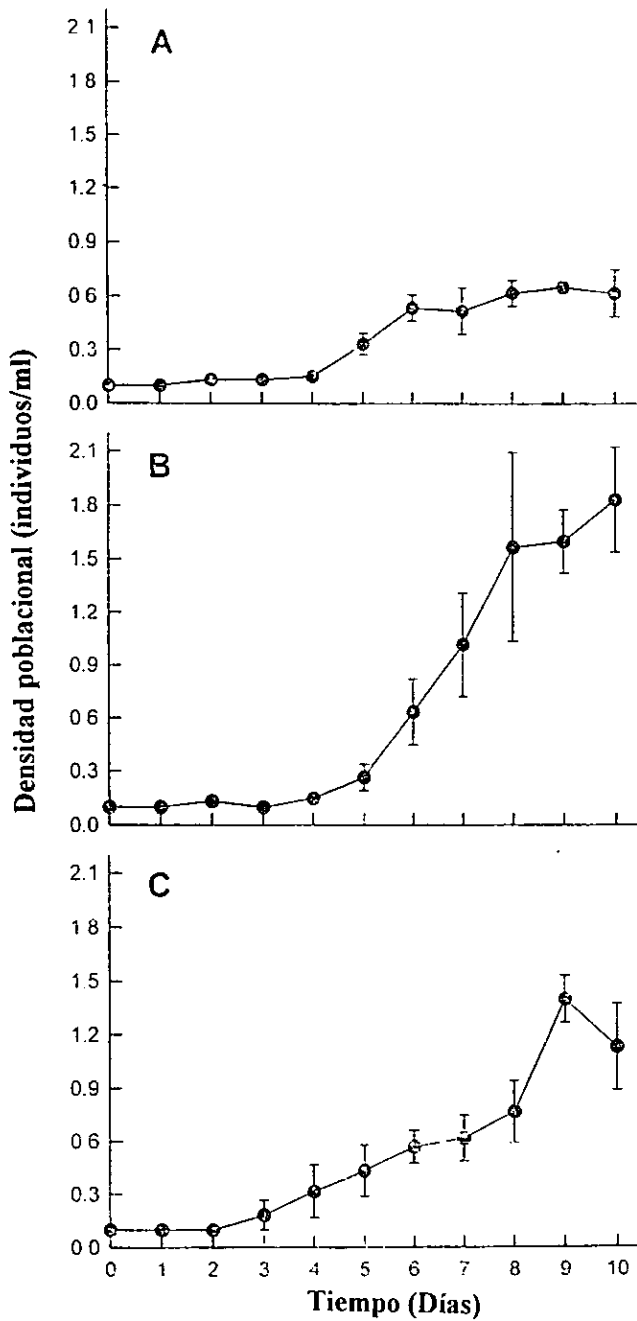


Fig. 9b Crecimiento de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus calyciflorus* como presa a una densidad de 10=individuos/ml

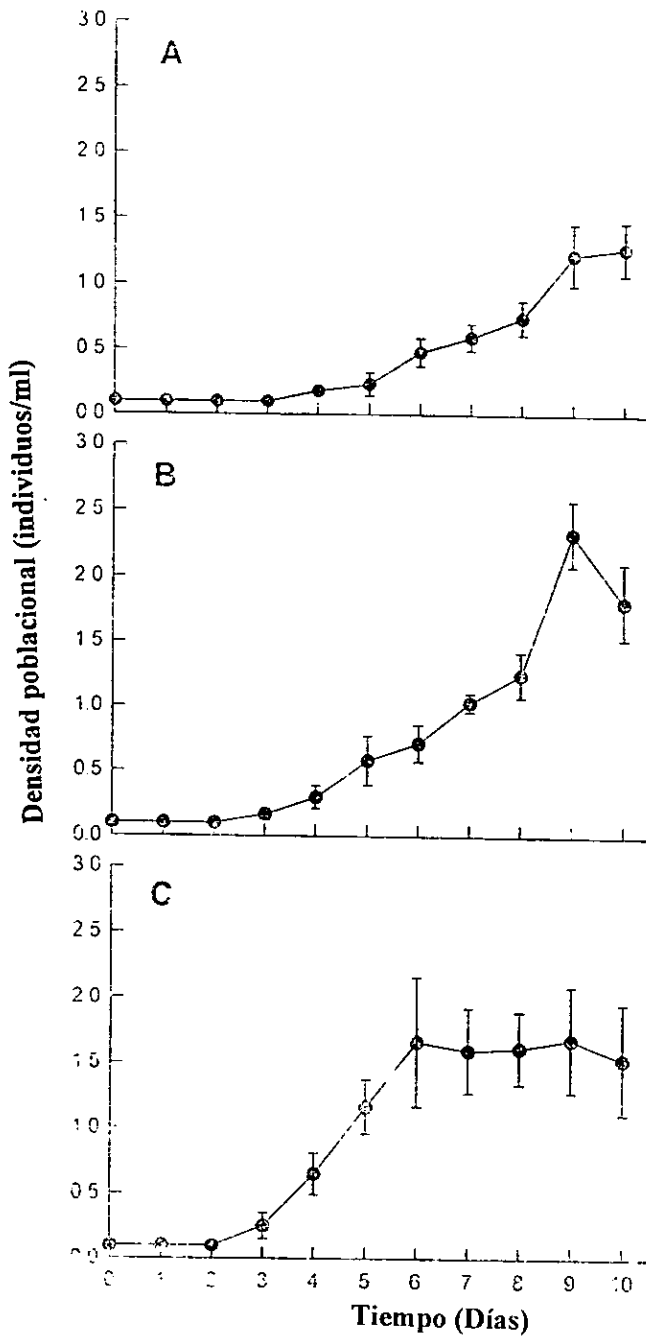


Fig. 9c. Crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus calyciflorus* como presa a una densidad de 20 individuos/ml

