



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“EFECTO DE DIFERENTES DIETAS (*Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*) SOBRE EL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LOS ROTÍFEROS *Brachionus rubens*, *Brachionus angularis* y *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae)”

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

B I O L O G O

PRESENTA:

Cristian Alberto Espinosa Rodríguez

**Director de tesis
Dr. S. S. S. Sarma**



Los Reyes Iztacala, México 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Con mucho cariño y amor para mi mamá Alicia Espinosa Rodríguez gracias por darme tu amor, cariño, y confianza en todos los momentos y por haber facilitado la conclusión de mi carrera profesional, a mis tíos Delfino Baltazar Contla y Teresa Espinosa Rodríguez por estar conmigo todo el tiempo, por los valores, el apoyo y educación que me han brindado.

A Delfino, Galileo y Aristóteles: Mis hermanos con los que he vivido tantas cosas, con los que he ganado tantas experiencias, con aquellos con los que he compartido mi nicho, los que siempre estaremos ahí para apoyarnos en todas las etapas de nuestras vidas.

A la mujer con la que he compartido tantas experiencias inolvidables, que llevo en mi corazón y en mi vida diaria, aquella que tanto me ayuda de todas las maneras posibles, a la cual admiro y con la que quiero seguir conociendo muchos lugares y continuar compartiendo mi vida, gracias por todo Ligia.

Al Dr. S.S.S. Sarma y a la Dra. Nandini Sarma por su paciencia, sus consejos, su apoyo y por ser un cimiento en la realización de esta tesis y en mi desarrollo en esta área del conocimiento.

A toda la banda eriza: Vladis, Cuate, Héctor, Saúl, Orson, Israel y a los integrantes de la casa del sol con los que he andado de aquí para allá viajando, entrenando y conociendo distintos lugares, personas y situaciones ya que ustedes han sido una parte muy importante en mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Diego, Jorge, Rocío, Cecilia, Jonathan, Carmen, Jesús, Fabiola, Carlos, Paulina, Gerry, Alma, Frida, Ricardo, Alejandro, en especial a Gerardo que me apoyo en la realización de esta tesis y a la bestia que me apoyo para titularme y con el que he vivido momentos muy chidos y al cual aprecio mucho (en serio).

A toda la banda de la FESI; Gerzon, Teolo, Liz, Geles, Denisse, Emmanuel, Gaby, Paco, Bety, Perico, Inés, Milton, Rafa, Oscar (pepe), Zaida, Chema, Catriona, Osiris, Tatiana, Cinthia, Memo, Val, Erick, Jamil y todos los Karontes, Maria (Chucha), Adriana, Cesar, Jackie, Hugo, Chucho, Fernando, Fer, Andra ya que han sido mas que compañeros durante toda la carrera.

Al M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza, M. en C. José Luís Gama Flores y Dr. Sergio Chazado Olvera por sus aportaciones que facilitaron la realización de este proyecto.

Al proyecto PAPIIT No. IN219405

"El comportamiento ético de un hombre debería basarse con eficacia en la compasión, en la educación, y en las ataduras y necesidades sociales; no es necesaria ninguna base religiosa. El hombre iría realmente por mal camino si se viera restringido por el miedo al castigo y por la esperanza de la recompensa tras la muerte."

Albert Einstein.

INDICE

RESUMEN	
I. INTRODUCCION	
II. ANTECEDENTES	
III. JUSTIFICACION	
IV. HIPOTESIS	
V. OBJETIVOS	
OBJETIVO GENERAL	
VI. MATERIALES Y METODOS	
MANTENIMIENTO DE LOS CULTIVOS DE ROTÍFEROS	
VII. RESULTADOS	
<i>Brachionus angularis</i>	
<i>Brachionus rubens</i>	
<i>Brachionus patulus</i>	
VIII. DISCUSION	
IX. CONCLUSIONES	
X. ANEXO 1	
XI. ANEXO 2	
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ROTÍFEROS	
XII. ANEXO 3	
XIII. ANEXO 4	
MEDIO DE CULTIVO BOLD BASAL	
XIV. LITERAURA CITADA	

RESUMEN

Entre varias especies de *Brachionus*, encontramos *B. angularis*, *B. rubens* y *B. patulus* que son comunes en México y es bien conocido su crecimiento con alga como *Chlorella vulgaris*. Con el objetivo de evaluar las variables de crecimiento poblacional de tres especies de rotíferos el presente trabajo fue dividido en dos diseños, para el primero los rotíferos fueron alimentados con *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum* viva a tres densidades (0.5×10^6 , 1×10^6 y 2×10^6 cels/ml⁻¹) y para el segundo diseño se utilizó *C. vulgaris* viva, hervida y congelada a tres diferentes concentraciones (0.0625×10^6 , 0.125×10^6 y 0.25×10^6 cels/ml⁻¹). Cuando incrementamos la concentración de *C. vulgaris* viva hubo un incremento de la abundancia poblacional de las tres especies de rotíferos. Cuando se les ofreció *C. vulgaris* viva a los rotíferos *B. angularis* y *B. rubens* tuvieron mayores densidades poblacionales que cuando se ofrecía el alga congelada. *B. patulus* tuvo un mejor crecimiento con *C. vulgaris* viva, y no hubo crecimiento poblacional con *Chlorella* congelada a menor concentración ni con *S. capricornutum*. La tasa de crecimiento poblacional (r) varió de 0.45 ± 0.03 a -0.58 ± 0.01 por día dependiendo de la especie, la densidad y la presentación del alga. En conclusión existe una relación directa entre la cantidad de alimento y la densidad poblacional de los rotíferos, además de que las respuestas de los rotíferos fueron muy variadas lo cual nos indica que tienen diferentes hábitos alimenticios en la naturaleza.

Palabras clave: Crecimiento poblacional, *Brachionus*, concentración de alimento, *Chlorella vulgaris*, *Selenastrum capricornutum*.

I. INTRODUCCION

Los componentes animales de las aguas dulces constituyen una extraordinaria diversidad de organismos representantes de casi todos los grupos taxonómicos, sin embargo solo son tres los grupos principales del plancton metazoario de estas aguas: Los rotíferos y dos subclases de crustáceos los cladóceros y los copépodos (Wetzel, 1981). Los rotíferos se multiplican rápidamente por vía asexual en condiciones favorables, son relativamente poco móviles y comen indiscriminadamente (Margalef, 1983), debido a esto es que pueden aportar entre el 10 y el 40% del total de la producción y hasta el 67% en ciertos medios (Flores Burgos, 1997).

En general todos son herbívoros o depredadores de vida libre, aunque también existen especies parásitas (Wallace y Snell, 1991). Existe una gran variedad en el tamaño de las partículas alimenticias consumidas por los rotíferos, con una clara separación de las especies en grupos según tamaño en relación con los nichos de alimento disponible, esta separación concuerda con la presencia simultánea de diversas especies dentro de la zona pelágica de los lagos (Elías-Gutiérrez, 1998).

Los rotíferos se alimentan de una gran variedad de organismos y el tipo de alimento elegido depende de varios factores, algunos géneros de rotíferos como *Brachionus*, *Lecane*, *Lepadella* entre otros se alimentan de partículas que tienen un tamaño de hasta 20 μm incluyendo microalgas, bacterias y detritus, además de que existe relación entre el tamaño de los rotíferos y el tamaño de las partículas consumidas (Nogradý, 2006; Sarma, 1991). Sus dinámicas y abundancias son controladas por la temperatura y la densidad de alimento, diferentes estudios (Pavón-Meza, et al., 2004; Edmonson,

1965; Sarma, et al., 1999) han demostrado que un incremento en la temperatura acelera la eclosión de huevos, reduce la edad de reproducción y algunas otras variables (Sarma y Nandini 2002). Las poblaciones de rotíferos no muestran consistentes dinámicas poblacionales y cada individuo tiene su propio patrón de crecimiento poblacional y declina (Nogrady, 2006).

En cuanto a la densidad de alimento las respuestas de los rotíferos pueden ser muy amplias, pero usualmente un incremento en la densidad de alimento causa un incremento en la producción de huevos y por otro lado reduce la longevidad, en general los miembros de la familia Brachionidae están bien adaptados al consumo de alga verde (Sarma y Nandini 2002). Los rotíferos muestran una alta tasa de ingestión y pueden consumir cada 2 horas lo equivalente al tamaño de su cuerpo (Nogrady, 2006).

La mayoría de las especies planctónicas de rotíferos son característicos por tolerar y poder reproducirse en un amplio rango de temperatura. Es difícil determinar el efecto de la temperatura en un individuo o poblaciones naturales, ya que la temperatura influye en otros factores como: cantidad de alimento y tipo de reproducción (míctica o amíctica) los cuales afectan a los rotíferos, sin dejar de lado que la temperatura varía en tiempo y espacio en los diferentes cuerpos de agua, además de que también existen otros factores como la calidad del alimento y composición genética (Nogrady, 2006; Galkovskaja, 1987).

La influencia de la temperatura ha sido analizada usando datos de la literatura, de los resultados de experimentación y de poblaciones naturales. Incrementando la temperatura de incubación resulta un decremento en la tasa de desarrollo y una

reducción en su longevidad. Los efectos de la temperatura sobre las tasas de ingestión de los rotíferos son ampliamente influenciados por la concentración de alimento. En consecuencia este factor también influye en la producción secundaria de poblaciones experimentales en diferentes temperaturas (Galkovskaja, 1987). Los análisis de crecimiento poblacional del zooplancton pueden hacerse por cuantificación del número de huevos que cargan las hembras. Haciendo mediciones del radio de los huevos que cargan las hembras no solo es ampliamente usado para estimar los patrones de fecundidad sino también para checar el estado de cultivos en masa, pero en la mayoría de los estudios no se usan estas variables por su dificultad para obtener los datos especialmente en especies no planctónicas (Pavón-Meza, et al., 2004).

El uso de alga almacenada para la alimentación de zooplancton presenta algunos problemas, por ejemplo, una de las mejores formas de almacenar el alga es congelarla, durante este proceso las células algales llegan a endurecerse aun después de descongeladas, varias especies de zooplancton, especialmente los rotíferos (*Brachionus calyciflorus*) no crece bien con alga descongelada (Pavón-Meza, et al., 2001). Un segundo método es el secado del alga, algunas veces cuando se agrega al medio el alga en polvo flota y queda atrapado en la superficie del medio el cual no es fácilmente aprovechado por los rotíferos. Otro proceso es para almacenar el alga es matar por calor (hervirlas) las células y durante el calentamiento su calidad nutricional puede variar (Brown 1995).

Particularmente el genero *Brachionus* ha sido muy estudiado en condiciones de laboratorio y en condiciones de campo (Dumont, 1977). El papel de *Brachionus*

alimentado con detritus no es bien conocido en gran parte, generalmente en los estudios de laboratorio se emplea alga más que detritus para mantener los cultivos de rotíferos y esto se debe a que la calidad nutricional del alga puede ser mantenida, la cuantificación de alga es más sencilla y el tamaño de las partículas se mantiene constante, por esto es que relativamente pocos estudios se han enfocado en usar detritus para la alimentación de rotíferos (Pourriot 1977).

La importancia de los rotíferos contrasta enormemente con su pequeño tamaño, pues se integran dentro de las cadenas tróficas como consumidores primarios y son responsables en gran medida de la productividad secundaria de cualquier sistema acuático. Un factor de gran importancia de los rotíferos es que son el alimento vivo primario en el crecimiento de larvas de peces de 6-7 mm de longitud seguido por cladóceros y copépodos (Sarma, 1985), la calidad nutricional de los rotíferos es de principal importancia para la alimentación de estas larvas (Sarma, 1991). Esto significa que se convierten en uno de los eslabones fundamentales entre los productores primarios (el fitoplancton) y los consumidores secundarios (los peces). *Brachionus plicatilis*, que fue utilizada como alimento vivo con un rotundo éxito en la alimentación de la etapa más crítica en el cultivo de peces, la alimentación de juveniles, cuya boca es tan pequeña que no permite cualquier tipo de alimento, además de que este debe ser rico en proteínas, vitaminas y minerales (Elías-Gutiérrez, 1998). Entre varias especies de *Brachionus*, encontramos *B. angularis*, *B. rubens* y *B. patulus* que son muy comunes en México y es muy bien conocido su crecimiento con alga como *Chlorella vulgaris* (Fernández-Araiza, et al., 2005; Pavón-Meza, et al., 2001).

Hasta hoy la metodología más aceptada para la producción de rotíferos en condiciones de cultivo masivo consiste en mantener por separado los cultivos de rotíferos y de alga en volúmenes determinados, pero se ha comprobado que la producción intensiva de algas vivas constituye sin duda una carga pesada de gastos, por lo que actualmente las técnicas acuaculturales tienden a obtener los mejores rendimientos en la producción, a los menores costos (Snell, 1991). No se sabe si la respuesta de estas especies de rotíferos es similar cuando se cultivan con *C. vulgaris* viva, congelada o hervida, además de que existe muy poca información respecto al uso de *Selenastrum capricornutum* como alimento vivo para rotíferos, por esto es que en este estudio se busca analizar el efecto de distintas concentraciones de alga (*C. vulgaris*) viva y muerta y *S. capricornutum* sobre el crecimiento poblacional de los rotíferos.

Chlorella vulgaris es una microalga unicelular de forma esférica de aproximadamente 5 μm . *C. vulgaris* fue una de las primeras algas aisladas y desarrolladas en cultivo puro, y actualmente se ha demostrado que es fácil de cultivar pues sirven como alimento vivo para diversos organismos, entre ellos los rotíferos (Tavera, 2004).

El grosor y tamaño de su pared celular, también son características importantes ya que suelen estar relacionados con su digestibilidad y calidad nutritiva (Tavera, 2004), estudios recientes han demostrado que algas muy nutritivas como *C. vulgaris* y *S. capricornutum* tienen elevados contenidos de ácidos grasos (Tavera, 2004; Peña, 2003). El uso de microalgas verdes es muy común, ya que es muy fácil de cultivar en condiciones de laboratorio. Los alimentos utilizados en este trabajo, fueron

seleccionados por las siguientes características: *C. vulgaris* y *S. capricornutum* tienen la cualidad de ser fácilmente cultivables, un tamaño adecuado (4-6 μm) para que los rotíferos puedan consumirla, taxonómicamente son una especie conocida y se han utilizado como organismos para el cultivo y la evaluación de trabajos ecológicos, normalmente no presentan mecanismo de defensa contra sus depredadores, además son algas muy comunes en los cuerpos de agua y en ausencia de zooplancton alcanzan grandes abundancias (Flores-Burgos, et al., 2003).

La concentración de alimento tiene un efecto directo sobre la densidad poblacional, donde un incremento en la disponibilidad de alimento resultaría en la aparición de un mayor porcentaje de rotíferos cargando más de un huevo amítico (Sarma, 1991), es importante mencionar que la edad del alga afecta la tasa de alimentación ya que un alga que ha permanecido largo tiempo en almacén comienza a producir toxinas (Nogrady, 2006).

El género y la especie de *Selenastrum capricornutum* fueron modificados formalmente a *Pseudokirchneriella subcapitata* (Hindak, 1990); sin embargo, para mantener consistencia con la literatura que la refiere, se empleará en este trabajo su nombre original. *S. capricornutum* es un alga verde unicelular de 5 μm que tiene forma de media luna, son más largas que gruesas y se curvan frecuentemente (Comas, 1996), puede encontrarse en sistemas acuáticos epicontinentales eutróficos u oligotróficos, perteneciente a la clase Chlorophyceae (Linton y Goulder, 1998). Es usada como alimento vivo en cultivos de zooplancton que son usados como alimento para larvas de

pez en acuicultura (Price, et al., 1990), es mas comúnmente usada como biomonitor para determinar los niveles de nutrientes o tóxicos en ambientes dulceacuícolas, esta especie es sensible a la presencia de toxinas y puede alertar sobre cambios en las condiciones del agua antes de que un problema llegue a ser excesivo (Fairchild, et al., 1997; Ellison y Brett, 2006; Linton y Goulder, 1998).

II. ANTECEDENTES

- Yúfera y Navarro en el año 1995 evaluaron los parámetros de crecimiento poblacional de dos variedades de *Brachionus plicatilis* alimentado continuamente con cuatro especies de microalga (*Nannochloropsis oculata*, *Nannochloropsis gaditana*, *Nannochloris oculata* y *Tetraselmis suecica*) las cuales fueron sometidas a pulverización con una técnica llamada freeze-dried cambiando las concentraciones cada día. Los cultivos mostraron una fase lag corta, una fase de crecimiento exponencial y una larga fase de crecimiento posexponencial con lo que concluyeron que el mejor crecimiento fue obtenido con *Nannochloropsis oculata*.
- King y Miracle, en 1980 señalan que los estudios sobre la dinámica poblacional en rotíferos permiten analizar, bajo condiciones experimentales, el efecto de componentes ambientales tales como alimento, temperatura, depredación, competencia y pH, entre otros, sobre el aprovechamiento de los recursos o el efecto de condiciones adversas para el desarrollo de una población.
- Pavón-Meza, et al., en 2001 determinaron las variables de crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* utilizando diferentes densidades (0.5×10^6 , 1.5×10^6 y 4.5×10^6 cels/ml⁻¹) de *Chlorella vulgaris* viva y muerta (congelada y muerte por ebullición), en el cual concluyen que *Chlorella* congelada no es efectiva para obtener un buen crecimiento poblacional sobre *Brachionus calyciflorus* en comparación con alga hervida o el alga viva las cuales tuvieron valores semejantes.

- Enríquez, et al., en el año 2003 evaluaron el patrón de crecimiento poblacional de seis especies de zooplancton de los cuales tres eran rotíferos: *Brachionus macracanthus*, *Lecane quadridentata* y *Platyias quadricornis* a diferentes niveles de alga (de 0.5 a 1.6×10^6 cels/ml⁻¹) *Chlorella vulgaris* viva, *Chlorella vulgaris* muerta por ebullición, levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y detritus colectado del campo, encontrando que entre los rotíferos *Brachionus macracanthus* y *Lecane quadridentata* tenían tasas de crecimiento muy similares sobre *Chlorella vulgaris* viva y muerta, mientras *Platyias quadricornis* crecía mejor con detritus.
- Stemberger y Gilbert en 1985 evaluaron el crecimiento poblacional y el tamaño del cuerpo de ocho especies de rotíferos planctónicos (*Synchaeta pectinata*, *Keratella crassa*, *K. cochlearis*, *Brachionus calyciflorus*, *Asplanchna priodonta*, *Synchaeta oblonga*, *K. earlinae*, y *Polyarthra remata*) en base a diferentes concentraciones de alimento que van de 1 a 11 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ con diferentes tipos de presas (*Cryptomonas ovata*, *Cryptomonas erosa*, *Cryptomonas reflexa*, *Rhodomonas minuta*, y *Cryptomonas sp*). Dependiendo del rotífero a estudiar, ellos encontraron que había una relación positiva entre la masa del cuerpo de los rotíferos y la máxima tasa de crecimiento poblacional porque la especie más pequeña tiene la más baja concentración umbral de alimento.
- Flores-Burgos, et al., en el 2003 evaluaron el crecimiento poblacional de 4 especies de zooplancton de los cuales dos fueron *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus*, alimentados con *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus* en diferentes proporciones para lo cual los rotíferos presentaron mejor crecimiento con *Chlorella* que con *Scenedesmus* y con una mezcla de ambas y

en general *Chlorella* resulto superior sobre las variables observadas, en general *B. patulus* creció mejor.

- Sarma, et al., en 2001 evaluaron el efecto de tres tipos de alimento sobre el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* alimentados con *C. vulgaris*, levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y una mezcla de ambos en la misma proporción a dos concentraciones (1×10^6 y 3×10^6 cels/ml⁻¹) y encontraron que una dieta de *Chlorella* sola pudo soportar un mas alto crecimiento poblacional de ambas especies que la levadura sola, teniendo el mas alto crecimiento poblacional a una concentración de 3×10^6 cels/ml⁻¹, mientras que el alimento mezclado no presento mejores resultados que el uso de *C. vulgaris* sola.
- Rothhaupt en 1990a evaluó la tasa de aclaración y la tasa de ingestión de tres especies de rotíferos (*Brachionus angularis*, *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus rubens*) alimentados con siete especies de alga (*Chlorella minutissima*, *Synechococcus elongatus*, *Monoraphidium minutum*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlamydomonas sphaeroides*, *Cyclotella meneghiniana* y *Micractinium pusillum*) para determinar las preferencias alimenticias en cuanto a tamaño y forma del alimento encontrando que las preferencias alimenticias están relacionadas con el tamaño así, *Brachionus angularis* prefiere partículas menores a 5 μm , *Brachionus rubens* prefiere partículas que miden aproximadamente 5 μm y *Brachionus calyciflorus* prefiere partículas que su tamaño oscilan en las 10 μm .
- Rothhaupt en 1990b evaluó la tasa de ingestión y de aclaración de *Brachionus rubens* y *Brachionus calyciflorus* alimentados con seis microalgas de distintos

tamaños: *Chlorella minutissima* (2 μ m), *Monoraphidium minutum* (3.5 μ m), *Chlamydomonas reinhardtii* (6 μ m), *Cyclotella meneghiniana* (8.5 μ m), *Chlamydomonas sphaeroides* (12 μ m) y *Micractinium pusillum* (18 μ m) para determinar la preferencia alimenticia en cuanto a tamaño y concentración de alimento usando cuatro concentraciones de cada alga (0.5, 1, 2.5 y 5 mg/l⁻¹) encontrando que las tasas de aclaración disminuyen constantemente con la concentración de alimento, las tasas de ingestión máximas era mas bajas que aquellas para partículas pequeñas y las tasas de ingestión decrecieron uniformemente en altas concentraciones de partículas grandes.