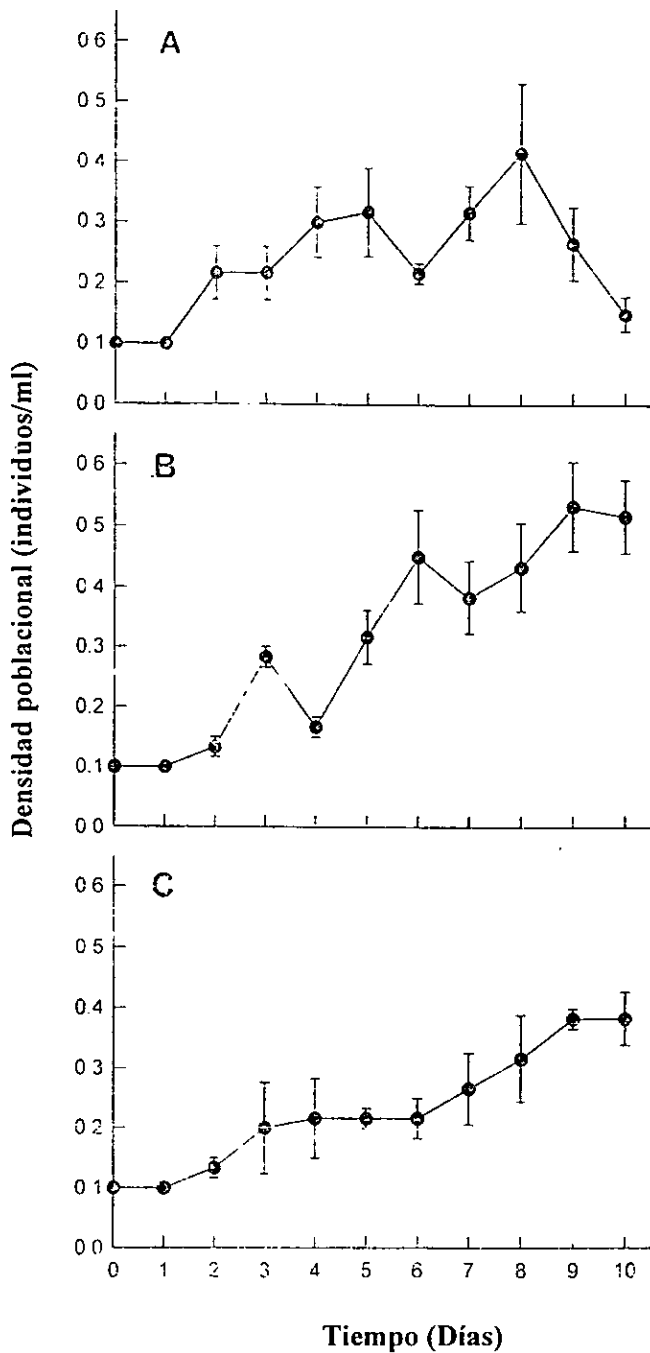


Fig. 10 Crecimiento de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus patulus* como presa a una densidad de 2.5=individuos/ml

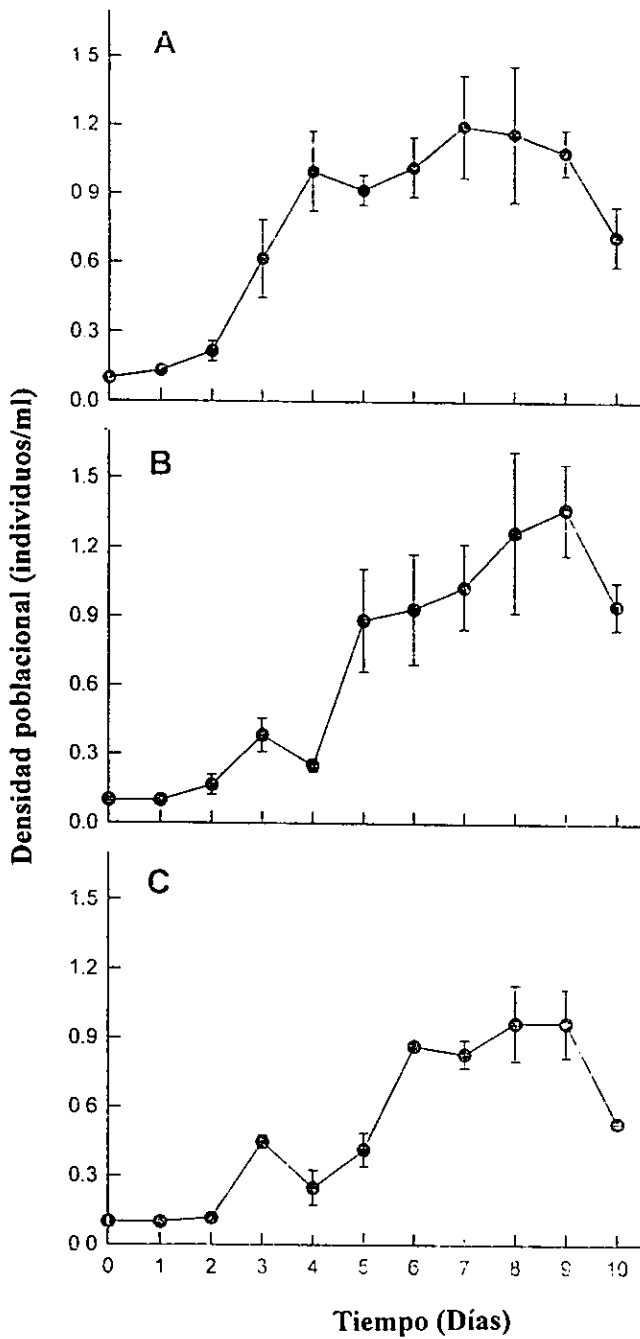


Fig 10b. Crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus patulus* como presa a una densidad de 10=individuos/ml