- Sarma, et al., en 1999 evaluaron el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* en relación a cuatro diferentes concentraciones (1x 10⁶ a 8 x 10⁶ cels/ml⁻¹) del alga *Dictyosphaerium chorelloides* a 25°C de lo cual encontraron que en la menor concentración la población no sobrevivía después de tres días y la tasa de crecimiento poblacional era mas alta (r=0.91) en la concentración de 8 x 10⁶ cels/ml⁻¹.
- Brito, et al., en 2006 evaluaron la tasa de filtración e ingestión de *Simocephalus vetulus* (Cladóceras) alimentado con *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum* a ocho concentraciones que iban de 0.04 x 10⁶ cels/ml⁻¹ a 5 x 10⁶ cels/ml⁻¹ y encontraron que los tratamientos donde la densidad alimenticia que se ofreció fue entre 3 y 5 x 10⁶ cels/ml⁻¹ tenían las tasas de ingestión mas elevadas, mientras que las tasas de filtración mas altas se obtuvieron en las concentraciones de alimento menores, en cuanto al tipo de fitoplancton se

encontró que *Simocephalus vetulus* filtro mayores volúmenes de agua cuando se alimentó con *Chlorella vulgaris*.

- Sarma y Nandini en el 2002 evaluaron el crecimiento poblacional, tabla de vida y demografía de *Brachionus macracanthus* y *Platytias quadricornis* alimentados con cinco diferentes densidades de *Chlorella vulgaris* (de 0.5 a 4×10^6 cels/ml⁻¹) en el cual concluyeron que había diferencias en las variables de historia de vida e incrementaba la abundancia al incrementar la densidad de alimento de ambas especies de rotíferos basado en los parámetros estudiados.
- Pavón-Meza, et al., en el 2004 evaluaron el efecto combinado de concentración de alimento de *C. vulgaris* (0.5×10^6 , 1×10^6 y 2×10^6 cels/ml⁻¹) y diferentes temperaturas (15°C, 20°C y 25°C) en el crecimiento de *Brachionus havanaensis* encontrando que un incremento en la concentración de alimento provoca un incremento en el crecimiento poblacional y encontraron diferencias estadísticamente significativas en la interacción entre ambos parámetros.
- Price, et al., en 1990 evaluaron la tabla de vida de *Daphnia pulex* alimentado con *S. capricornutum* y un suplemento orgánico a base de levadura a varias concentraciones que iban de 0.015 a 0.15×10^6 cels/ml⁻¹, encontrando que al incrementar las concentraciones de alga se incrementaba la producción de neonatos y la alga almacenada por más de cinco semanas no tenía efecto sobre la producción de neonatos en *Daphnia pulex*.
- Zarattini y Mura en 2004 evaluaron los efectos del tipo de alimento sobre el crecimiento en longitud y peso, diferenciación sexual y sobrevivencia de *Chirocephalus ruffoi* (Anostraca) alimentado con *Selenastrum capricornutum*,

Saccharomyces cerevisiae y levadura enriquecida con lípidos a una concentración de 0.01×10^6 cels/ml⁻¹ encontrando que existen diferencias sobre la talla y la sobrevivencia dependiendo del alimento.

- Bajo la hipótesis de que los bivalvos son capaces de seleccionar su alimento y en cuanto a dietas con alimento vivo y muerto Brillant y MacDonald en el 2002 cuantifican la cantidad de clorofila a, carbón y nitrógeno en las células vivas y muertas de una especie del genero *Chlorella* sobre el crecimiento de *Placopecten magellanicus* al cual realizaron un análisis fecal para observar que tipo de alimento prefería, y como conclusiones aseguran que puede escoger su alimento prefiriendo células vivas.
- En un trabajo sobre acuicultura Rottman et al en el año de 1991 evalúan el efecto de tres dietas de alimento vivo (*Brachionus rubens*, *Panagrellus* sp. y nauplios de *Artemia salina*) y dos dietas de alimento seco para cultivo intensivo de carpas (*Ctenopharyngodon idella* y *Hypophthalmichthys nobilis*) en el cual encontraron que después de tres semanas las larvas alimentadas con *Brachionus rubens* fueron mas largas y mas pesadas.

III. JUSTIFICACION

La importancia de los rotíferos se debe a que juegan un papel esencial en el ciclo de producción de los sistemas acuáticos, tanto por ser filtradores y estar en estrecha relación con los productores primarios como por su relación con otras poblaciones dentro de los cuerpos de agua, además de que muchas especies se alimentan principalmente de detritus y bacterias que, consecuentemente, les permite ser independientes de la producción fitotrófica.

Por otro lado actualmente la acuicultura ha llegado a ser uno de los componentes importantes de la biotecnología, donde los aspectos de alimentación y producción de larvas se han convertido en los mayores requerimientos para una acuicultura exitosa; sin embargo, aunque el cultivo de rotíferos se ha desarrollado adecuadamente para la alimentación de especies marinas desde hace muchos años, los rotíferos dulceacuícolas están empezando a ser utilizados extensivamente como alimento de peces de agua dulce en lugar de los conocidos nauplios de *Artemia*, pues se ha visto que éstos viven un máximo de seis horas en agua dulce y su descomposición contribuye a aumentar la carga de materia orgánica en los estanques, con lo que se contamina el agua con bacterias que utilizan el oxígeno disuelto y a la vez pueden ser patógenas. Sin embargo, del gran número de especies de rotíferos dulceacuícolas que se conocen, sólo algunas especies de *Brachionus* han sido cultivadas para utilizarlas como alimento vivo, además el alga usada para el cultivo de estos organismos no esta disponible del mismo modo durante todo el año debido a las condiciones ambientales, por lo que es necesario saber cual método de conservación de alga (muerte celular por

ebullición o muerte celular por congelamiento) proporciona un mayor crecimiento de los rotíferos, además en la mayoría de los estudios se usa *C. vulgaris* o *Scenedesmus acutus* para la alimentación de los rotíferos, es por esto que no es bien conocido como estas tres especies de rotíferos muestran variaciones bajo diferentes concentraciones de *S. capricornutum* que tiene características muy similares a *C. vulgaris*.

IV. HIPOTESIS

Debido a que los rotíferos son organismos filtradores presentan una gran sensibilidad hacia la concentración y forma del alimento presente en el medio, por lo que en este trabajo, se espera que la respuesta del cultivo de *B. angularis*, *B. patulus* y *B. rubens*:

- Tenga una relación directa entre la concentración de alimento y el crecimiento poblacional de los rotíferos.
- Sea un crecimiento positivo con el alga hervida y congelada en el supuesto de que aportan nutrientes para los rotíferos
- Tenga un crecimiento poblacional al utilizar la microalga (*Selenastrum capricornutum*), ya que tiene características nutricionales semejantes a *Chlorella vulgaris*

V. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum* sobre el patrón de crecimiento poblacional de los rotíferos *Brachionus rubens*, *Brachionus angularis* y *Brachionus patulus*.

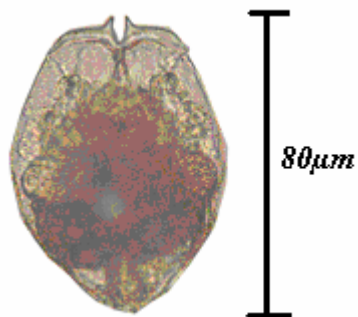
OBJETIVOS PARTICULARES

- Comparar los patrones de crecimiento poblacional de los rotíferos alimentados con *S. capricornutum* y *C. vulgaris*.
- Determinar la abundancia máxima de las especies seleccionadas usando diferentes concentraciones del alga seleccionada.
- Comparar la tasa de crecimiento poblacional de las especies seleccionadas bajo diferentes concentraciones de alga.
- Determinar el efecto de diferentes concentraciones de alimento sobre el crecimiento poblacional de los rotíferos.
- Determinar la concentración umbral para las especies de rotíferos seleccionadas.

VI. MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron cepas de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus* mantenidas en laboratorio, las cuales fueron aisladas de los canales de Xochimilco (D.F.). y de *Brachionus angularis* aislado del Lago Tezozomoc (D.F.) Para el desarrollo de los experimentos, los rotíferos se mantuvieron con las algas *C. vulgaris* y *S. capricornatum* cultivadas y cosechadas en el laboratorio (ver anexo 1).

El experimento se realizo en dos etapas; en la primera, se compararon dos algas vivas (*S. capricornatum* y *C. vulgaris*) para las cuales se plantearon 3 concentraciones (0.5×10^6 , 1×10^6 y 2×10^6 cel/ml). En la segunda etapa, se compararon dos formas de preservación del alga *Chlorella vulgaris*, las cuales consistieron en matar las células por ebullición en agua destilada y por congelamiento con un control de alga viva, para las cuales se determinaron 3 concentraciones (0.065×10^6 , 0.125×10^6 y 0.25×10^6 cels/ml). Ver figura 1. La densidad de alga utilizada se obtuvo por series de dilución, a partir de un stock cuya densidad se conto con hematocímetro.

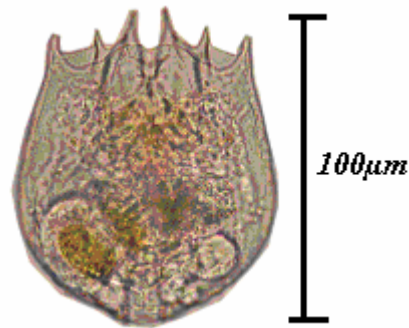


Lamina 1. *Brachionus angularis*.

El experimento se llevo a cabo en vasos transparentes de 50 ml conteniendo 25 ml de medio EPA (ver anexo 3), en cada uno de ellos se introdujeron 25 individuos a una temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Todos los rotíferos se contaron individualmente y se

introdujeron inicialmente con la ayuda de una pipeta pasteur con bulbo y un microscopio estereoscopico (Nikon),

Para la primera etapa de la experimentación se usaron 72 vasos (3 especies de rotíferos X 2 especies de alimento x 3 concentraciones de alimento x 4 replicas).



Lamina 2. *Brachionus rubens*.

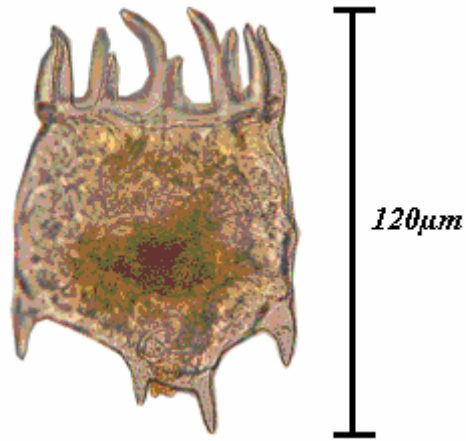
Para el conteo de los rotíferos, se tomaron 2 alícuotas de 1 ml por vaso cuando la densidad poblacional era mayor a 200 individuos con una micropipeta de 5ml (de las que se saco el promedio) y se llevo un registro de los rotíferos vivos cada día. El medio EPA (ver anexo 3) fue reemplazado completamente todos los días con la concentración de alimento apropiada. Las observaciones se terminaron sobre 2 y 3 semanas dependiendo del patrón de crecimiento de las especies.

En la segunda fase de experimentación se utilizo un total de 108 vasos (3 especies de rotíferos X 3 presentaciones de alimento x 3 concentraciones de alimento x 4 replicas), que fueron examinados diariamente.

El modelo para estimar la tasa de crecimiento poblacional fue el siguiente:

$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$. Donde: r =tasa de crecimiento poblacional, N_0 =densidad inicial; N_t =densidad final, t =tiempo en días (Nogrady, 1993).

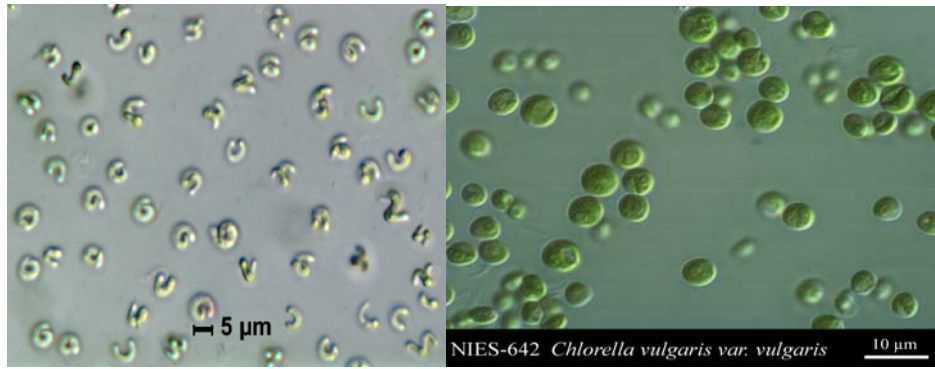
El método estadístico utilizado fue el análisis de varianza (ANDEVA) de 2 factores y prueba de F para las variables: abundancia máxima y tasa de crecimiento poblacional.



Lamina 3. *Brachionus patulus*.

Mantenimiento de los cultivos de rotíferos

Se mantuvieron las especies por separado, en vasos de precipitado de 500 ml. de capacidad, conteniendo aproximadamente 450 ml. de medio EPA y una concentración de alga de entre 1×10^6 cels.ml⁻¹ y 2×10^6 cels.ml⁻¹ temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, luz continua, pero difusa; y el pH se mantiene entre 7.5 y 8.0. Tres veces a la semana se realizan cambios totales del medio, desechando el medio en el que se encuentran lóricas, individuos muertos, organismos descomponedores y materia orgánica que pueden ser fuente de contaminación; para lo cual se filtraron los rotíferos con una malla de $50\mu\text{m}$ en una red cilíndrica, con diámetro de 8.0 y altura de 6.0 cm., posteriormente se depositaron en el nuevo medio correspondiente, tratando de causar el menor daño posible a la población (Sarma, 1991).



Lamina 4. Células de *Selenastrum capricornutum* (Izquierda) y células de *Chlorella vulgaris* (Derecha)

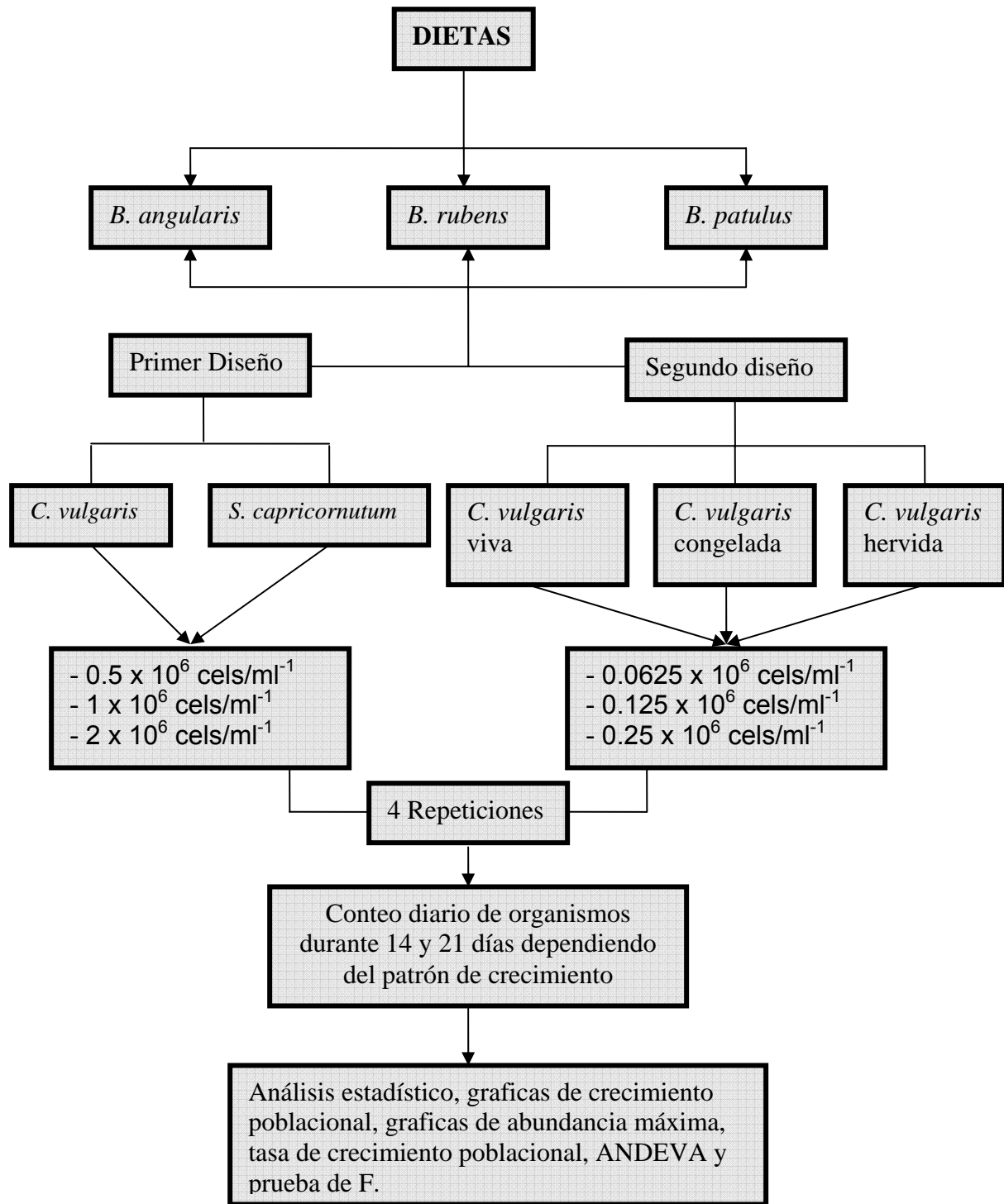


Figura 1. Diseño experimental

VII. RESULTADOS

Brachionus angularis

La figura 2 muestra que el crecimiento poblacional de *B. angularis* es afectado por la concentración de alimento ya que al incrementar la disponibilidad de este la población se incrementa, se puede observar que a pesar de ser curvas semejantes al alimentar a los rotíferos con *C. vulgaris* la curva de crecimiento obtuvo un incremento mas tempranamente que al ofrecer *S. capricornutum*, también se puede observar que a la concentración de 2×10^6 cels/ml⁻¹ *B. angularis* logro mantener su población a una densidad alta.

Independientemente del tipo de alga al incrementar la disponibilidad de alimento incrementó la abundancia máxima de *B. angularis* (figura 3), a una concentración de 0.5 *B. angularis* llego a 50 ind/ml⁻¹ con *C. vulgaris* siendo este el valor mas bajo, pero cuando el alimento incremento a 2×10^6 cels/ml⁻¹ el pico de este rotífero fue de 178 ind/ml⁻¹ valores muy similares al alimentar esta especie con *S. capricornurum*. Estadísticamente el tipo de alga y la interacción con la densidad de alga no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$ prueba de F, tabla 1, ANDEVA) sobre la abundancia máxima, sin embargo la densidad de alga si tuvo ($p < 0.001$).

La tasa de crecimiento poblacional (figura 4) también mostró una tendencia de acuerdo a las densidades máximas, Independientemente del tipo de alga y su concentración la *r* de *B. angularis* vario entre 0.46 y 0.65 (Tabla 2), en general hubo un incremento en la *r* con el incremento en la disponibilidad del alga, de esta manera cuando la densidad de

alga es 0.5 el r de *B. angularis* fue de 0.46 a 0.53 por día, pero cuando la densidad de alga aumento la tasa también subió hasta 0.65 por día, estadísticamente la densidad de alga fue significativa ($p < 0.001$), pero no el tipo de alga ni su interacción ($p > 0.05$ prueba de F, tabla 2, ANDEVA).

Las curvas de crecimiento poblacional de *B. angularis* (figura 5) bajo diferentes concentraciones de alimento (0.065×10^6 , 0.125×10^6 y 0.25×10^6 , cels/ml⁻¹) muestran que la densidad poblacional se incremento en relación a la densidad de alimento, independientemente de la forma de la dieta suministrada (*C. vulgaris* viva, hervida o congelada). De acuerdo a la figura una concentración de 0.0625×10^6 cels/ml⁻¹ de *C. vulgaris* permitió mantener una población de *B. angularis*, sin embargo, incrementando la disponibilidad de alimento a una concentración de 0.25×10^6 cels/ml⁻¹ la densidad poblacional se incremento drásticamente.