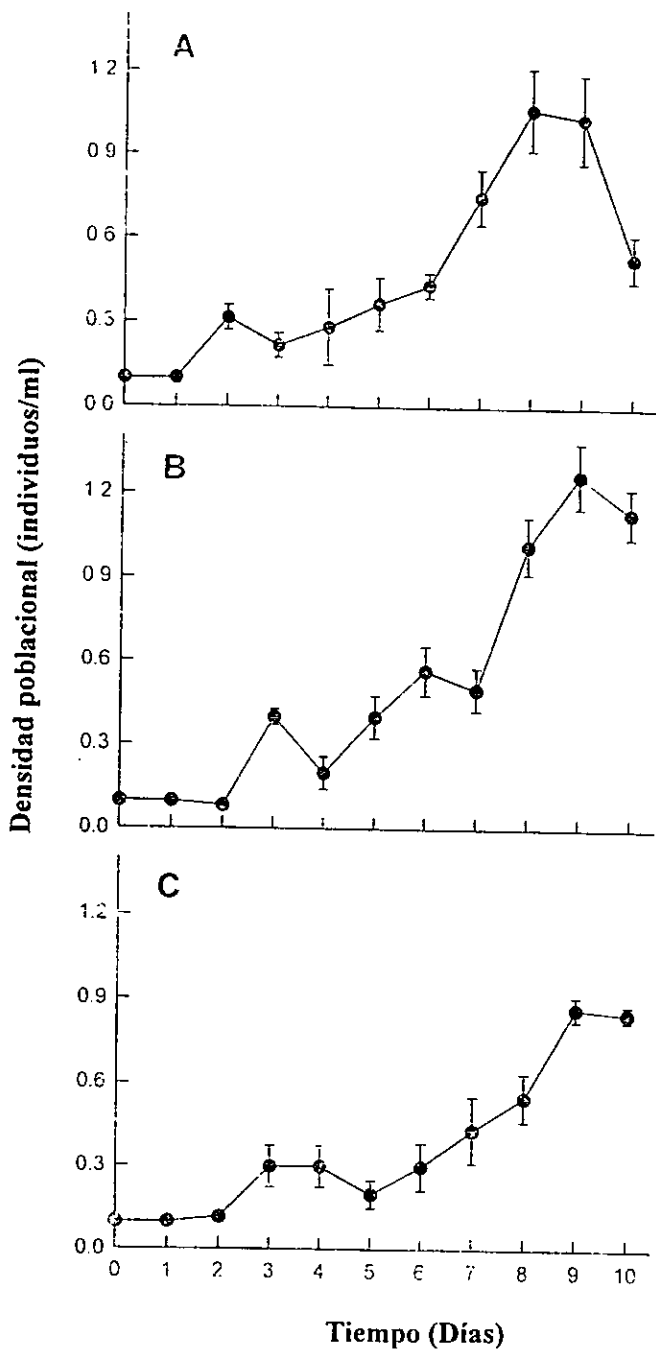


Fig 10a. Crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* en relación a *Brachionus patulus* como presa a una densidad de 5=individuos/ml

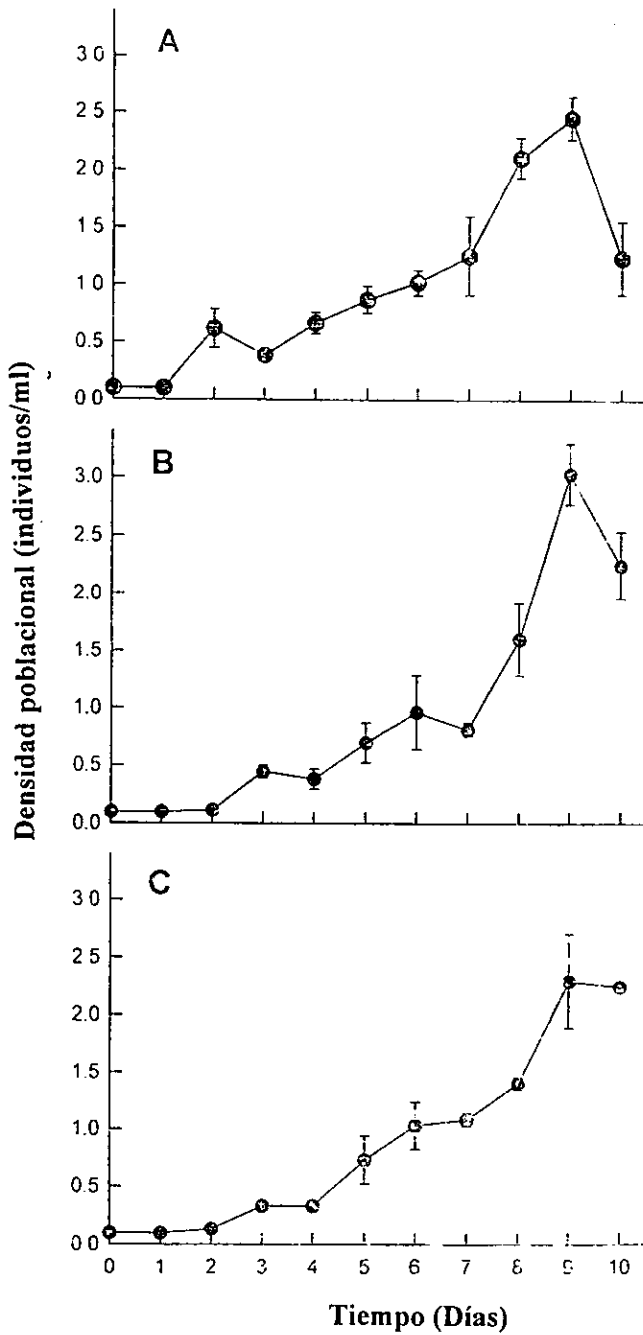


Fig 10c. Crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldi* a *Brachionus patulus* como presa a una densidad de 20=individuos/ml

2.7 Referencias

- Arévalo-Stevenson, R. A., S. S. S. Sarma. 1998. Population dynamics of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera: Brachionidae) in waste water from food-processing industry in México. Rev. Biol. Trop., 43 (6):595-600. 1998.
- Conde-Porcuna J. M. & S. S. S. Sarma. 1995. Prey selection by *Asplanchna girodi* (Rotifera): the importance of prey defence mechanism. Freshwater Biology 33, 341-348. Belgium.
- Duncan, A., 1989. Food limitation and body size in the life cycles of planktonic rotifers and cladocerans. Hydrobiology 186-187: 11-28.
- Guiset, A. 1977. Stomach contents in *Asplanchna* and *Ploesoma*. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 126-129.
- Iyer, N. and T. R. Rao. 1996. Responses of the predatory rotifer *Asplanchna intermedia* to prey species differing in vulnerability: Laboratory and field studies. Freshwater Biol. 36:521-533.
- Kutikova, L. A. and C.H. Fernando. 1995. *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotatoria) in inland waters of tropical latitudes. Int. Rev. ges. Hydrobiology 80:429-441.
- Maly, E., 1975. Interaction among the predatory rotifer *Asplanchna* and two prey, *Paramecium* and *Euglena*. Ecology 56: 346-358.
- Margalef, R. 1983. Limnología. Barcelona. Omega.
- Sarma, S. S. S. 1996. Rotifer mass culture systems. Chapter 3. In: International Workshop on rotifer Culture Systems. Laboratory Manual. UNAM Campus Iztacala, México, pp. 335-343.
- Sarma, S. S. S. 1993. Feeding responses of *Asplanchna brightwelli* (Rotifera): laboratory and field studies. Hydrobiol. 255/256:275-182. Belgium.
- Sarma, S. S. S., N. Iyer & H. J. Dumont. 1996. Competitive interactions between herbivorous: importance of food concentration and initial population density Hydrobiol. 331:1-7. Belgium.
- Sarma, S. S. S., N. Iyer & H. J. Dumont. 1998. Feeding preference and population growth of *Asplanchna brightwelli* (Rotifera) offered two non evasive prey rotifers Bull. Environ. Contam. Toxicol. 61:135.142. New york.
- Sarma, S. S. S. 1998. Nutritional quality of prey (*Brachionus calyciflorus*) affects the population grow of predatory rotifers (*Asplanchna sieboldi*) (Rotifera). Hydrobiol. 8.
- Wallace, R. & T. Snell. 1991. Rotifera 8. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. New York.