Los valores de máxima densidad variaron dependiendo la concentración y tipo de alimento. El valor mas alto de densidad máxima de la población que se muestra en la figura 6 fue alrededor de 40 ind/ml que corresponde al tratamiento de alga viva a una concentración de 0.25×10^6 cels/ml⁻¹, mientras que el valor mas bajo es de 0.4 ind/ml que corresponde al alga congelada a la menor concentración, las diferencias estadísticas encontradas corresponden la forma del alga ($p < 0.05$) y a la densidad del alga ($p < 0.001$, prueba de F, tabla 3, ANDEVA), mientras que la interacción no tuvo diferencias ($p > 0.05$).

La tasa de incremento poblacional por día (figura 7) varió de -0.12 a 0.28 para el alga congelada, para el alga hervida de 0.02 a 0.28, para el alga viva fue de 0.13 a 0.41, siendo este último dato el más alto para todos los tratamientos. Estadísticamente la forma, la densidad del alga ($p < 0.001$) y su interacción ($p < 0.05$, prueba de F, tabla 4, ANDEVA).

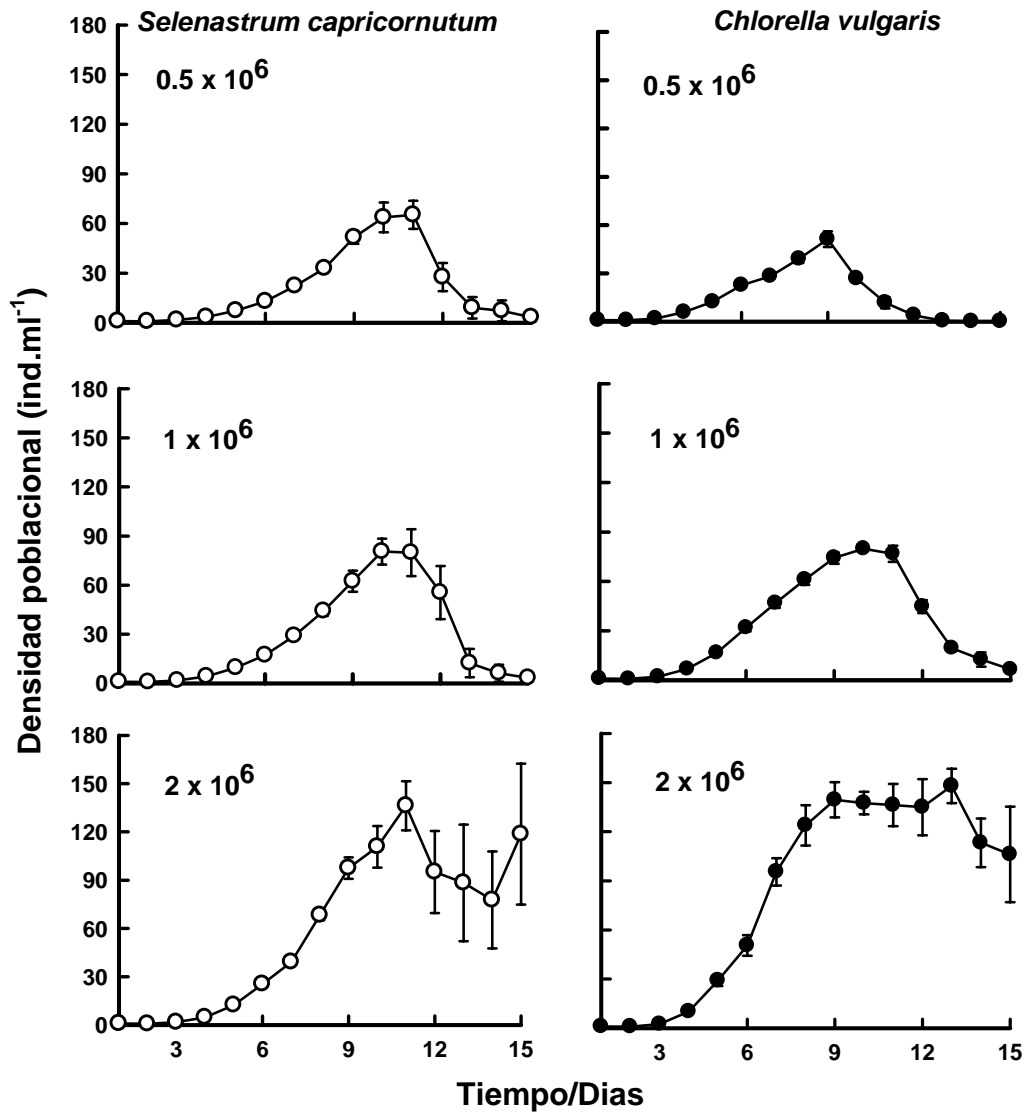


Figura 2. Crecimiento poblacional de *B. angularis* alimentado con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*. Los promedios y el error estándar están basados en cuatro replicas.

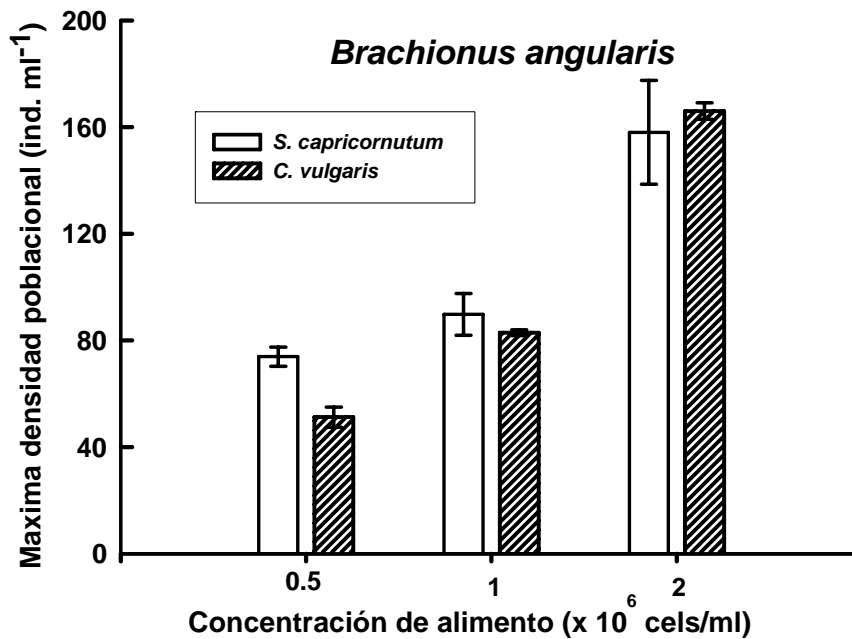


Figura 3. Máxima densidad poblacional alcanzada por *B. angularis* en relación a diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 1. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la máxima densidad poblacional alcanzada por *B. angularis* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ns = no significativo ($p > 0.05$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. angularis</i>				
Especie de alga (A)	1	313.1	313.2	0.58ns
Densidad del alga (B)	2	43157.1	21578.4	40.64***
Interacción de A X B	2	940.8	470.4	0.88ns
Error	18	9564.9	531.4	

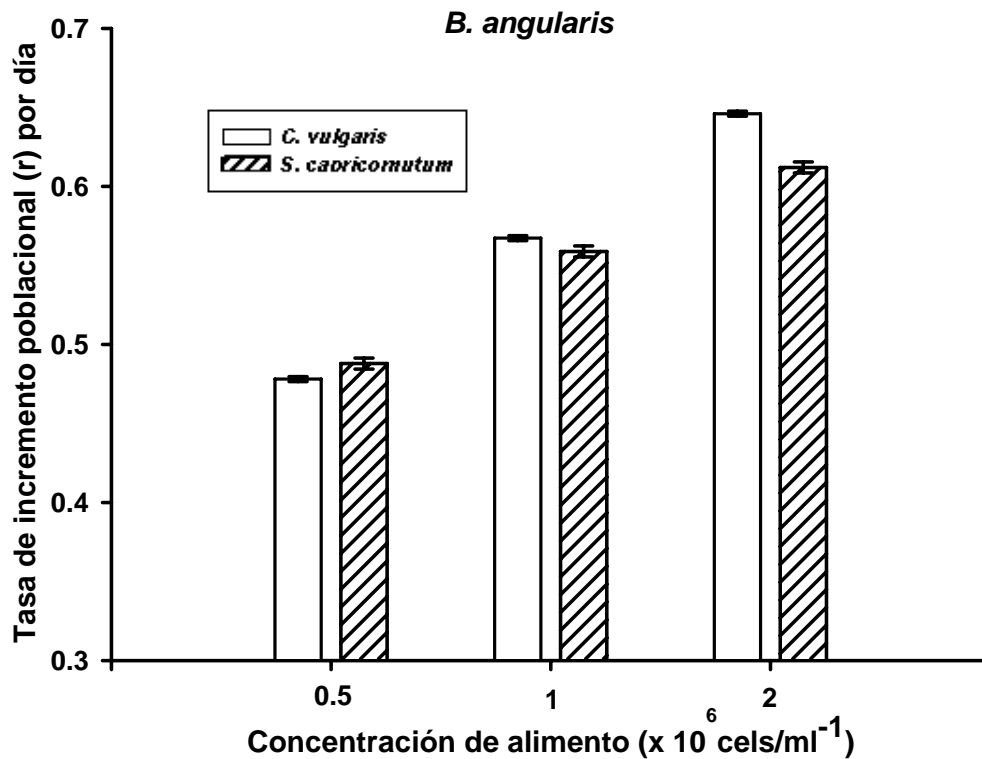


Figura 4. Tasa de crecimiento poblacional por día de *B. angularis* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 2. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la tasa de crecimiento poblacional de *B. angularis* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ns = no significativo ($p > 0.05$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. angularis</i>				
Especie de alga (A)	1	0.0007	0.0007	2.14ns
Densidad del alga (B)	2	0.0855	0.0427	128.34***
Interacción de A X B	2	0.0019	0.0009	2.9ns

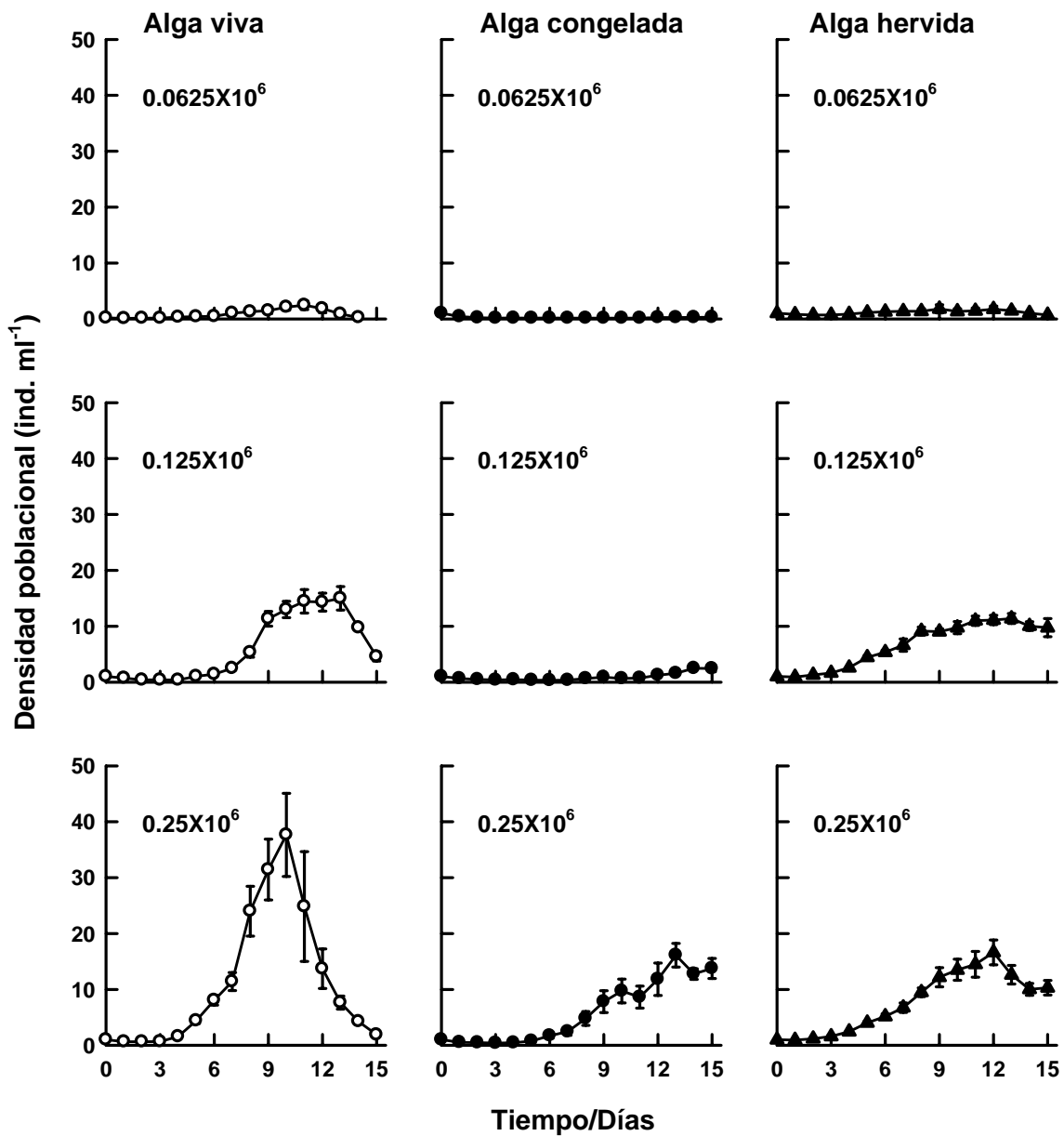


Figura 5. Crecimiento poblacional de *B. angularis* alimentado con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris* viva, congelada y hervida. Los promedios y el error estándar están basados en cuatro replicas.

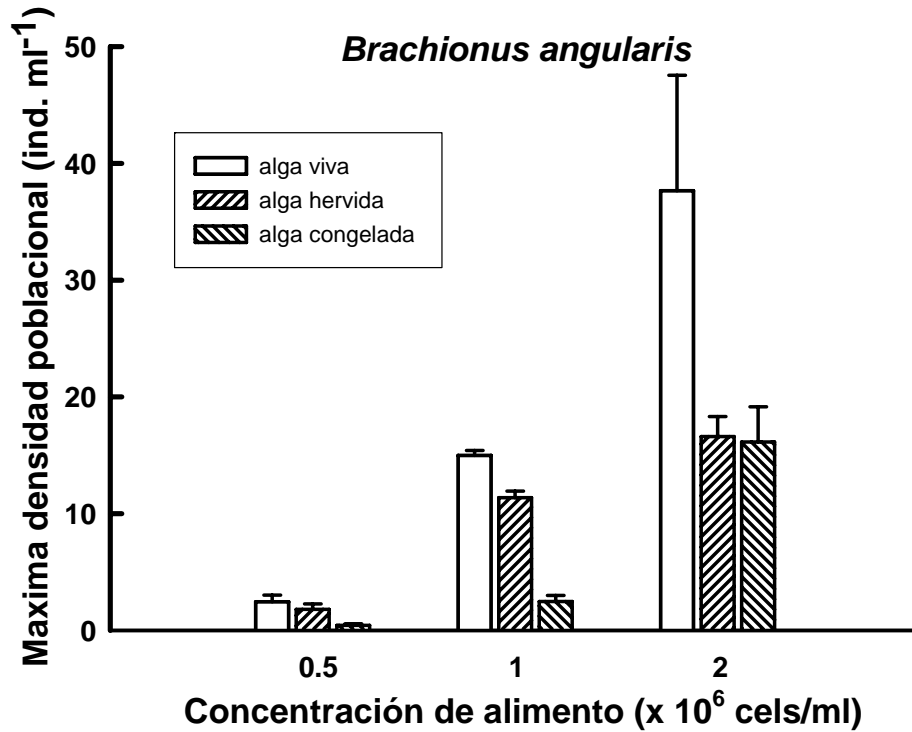


Figura 6. Máxima densidad poblacional alcanzada por *B. angularis* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* viva, hervida y congelada. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 3. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la máxima densidad alcanzada por de *B. angularis* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* en forma viva, hervida y congelada. GI = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ns = no significativo ($p > 0.05$), ** = Muy significativo ($p < 0.005$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>GI</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. angularis</i>				
Presentación del alga (A)	2	810.60	405.30	4.925**
Densidad del alga (B)	2	3682.30	1841.15	22.375***
Interacción de A X B	4	649.37	162.34	1.972ns
Error	27	2221.68	82.28	

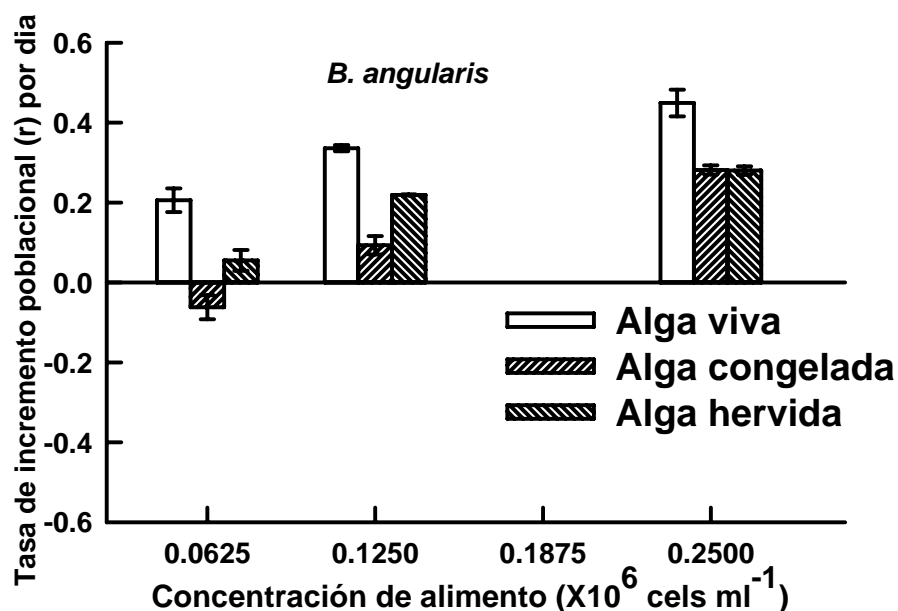


Figura 7. Tasa de crecimiento poblacional por día de *B. angularis* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* (viva, hervida y congelada). Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la tasa de crecimiento poblacional de *B. angularis* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* en forma viva, hervida y congelada. GI = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, * = Significativo ($p < 0.05$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>GI</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. angularis</i>				
Presentación del alga (A)	2	0.315	0.158	80.41***
Densidad del alga (B)	2	0.441	0.221	112.56***
Interacción de A X B	4	0.023	0.006	2.88*
Error	27	0.053	0.002	

Brachionus rubens

En la figura 8 se muestra que con *S. capricornutum* se tuvo un mayor crecimiento que con *C. vulgaris* logrando mantener su población a todas las concentraciones siendo claro que al incrementar la densidad de alimento incrementó la abundancia poblacional. Se puede observar que al alimentar esta especie con *C. vulgaris* se logro la máxima densidad mas tempranamente que al ofrecerles *S. capricornutum* a cualquier concentración, también es claro que a una concentración de 2×10^6 cels/ml⁻¹ de *S. capricornutum* la población logro mantenerse mas o menos estable a una alta densidad poblacional.

Las densidades máximas de la población para *C. vulgaris* y *S. capricornutum* se presentan en la Figura 9, donde se observa que la máxima densidad usando *C. vulgaris* es de 160 ind/ml⁻¹ a una concentración de 2×10^6 cels/ml⁻¹ , mientras que para *S. capricornutum* fue de 200 ind/ml⁻¹, a una concentración de 2×10^6 cels/ml⁻¹ , por otro lado el valor mas bajo corresponde a *C. vulgaris* a una concentración de 0.5×10^6 cels/ml⁻¹, encontrando que existen diferencias altamente significativas tanto entre las variables, como en su interacción ($p < 0.001$, Tabla 5, ANDEVA).

Las tasas de crecimiento poblacional varían entre 0.30 y 0.39 para *C. vulgaris*, de 0.2 a 0.40 para *S. capricornutum*, (Figura 10), donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las variables y entre su interacción (($p < 0.005$, Tabla 6, ANDEVA).

Las curvas de crecimiento poblacional (figura 11) muestran que utilizando el alga en forma congelada y hervida *B. rubens* apenas pudo mantener su población limitando su crecimiento, mientras que utilizando alga viva logro un crecimiento exponencial con concentraciones desde 0.125×10^6 cels/ml⁻¹, y el crecimiento poblacional fue directamente proporcional a la concentración de alimento.