Capítulo 3

Análisis de proteínas y carbohidratos totales de los rotíferos: *Brachionus patulus* y *Brachionus calyciflorus*

3.1 Introducción

Se determinó la relación entre la concentración del alimento, la densidad poblacional y el estado nutritivo de los cultivos de braquiúridos alimentados solo con alga verde *Chlorella vulgaris*.

Los estudios realizados para el cultivo de los rotíferos están relacionados con la calidad, densidad, tipo de alimento y las condiciones ambientales (Halbach; 1979). La composición química de los rotíferos como *B. calyciflorus*, *Keratella tropica*, *Asplanchna brightwelli*, *B. rubens* y *B. plicatilis* puede determinarse por la mínima concentración de alimento requerida para cada especie (Pilarska, 1977; Lubzens, 1987; Guisande, 1989).

La composición de los rotíferos alimentados con dietas tradicionales muestra una alternativa para producir cultivos nutritivos que sirvan para la crianza de larvas de consumidores terciarios, en proporciones adecuadas a sus requerimientos metabólicos. Los rotíferos son organismos ideales para este tipo de trabajos por ser eutélicos, es decir con un número celular bajo, vida corta, reproducción partenogenética. Puede obtenerse un alto número de individuos isogénicos en cultivo para propósitos experimentales.

En estos organismos el volumen del huevo representa hasta el 60% del correspondiente al cuerpo del adulto, lo que explica la brevedad del crecimiento individual. Una vez asimilada la materia orgánica consumida, se empleará en la producción gonadal. La producción de braquiúridos resulta de un balance energético que sirve para estimar la eficacia de la transferencia del alimento consumido para satisfacer diferentes rendimientos.

Un incremento en el contenido de proteínas en braquiúridos ocurre cuando la concentración en alimento $\mu\text{g}/\text{ml}$. También aumenta. Los carbohidratos son la forma principal de reserva en los rotíferos. En *Brachionus calyciflorus* las hembras sin huevo tienen un 8% de la biomasa total de carbohidratos y en hembras con huevo un 15% de carbohidratos. Los lípidos tienen solo una función estructural. La relación entre el volumen corporal y el contenido proteico es dado por la concentración de alimento. La proteína de los rotíferos alimentados con el alga *Chlorella* es similar al contenido de los aminoácidos Arginina, Cisteína, Isoleucina y Leucina en la proteína de la misma.

El contenido de lípidos de los rotíferos es de 24.3 a 25.2%. Para el peso seco Minkoff (1987) fundamenta que los braquiúridos criados en levadura de pan solo incrementan su peso seco en un 12-25 %, siendo prolongado por 48 horas si se enriquece con alga. Los individuos por el contrario pierden un 30% de su peso corporal después de un período de hambre de 24 horas a 20 °C.

Scott y Baynes (1979) estiman que durante períodos de altas tasas de crecimiento y generoso suministro de alimento, el peso seco de los braquiúridos puede incrementarse hasta 620 ng/individuo. Sin embargo, Yúfera & Pascual, 1984, Minkoff, 1987; Kimball, 1984, Tnadler and Mason, 1984; Doohan, 1973. han demostrado que a 24 o 26°C y en

ausencia de alimento los rotíferos pierden diariamente un 18-26% de su peso corporal. La rápida pérdida de material orgánico de los rotíferos desprovistos de alimento es percibido como uno de los principales factores que causan un pobre crecimiento y alta mortalidad de los cultivos de larvas de peces.

3.2 Objetivo: Determinar la cantidad total de proteína y carbohidratos de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* alimentados solo con alga *Chlorella vulgaris*.

3.3 Material y Método

Los rotíferos se cultivaron en 2 peceras de vidrio de 20 lts de capacidad a temperatura ambiente, aireación constante, luz durante las 24 horas, con exposición de 3 lámparas tubulares de luz artificial Philips de 75 watts a una distancia de 60 cm. La alimentación fue suministrada diariamente a una densidad de 1×10^6 células ml^{-1} de alga verde *Chlorella vulgaris* mantenida en refrigeración.

Se tomaron 3 alicuotas de 500 ml de cada una de las peceras, para la realización del estudio bromatológico de la cantidad total de proteínas y carbohidratos. El alimento sobrante se aisló por centrifugación a 500 rpm durante 10 minutos, posteriormente se filtró con una malla de nylon de 50μ se lavó con agua destilada.

Para iniciar el análisis experimental se pesaron tres frascos vacíos de 20 ml de capacidad y sin tapa en una balanza analítica, luego se adicionó una muestra de 10 ml de rotíferos para los 3 frascos y se tomó el peso. Se obtuvo un concentrado de rotíferos en 10 ml de agua destilada, se mantuvo la muestra por 8 horas en una estufa a 100°C de temperatura para la obtención de las cenizas de los rotíferos. Las cenizas se resuspenden en 5 ml de agua para obtener nuestro stock de muestra para la cuantificación de proteínas y carbohidratos. El procedimiento para la cuantificación total de proteína se realizó con relación a la densidad poblacional del día de la cosecha (68.4 individuos/ml para *Brachionus calyciflorus* y 57.4 individuos/ml para *B. patulus*) por la técnica de Bradford (Apéndice 3), se tomó la lectura para el valor de la cantidad de proteína por el espectrofotómetro a 595 nm y para la cantidad de carbohidratos la lectura se tomo a 490 nm (Apéndice 4).

Otra evaluación de la cantidad total de proteínas y carbohidratos que aportan los rotíferos como alimento para consumidores terciarios como peces o crustáceos, se determinó con las métodos de Bradford (Apéndice 3) para proteínas y de fenoles totales para carbohidratos (Maxwell et al 1978), Apéndice 4. Con el suministro de *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* como alimento para *Asplanchna sieboldi*.

3.4-3.5 Resultados-Discusión

El principal componente de la biomasa de los rotíferos es la proteína que constituye del 50% al 60% del peso seco (Guisande, 1989). El valor obtenido para proteínas totales en *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* se estimó con la lectura en el espectrofotómetro a 595 nm el promedio fue 0.045, por el método de mínimos cuadrados se determinó que la cantidad total de proteína es de 0.8783 $\mu\text{g/ml}$ por muestra (Tabla 15).

Tabla 16. Análisis de la cantidad total de proteínas y carbohidratos en rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* alimentados con alga *Chlorella vulgaris*.