La figura 11 muestra que cuando se usa una baja densidad de alga *B. rubens* tiene un valor muy por debajo (1.12 ind/ml^{-1}) que en las otras concentraciones (0.125×10^6 y 0.25×10^6 cels/ml⁻¹) con valores de 19 y 20 ind/ml⁻¹. Independientemente de la concentración de alimento el alga congelada y el alga hervida tuvieron menor densidad máxima (figura 12) en comparación con el alga viva, independientemente de la forma del alga la abundancia máxima de *B. rubens* varió de entre 20 y 22 ind/ml⁻¹. Estadísticamente encontramos diferencias altamente significativas con respecto al tipo de alga, la densidad de alga y su interacción ($p < 0.001$, prueba de F, tabla 7 ANDEVA).

Las tasas de crecimiento poblacional varían entre -0.47 y 0.29 para alga viva, de -0.22 a 0.18 para alga hervida y de -0.11 a 0.21 para el alga congelada (Figura 13), donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la densidad y su interacción ($p < 0.001$), pero no así con respecto a la forma ($p > 0.05$ prueba de F, tabla 8, ANDEVA).

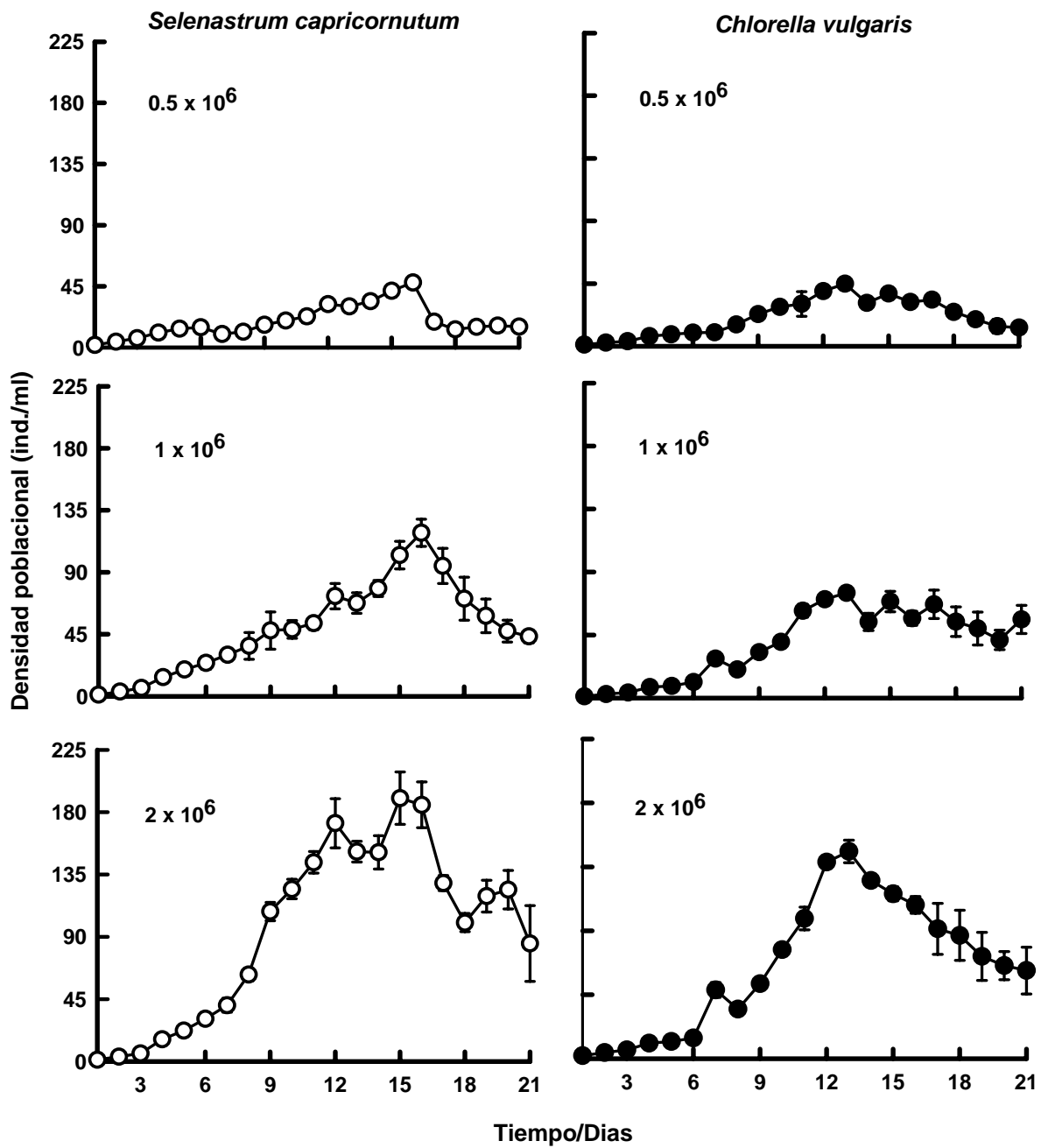


Figura 8. Crecimiento poblacional de *B. rubens* alimentado con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*. Los promedios y el error estándar están basados en cuatro replicas.

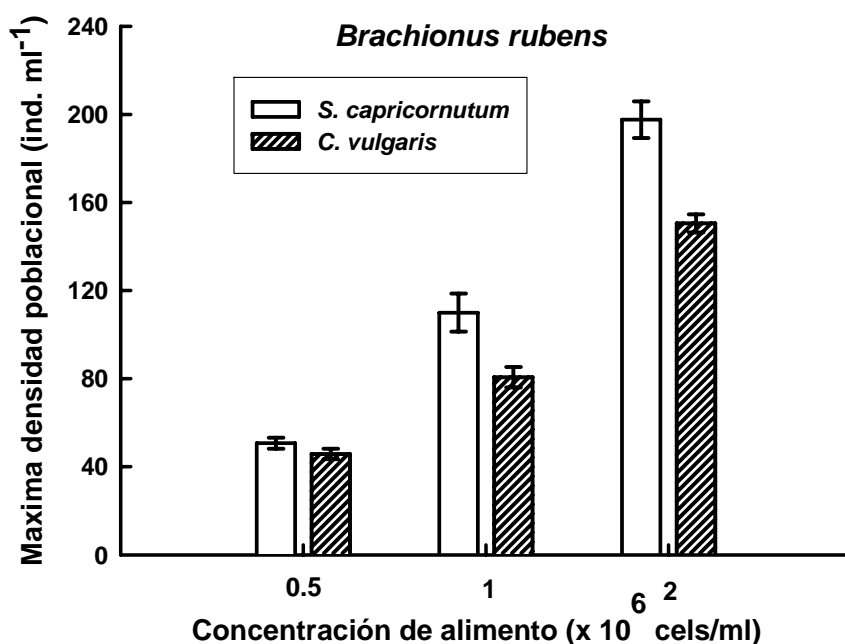


Figura 9. Máxima densidad poblacional alcanzada por *B. rubens* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la máxima abundancia de *B. rubens* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ** = Muy significativo ($p < 0.005$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. rubens</i>				
Especie de alga (A)	1	4414.2	4414.1	20.46***
Densidad del alga (B)	2	64611.8	32305	149.78***
Interacción de A X B	2	1788	894	4.14**
Error	18	3882.3	215.7	

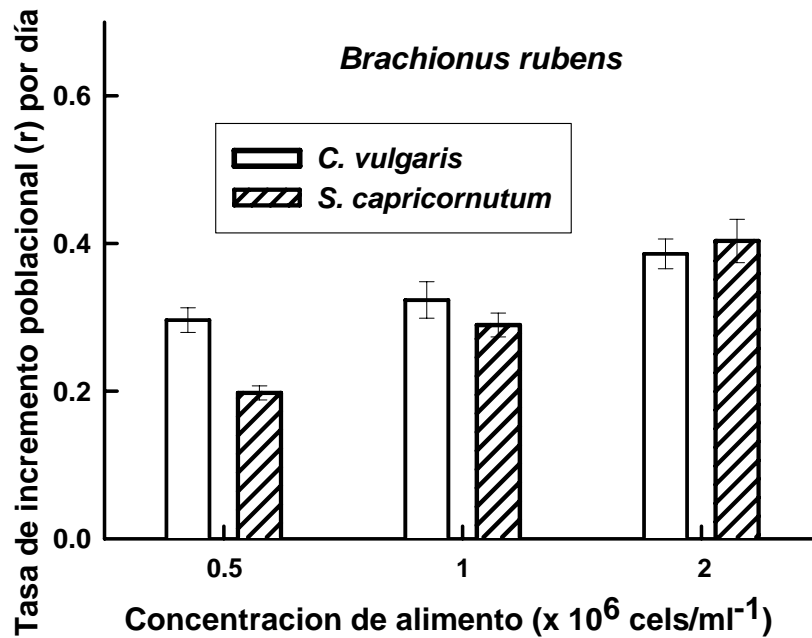


Figura 10. Tasa de crecimiento poblacional por día de *B. rubens* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 6. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la tasa de crecimiento poblacional de *B. rubens* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ** = Muy significativo ($p < 0.005$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. rubens</i>				
Especie de alga (A)	1	0.0088	0.0088	5.283**
Densidad del alga (B)	2	0.0884	0.0442	26.429***
Interacción de A X B	2	0.0135	0.0067	4.04**
Error	18	0.0301	0.0016	