Espece	Peso Individuo	Cantidad de proteínas	Cantidad de Carbohidratos
<i>Brachionus calyciflorus</i>	1.87 µg	6.55 µg x cada 10 individuos	3.9 µg x cada 10 individuos
<i>Brachionus patulus</i>	1.95 µg	6.05 µg cada 10 individuos	4.4 µg x cada 10 individuos

Esta cantidad de proteína varía, si se realiza la cuantificación en un día distinto del crecimiento del cultivo, debido al método de continuo crecimiento se empleo (densidad de alimento, cambio del medio periódicamente, agitación, temperatura ambiente). En términos del contenido total de carbohidratos obtenidos para *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* con una lectura en el espectrofotómetro a 490 nm. el promedio es 4.65 µg/ind (Tabla 15).

El volumen utilizado de agua + rotífero fue de 10 ml., el peso seco de rotíferos obtenido es de 13.4761g, el peso del agua + rotíferos fue de 15.62g, el peso del agua se estimó en 15.6166 g/ml. Se tenía una densidad de rotíferos en promedio de 4.4×10^3 g, lo cual equivale a 2,250 organismos concentrados en una muestra de 10 ml, entonces, tenemos que cada rotífero pesa en promedio 1.95×10^6 µg.

3.6 CONCLUSIONES

Un análisis bromatológico completo requiere que los resultados sean muy claros, es decir, deben de quitarse todos los restos de alimento ofrecido a los rotíferos, de otra manera los resultados serían muy parecidos a la información del contenido proteico de la dieta asignada. La variación en el contenido de proteínas y carbohidratos en braquiúridos, ocurre cuando la densidad y el tipo de alimento también se varían, porque al hacerse el análisis de rotíferos mantenidos sin alimento o en refrigeración (alimentados con alga, levadura y una mezcla) se encontró que la cantidad de proteínas o carbohidratos los únicos que se estudiaron en el presente capítulo. La variación del alimento no es adecuada, por lo cual se recomienda no cambiar la densidad asignada durante el tiempo que se desarrolle el cultivo.

La evaluación de la calidad nutricional relativa de los rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* mediante métodos químicos de mayor sensibilidad nos evita emplear grandes poblaciones de individuos en un solo análisis.

RECOMENDACIONES

- ◆ Es importante realizar el análisis nutricional durante los días en que la población se encuentra en su fase exponencial (mayor número de individuos) de crecimiento para obtener mayor cantidad de rotíferos nutritivos. Es necesario cuidar que el cultivo se encuentre en óptimas condiciones sanitarias (cambio del medio periódicamente, contaminación, temperatura, agitación, tipo de alimento, pH, densidad, aumento de la presencia de machos).
- La cantidad de proteína contenida en las presas incrementa con el aumento de la densidad del alimento proporcionado. Las densidades de alimento empleado muestran que la concentración y tipo de alimento (alga), es óptimo para el crecimiento poblacional, aprovechamiento energético y sin exceso que obstruya la digestión de presas por *Asplanchna*
- Para el caso particular de la levadura se recomienda como alimento sólo a una densidad de 1×10^6 y en 3×10^6 células/ml, monitoreando diariamente los parámetros de cultivo a fin de mantener en condiciones de sanidad a los individuos, de otra manera no se garantiza un crecimiento poblacional adecuado para el consumo de los *Asplanchna* o de

cualquier otro depredador, ya que la baja densidad poblacional podría resultar tóxica debido al exceso de materia orgánica en descomposición, bacterias, entre otros.

3.7 Referencias

- Bier, M., 1967. Electrophoresis: Theory, Methods and Application, Nueva York. Academic Press, Vol. 11958, Vol.2
- Carmona M. J. Serra M. and Miracle R. 1989. Protein patterns in rotifers: the timing of aging. Hydrobiology 186/187: 325-330.
- Castor G. and Serrano L. 1989. Analysis of protein, carbohydrate and lipid in rotifers. Hydrobiology 186/187: 339-346.
- Galkooskaya. Relative protein metabolism in rotifer *B. calyciflorus* Pallas in relation to temperature Int. Rev. Hydrobiol. 72:59-69.
- Guisande C. & Serrano, L. 1989. Analysis of protein, CHO and lipid in rotifers. Hydrobiol. 186-187: 339-346. Spain.
- Hoffmann W. 1983. Interaction between *Asplanchna* and *Keratella cochlearis*. Hydrobiol. 104: 363-365. Germany.
- Kokova V. Ye. I. N. Trubachev and V. A. Barashkov H. J. 1982. Biochemical composition of certain aquatic invertebrates. Vol. 18, no 4 pp 60-64.
- Lubzens E. 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. Hydrobiol. 147:245-255.
- *Lubzens E., A. Tandler & G.Minkoff. Rotifers as food in aquaculture. Hidrobiol. 186-187: 287-400.
- Plummer D. 1981. Bioquímica práctica. Ed. McGraw Hill. México. 89-93 pp.
- Rezeq T. A. 1987. Production and nutritional quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed *Chlorella* sp. at different cell densities. Hydrobiol. 147:257-261.
- Scott. Effect of algal diet and temperature on the biochemical composition of the rotifers *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 14 : 247-260.
- Stemberger R. S. & J. J. Gilbert 1984. Body size ration level and population growth in *Asplanchna*. Oecologia 64: 355-359.
- Ynguar O. 1989. Kinetics of n-3 fatty acids in *B. plicatilis* and changes in the supply food. Hydrobiol. 186-187: 409-413.
- Ynguar O. Kjell. Inge. R.Vadstein O. 1993. Dependence of temperature on loss rates of rotifers, lipids and w3 fatty acids in starved *B. plicatilis* cultures. Hydrobiol. 255-256: 13-20.
- Yúfera M. & E. Pascual. 1989. Biomass and elemental composition (C.H.N) of the rotifer *Brachionus plicatilis* cultured as larval food. Hydrobiol. 186-187: 371-374.

Apéndice 1

Producción de microalga *Chlorella vulgaris* en laboratorio

1.1 Introducción

La producción de microalgas constituye en la acuicultura el inicio del flujo energético en las cadenas alimenticias acuáticas. Las algas se han proporcionado como alimento vivo en cultivos experimentales y comerciales de diversos organismos acuáticos (Mazón et al., 1980; Umebayashi, 1985).

Las condiciones para desarrollar un cultivo cerrado, donde los nutrientes para las algas son limitados, determinan que el crecimiento de éstas pueda presentar diferentes fases (Fernández, 1996) Apéndice 2. Para lograr un crecimiento microalgal activo es necesario: un inóculo viable de tamaño mínimo, suministro de nutrientes y microelementos, adecuadas condiciones fisicoquímicas (temperatura, pH, luz, salinidad, agitación, fotoperíodo, intensidad de luz) Abalde, 1995.

En el momento de iniciar un cultivo de microalgas se considerará la concentración óptima del inóculo que determinará el desarrollo del cultivo: las concentraciones pobres pueden perderse por fotooxidación que se debe a las altas intensidades de luz que provocan la muerte celular, en tanto si la concentración es excesiva se producen pérdidas por respiración o un ineficiente aprovechamiento de la energía luminosa, debido al ensombrecimiento algal. Si el inóculo es muy grande no es compensable económicamente.

La densidad de las microalgas tiene un efecto muy importante en el crecimiento de los rotíferos (Ver capítulo 1), existe para cada especie de alga una mínima densidad para obtener el máximo rendimiento. Awais (1992) señala que aunque se sobrepasen las densidades estándar esto no afecta al rotífero. Lo interesante es que a altas densidades de microalgas se puede inducir la inhibición del crecimiento (Hiramaya, 1979; Yúfera, 1983) así como variaciones en el pH y concentración de CO₂ que afectan la vida del rotífero.

El crecimiento de cultivos algales se expresa como el incremento de biomasa: número de células, peso seco, cantidad de proteína, pigmentos, volumen celular y/o carbón celular total, sobre un período de tiempo de crecimiento. Los métodos de recuento al microscopio y la densidad óptica son los más usados, debe considerarse la facilidad de manipulación, precisión y límite de detección (Wintrobe, 1960).

La contaminación de los cultivos axénicos es por medio de agentes bacterianos, otras formas algales, zooplancton, virus, hongos, ciliados e insectos (Pourriot, 1980).

Las células viables de la cepa algal inoculadas en recipientes de plástico con medio fresco, nutrientes, luz, temperatura y agitación constantes, inicia la fase de crecimiento exponencial en la que la multiplicación celular es rápida y la población se incrementa en progresión aritmética. Si el alga es de buena calidad y se adapta en poco tiempo a su nuevo medio e inicia el crecimiento al ser sembrada (Apéndice 2). Entonces en la mayoría de las microalgas la constante de crecimiento (r) muestra algunas de las interacciones entre la intensidad luminosa y la tasa de fotosíntesis; ésta se incrementa de manera proporcional al

aumentar la intensidad luminosa y la temperatura; pero, si los valores de saturación son alcanzados decae (Richmond, 1986).

1.2 Objetivo General

Evaluar el crecimiento poblacional de la microalga *Chlorella vulgaris* bajo condiciones de laboratorio.

1.21 Objetivo particular

Determinar si la producción de alga *Chlorella vulgaris* es eficiente para usarse como alimento de los rotíferos: *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus*.

1.3 Material y Método

El alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck; 1890, presenta un crecimiento poblacional constante, un tamaño pequeño, habita el mismo medio que el rotífero: *Brachionus calyciflorus* crece en buenas condiciones hasta los 36°C (Laing y Ayala, 1990).

A partir de una cepa pura de *C. vulgaris* aislada en la Unidad de Morfofisiología de la ENEP Iztacala, se tomó una alícuota y se procedió a su cultivo masivo en 8 recipientes de plástico con una capacidad de 2000 ml previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio, Posteriormente se les adicionó un volúmen de 1800 ml de medio nutritivo BOLD (APHA, 1980) para conocer la densidad poblacional máxima del alga y el tiempo necesario para alcanzarla, se mantuvo con aireación constante y luz durante las horas, utilizando 3 lámparas tubulares de luz fluorescentes Philips de 75 watts, el volúmen de líquido de los recipientes se mantuvo, reponiendo la pérdida por evaporación con agua destilada enriquecida con bicarbonato de sodio a una proporción de 1 gramo por litro.

El agua utilizada para el cultivo se filtró con una malla de nylon de 20 μ los 10 nutrientes fueron mezclados, se adicionó una alícuota de 10 ml por cada nutriente, además de 100 ml de alga directamente al garrafón de 40 lts con el fin de que en todos los recipientes de cultivo quedaran (volúmen total=1800 ml) iguales proporciones de nutrientes y de alga.

El alga tuvo un crecimiento de tipo exponencial (Fig. 1), durante los días 2, 3 y 4 después del inoculó, el tiempo para la cosecha fue de un período máximo de 10 días de cultivo, aunque se puede cosechar en un lapso de tiempo menor (durante los primeros 3 ó 4 días de cultivo, fase exponencial, ver apéndice 2), para evitar la contaminación del cultivo.

Para estimar el crecimiento de las microalgas se realizó el conteo directo bajo un microscopio óptico marca Nikon una vez al día, utilizando un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad recomendado para contar algas pequeñas de 2 a 30 μ el tipo más usado es el de Neubauer de dos cámaras. El conteo se realizó con una cámara de Neubauer (Umabayashi, 1973) a intervalos de 24 horas hasta que se observó una disminución considerable en el número de células sin que la población pudiera recuperarse, se adiciono una gota de cada uno de los recipientes en cultivo con tres réplicas, por espacio de 10 días consecutivos de experimentación. También se utilizó una pipeta de 5 ml y una pipeta Pasteur con bulbo.

La densidad inicial de *Chlorella vulgaris* sembrada en cada recipiente fue de 1.25×10^6 células ml^{-1} . Se calculó el promedio y la desviación estándar (ANOVA), de la producción diaria del alga para determinar la curva de crecimiento que expresa la densidad poblacional máxima de algas en un lapso de 10 días de cultivo.

1.4 RESULTADOS

El crecimiento del inóculo algal no es significativo, a partir del primer día y hasta el octavo, el cultivo creció de manera exponencial. Después del día 8 no se registró crecimiento poblacional. La máxima densidad encontrada en este estudio fue de $8.4 \pm 1.8 \times 10^6$ células/ml. Durante los 8 días que se mantuvo el crecimiento, la densidad de *Chlorella vulgaris* se incrementó 7 veces (Fig. 1).

La tasa de crecimiento poblacional por día (r) de *Chlorella vulgaris* es 0.27 ± 0.03 (Promedio y \pm error estándar.).

1.5 Discusión

Se observa que el cultivo de alga verde *C. vulgaris* es regulado por los parámetros ambientales de experimentación realizados en recipientes de 2 lts de capacidad que se mantenían para la alimentación de los braquiúridos, anteriores al ensayo experimental final, donde se muestra que si no se proporcionaban los nutrientes en la concentración adecuada, con un inóculo óptimo, con agitación, con una fuente de luz constante y un monitoreo diario, estos repercuten sobre la productividad del sistema de cultivo que a su vez determina la calidad del material algal cosechado, como fuente de aportación de proteínas y carbohidratos como alimento en la acuicultura. Al agregar agua con bicarbonato de sodio se recupera el volumen perdido y debe cuidarse que no se exceda, porque puede provocar espuma y una contaminación para el cultivo algal lo que puede ser encontrado también en Vega Q. 1996.

Los resultados encontrados (Fig. 1) para el crecimiento poblacional del alga son similares a los reportados por Arévalo, 1998.

Una suficiente agitación del medio de cultivo asegura una distribución homogénea de las células y los nutrientes, mejorando la distribución de la luz a las células para que permanezcan fotosintéticamente activas, evita que se sedimenten las células.

Las células algales son generalmente cultivadas de varias formas: 1) el crecimiento en cultivo continuo donde las células son constantemente removidas y reemplazadas con medio fresco. 2) el crecimiento en cultivo masivo en donde el medio es inoculado con células algales y se cosecha toda la biomasa algal de una sola vez y con una cierta cantidad de células reproducidas. Mientras el cultivo continuo es a menudo complejo, el cultivo masivo presenta fases de crecimiento simples y fáciles de monitorear. Las fases del cultivo masivo se describen en el apéndice 1.

1.6. Conclusiones

En este trabajo el cultivo algal se mantuvo bajo condiciones de aireación o agitación (para resuspender las células algales), fotoperíodo, temperatura constantes, nutrientes, filtración del agua para los cultivos con mallas de 20 μ para remover partículas orgánicas grandes y ciliados, además se adiciona agua con Na_2HCO_3 sin exceder el volumen del recipiente. El crecimiento poblacional del alga incrementó 7 veces la densidad poblacional inicial.

La cosecha fue mayor en la fase exponencial (Fig. 1); las células obtenidas se dividen constantemente, por lo que pueden emplearse como inóculo para iniciar otros cultivos que produzcan células con una calidad nutricional adecuada a los requerimientos poblacionales de los consumidores secundarios. Klaak (1978) reporta que la fase exponencial (citado en De Paw, 1984) es donde las células contienen una mayor proporción de proteína que las células que se desarrollan durante otras etapas de crecimiento y la fase estacionaria tiene una baja proporción de carbohidratos.

Al encontrar los valores próximos a la saturación de la cepa puede incrementarse la velocidad de crecimiento y el número de divisiones celulares (Vega, 1996).

Recomendaciones

- Para la obtención de la biomasa microalgal es necesario concentrar las células algales, una vez diluido el medio algal puede adicionarse en pequeñas concentraciones como inóculo inicial de un nuevo medio de cultivo o a los contenedores de crianza de zooplacnton.
- El alga sobrante puede conservarse en refrigeración por algunas semanas.
- Es mejor el uso para la alimentación de organismos e inoculación de nuevos cultivos las células algales que se desarrollan durante la fase exponencial porque se dividen más rápidamente.
- Para obtener resultados confiables es preciso aplicar observaciones microscópicas simultaneas cualitativas para evitar la contaminación de los cultivos.
- Es necesario evaluar el tipo y calidad del alga antes de iniciar la inoculación.
- El monitoreo diario y la adición de agua con bicarbonato de sodio para recuperar el volumen de agua que por evaporación se pierde es de vital importancia para el mantenimiento del desarrollo del cultivo
- La agitación o aireación, nutrientes, fuente de luz, inóculo algal proporcional al volumen del recipiente y las condiciones axénicas son parámetros que aseguran un buen crecimiento poblacional.

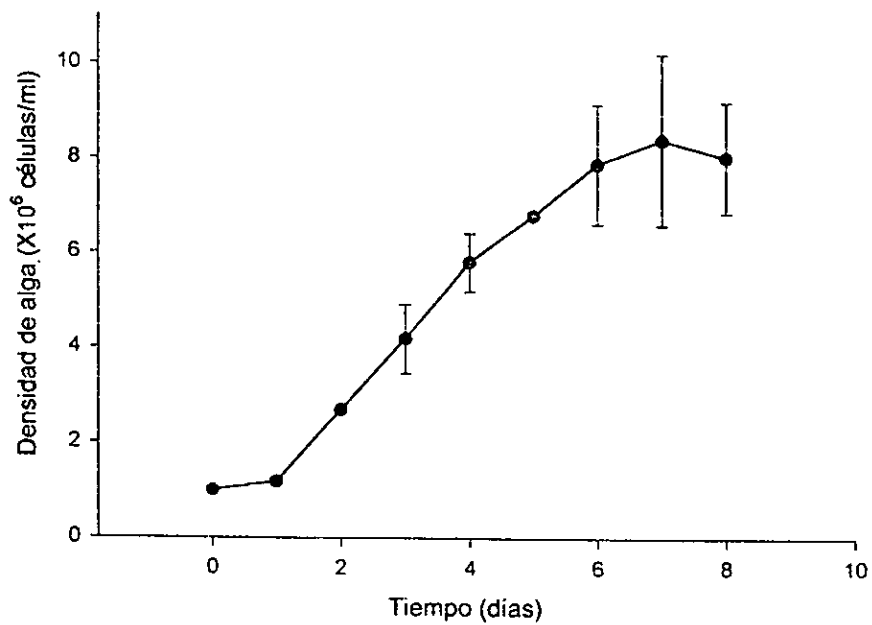


Fig. 1. Crecimiento poblacional de *Chlorella vulgaris*

1.7 Referencias

- Arévalo-S. R. A., S. S. S. Sarma and S. Nandini. 1998. Population dynamics of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera: Brachionidae) in waste water from food-processing in dusty in Mexico. Rev. Biol. Trop., 43(6):595-600.
- Arredondo, B., Cordero, B., Herrero, C., Abalde, J. 1997. Manual de técnicas bioquímicas aplicadas a la ficología. pp. 1 CICESE, CIB. Universidade da Coruña, España.
- Borowitzka, M. A. & L. J. B. 1988. Microalgal biotechnology. Cambridge University. London. 477 p.
- Hamza, N. and J. Robin. 1992. Effects of CO₂ on the lipid composition of the algae, rotifers trophic chain. Proc. 15 th journees Int. Du. Gabin, Intechner 18: 2-185-188.
- Kuhl, A. and H. Lorenzen, 1964. Handling and culturing of *Chlorella*. In: D. M. Prescott (ed.) Methods in cell physiology. Vol. 1. Ac. Press, New York: 159-187.
- Laing, I. 1985. Factors affecting the large scale production of four species of commercially important marine algae. Aquaculture N. 44:161-166.
- Margalef, R. 1983. Limnology. Omega. Barcelona.
- Michel J. P. Buckle L. F., 1989. Técnicas de cultivo de algas. CICESE. Ensenada, B. C. Norte, México.
- Pavón M. E. L. 1993. Desarrollo de una técnica de cultivo para la producción masiva del rotífero *Brachionus calyciflorus* Pallas. Tesis profesional. UNAM. Campus Iztacala. 44 pp.
- Pourriot R. 1990. Rotifers-biology. In Aquaculture Vol. 1 Barnabé, G. (ed.) pp: 113-231. Ellis Horwood. Chichester. England.
- Richmond A. 1986. Microalgae of economic potential in Richmond A. (Ed.) Handbook of microalgal mass culture CRC. Press. Florida 119-235 pp.
- Vega Q. Ma. S. 1996. Caracterización y análisis bromatológico de una cepa monoalgal *Chlorella vulgaris* Beijerick. Colectada de la atmósfera con posible uso en acuicultura. Tesis profesional. UNAM. Campus Iztacala. 68 pp.
- Wetzel, G. R., Limnology. 1975. London. W. B. Saunders. Company.
- W. Fulks, Revan L. M. 1991. Rotifer and Microalgae. Proceddings of a U.S. Asia. Workshop. Honolulu. Hawaii.
- Wintrobe M., B. A., 1960. Clinical Hematology. 8ª ed. Philadelphia. Pág. 7 20

Apéndice 2

Fases del crecimiento poblacional

Para desarrollar los cultivos de microalgas es necesaria una correspondencia con el medio y el estado nutricional (Droop, 1975). Después de inocular las botellas de cultivo, se registra el crecimiento para identificar la etapa de mayor densidad de las algas, la cual indica el momento apropiado para cosecharlas. La duración de cada fase varía dependiendo de diversos factores como: temperatura, tipo de composición química del medio de cultivo, luz, tamaño del inoculo y características propias de las microalgas.

La reproducción es lenta, cuando el crecimiento poblacional neto absorbe nutrientes, entra en fase exponencial donde su reproducción es extremadamente rápida. Posteriormente la población entra a la fase de declinación del crecimiento este es muy lento y por último la fase estacionaria en la cual el crecimiento se detiene, si el cultivo descuidado la muerte celular seguirá.

El crecimiento se expresa en términos de las siguientes fases: 1) Fase de inducción o de retraso (lag) en que las células en cultivo han comenzado a absorber los nutrientes presentes en el medio. Al inocular un nuevo medio a menudo no se registra un incremento inmediato en el número de células. Esta fase se expresa entre el primero al tercer día dependiendo del tamaño del inoculo; esta fase se puede evitar utilizando como inoculo cultivos que están en su fase exponencial.

2) Fase exponencial. Al adaptarse las células al medio, la densidad de las microalgas aumenta en forma geométrica. Puede presentarse del segundo al tercer día, después de inoculado el medio y se prolonga hasta 4 días. Si se controla la dilución del cultivo esta etapa puede prolongarse por semanas.

3) Fase de declinamiento relativo al crecimiento. Esta fase dura de 1 a 2 días y se manifiesta con un decremento en la velocidad de reproducción de las células, debido a condiciones desfavorables en el cultivo generadas en la fase anterior. Al final de esta fase la densidad del cultivo alcanza su valor máximo.

4) Fase estacionaria. El número de microalgas permanece constante, en ocasiones el fenómeno apenas se detecta y puede presentarse en su lugar la muerte celular.

5) Fase de muerte. Al incrementarse el número de células muertas, las condiciones desfavorables como el incremento de bacterias, hongos y espuma producto de la destrucción celular, generan el colapso final del cultivo.

Apéndice 3

Determinación de carbohidratos totales en rotíferos Soluciones y reactivos

- Solución patrón de glucosa 10 mg /100 ml de agua.
 - Solución de fenol al 5% en agua destilada p/p
 - Acido sulfúrico concentrado grado reactivo.
- 1.- Elaboración de curva patrón de glucosa 1-20 mg/ ml.
 - 2.- Mediante el microscopio estereoscopio y una micropipeta de 10 ml se separan los organismos de una suspensión de rotíferos, por cada individuo se toman 10 ml de agua y se colocan grupos de 10 individuos por tubo de ensaye.
 - 3.-Llevar a un mililitro el volumen total con agua destilada .
 - 4.-A cada tubo se le agrega 1 ml de solución de fenol al 5% y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado.
 - 5.-Los tubos se mantienen en reposo 10 minutos y se agitan.
 - 6.-Se colocan los tubos en un baño de agua con temperatura de 25 a 30 °C durante 30 minutos.
 - 7.-Leer los tubos en el espectrofotometro a 490 nm.

Apéndice 4

Cuantificación de Proteínas Totales

Método de Bradford

Micrométodo

- Se toman muestras de 100 ml, teniendo cuando menos 3 diluciones diferentes.
- Agregar 1 ml del reactivo de Bradford.
- Construir la curva patrón a partir de una solución de Albúmina en NaCl 0.15 M (ASB 10µg/100 ml), de tal forma que se tenga 10, 8, 6, 4, 2, 0 mg de ASB (las muestras son de 100 ml) y agregar 1 ml del reactivo de Bradford.
- Leer la absorbencia en el espectrofotómetro a 595 nm.

**Reactivo de Bradford.

- Azul brillante de Coomassie G-250 100/50 ml. etanol 95%
- Acido fosfórico al 85% w/v (100 ml)
- Aforar a 1 lt con agua destilada.

Normal

1= pesar 10 mg de albúmina en 10 ml. de NaCl 0.15 M solución Stock.

2= Leer a 278 nm (uv) la lectura debe de ser 0.66 DO, de lo contrario ajustar.

Curva Patrón

100 Mg-0.1 Ml. de la solución stock

75 Mg

50 Mg

25 Mg

0.0 Mg

a todos los tubos agregar 5 ml. del reactivo de Bradford y mezclar durante 2 minutos y leer la absorbencia a 595nm.

Apéndice 5

Medio BOLD Basal (Borowitzka & Borowitzka, 1988).

El medio BOLD Basal usado como sustrato en todas las fases experimentales, se preparo a partir de soluciones patrón mantenidas en refrigeración.

Soluciones

-Solución A

KOH+EDTA

-Solución B

FeSO₄+H₂SO₄

-Solución C

H₃BO₃

-Solución D

Micronutrientes (ZnSO₄, MnCl₂, MoO₃, CuSO₄, Co (NO₃))

Soluciones stock

-NaNO₃

-MgSO₄

-CaCl

-KH₂PO₄

-K₂HPO₄

-NaCl

Apéndice 6

Medio Fisiológico EPA (Anónimo, 1985), usado para el cultivo de rotíferos y otras especies.

-Na₂HCO₃. 1.92g

-Ca SO₄ 1.2g

-Mg SO₄ 1.2g

-KCl 0.08g