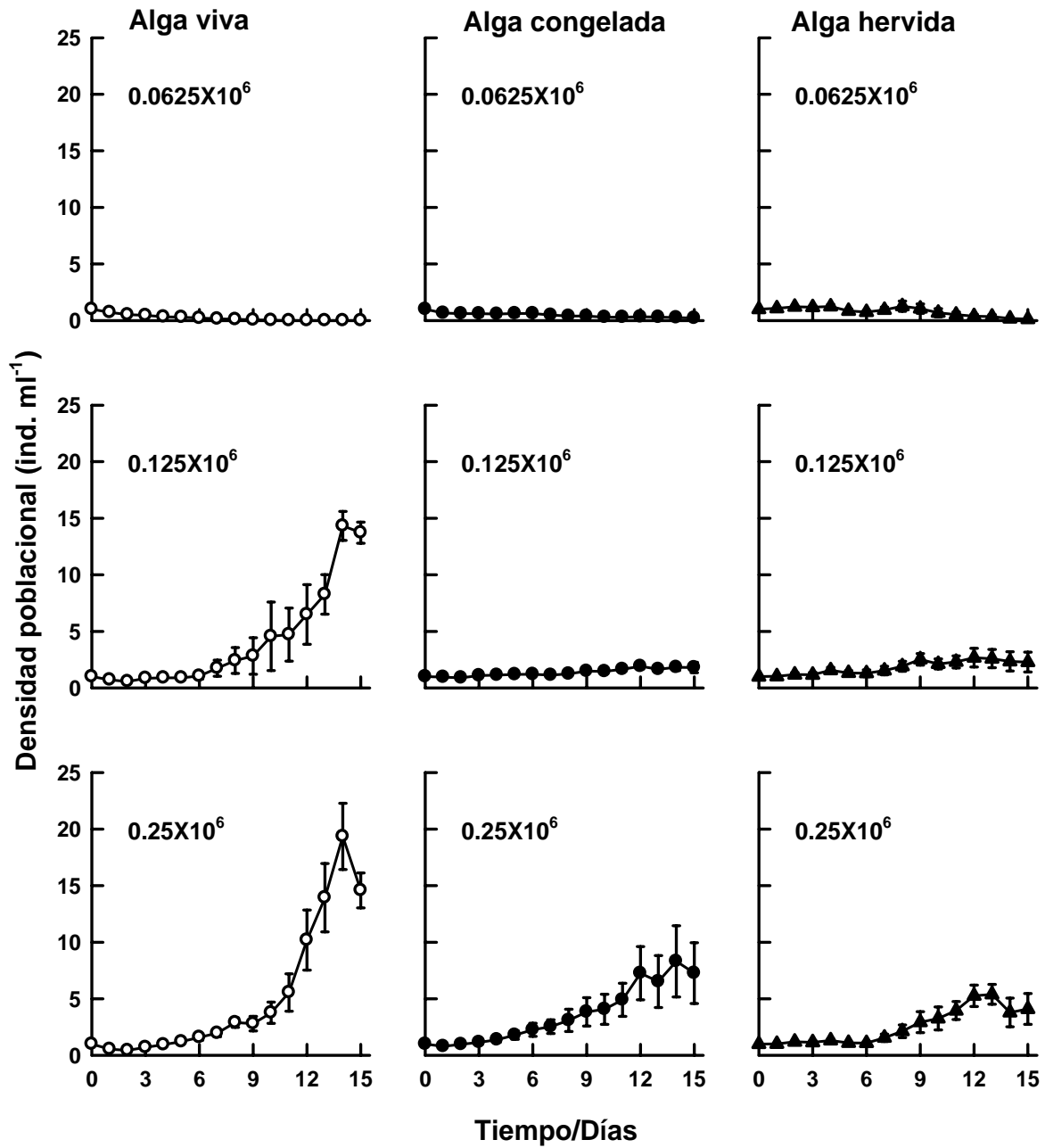


Figura 11. Crecimiento poblacional de *B. rubens* alimentado con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris* viva, congelada y hervida. Los promedios y el error estándar están basados en cuatro replicas.

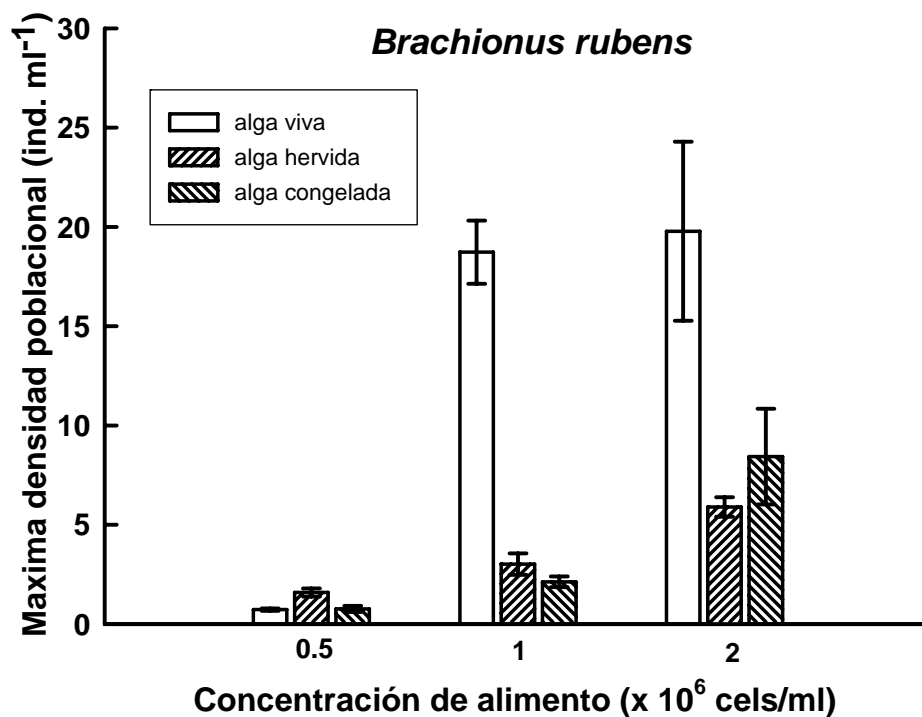


Figura 12. Máxima densidad poblacional alcanzada por *B. rubens* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* viva, hervida y congelada. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 7. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la máxima abundancia de *B. rubens* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* viva, hervida y congelada. GI = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-ratio, *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>GI</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. rubens</i>				
Presentación del alga (A)	2	713.86	356.93	16.4***
Densidad del alga (B)	2	666.64	333.32	15.32***
Interacción de A X B	4	424.08	106.02	4.87***
Error	27	587.31	21.75	

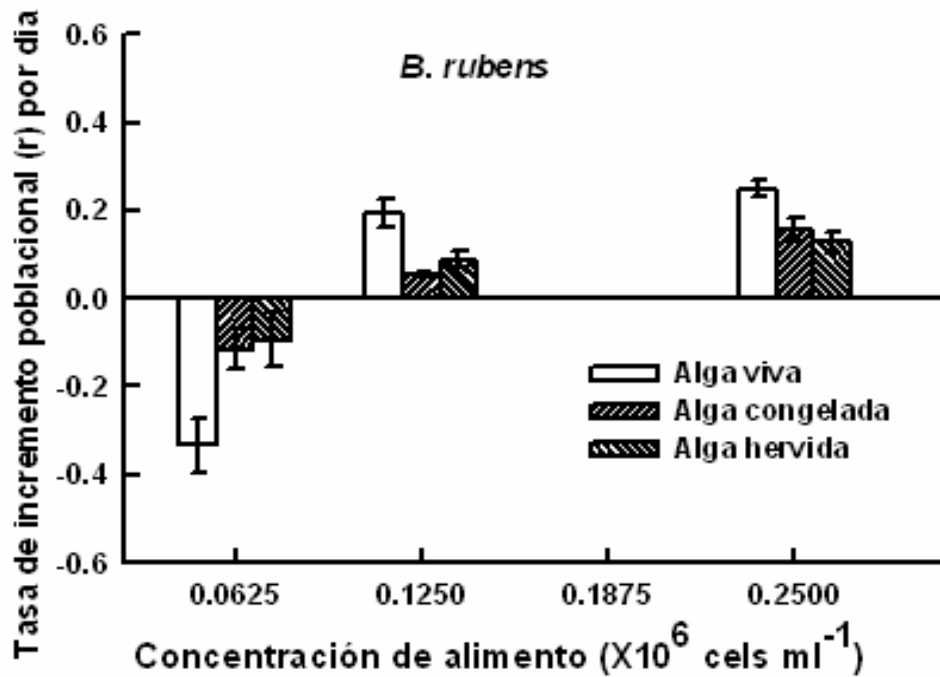


Figura 13. Tasa de crecimiento poblacional por día de *B. rubens* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* viva, hervida y congelada. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 8. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la tasa de crecimiento poblacional de *B. rubens* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* en forma viva, hervida y congelada. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ns = no significativo ($p > 0.05$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. rubens</i>				
Presentación del alga (A)	2	0.002	0.001	0.38ns
Densidad del alga (B)	2	0.368	0.184	32.81***
Interacción de A X B	4	0.719	0.180	32.07***
Error	27	0.151	0.005	

Brachionus patulus

Al usar *S. capricornutum* a cualquier concentración *B. patulus* apenas pudo mantener su población de lo cual obtuvimos valores similares independientemente de la concentración, mientras que al usar *C. vulgaris* logro un crecimiento exponencial a las concentraciones de 1 y 2 x 10⁶ cels/ml⁻¹ (figura 14) donde la densidad de rotíferos incremento al incrementar la concentración de alimento.

La densidad máxima obtenida fue de 172 ind/ml⁻¹ que corresponde a *C. vulgaris* a una concentración de 2 x 10⁶ cels/ml⁻¹ (figura 15), siendo este valor muy superior a cualquier otro tratamiento. *S. capricornutum* a una concentración de 0.5 x 10⁶ cels/ml⁻¹ fue el tratamiento, con el valor mas bajo (2.28 ind/ml⁻¹), las diferencias estadísticas que se encuentran son altamente significativas entre las variables y su interacción ($p < 0.001$, prueba de F, tabla 9, ANDEVA).

Los valores de la tasa de crecimiento poblacional por día (figura 16) fueron de 0.15 a 0.24 para *C. vulgaris*, mientras que para *S. capricornutum* fueron de 0.03 a 0.12, las diferencias significativas encontradas fueron entre la forma del alga y la interacción de las variables ($p < 0.001$), mientras que no hubo diferencias con respecto a la densidad del alga ($p < 0.05$, prueba de f, Tabla 10, ANDEVA).

Las curvas de crecimiento poblacional (Figura 17) muestran que el suministrar alga congelada no permitió el crecimiento de esta especie; mientras que con *C. vulgaris* hervida apenas se pudo mantener la población a una concentración de 0.0625 x 10⁶ y

0.125×10^6 cels/ml⁻¹; por otro lado el uso de *C. vulgaris* viva favoreció el crecimiento poblacional en forma exponencial a una concentración de 0.25×10^6 cels/ml⁻¹ en la cual la densidad de rotíferos aumentó en relación de la densidad de alimento.

Al observar los valores de máxima densidad (Figura 18), se encuentra que la máxima densidad de 14.8 ind/ml⁻¹ que corresponde a la concentración de 0.25×10^6 cels.ml⁻¹ de *C. vulgaris* viva, siendo este tratamiento muy superior al de alga hervida o congelada a cualquier concentración, las diferencias que se presentan son altamente significativas entre las variables y su interacción ($p < 0.001$, prueba de F, tabla 11, ANDEVA).

Las tasas de crecimiento poblacional (Figura 19) por día varían entre 0.10 y 0.22 para alga viva, de 0.04 a 0.14 para alga hervida y de -0.08 a 0.10 para alga congelada, siendo los valores del tratamiento con *C. vulgaris* congelada, los valores más bajos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las variables ($p < 0.001$), pero no así en su interacción ($p < 0.05$, prueba de f, Tabla 12, ANDEVA).

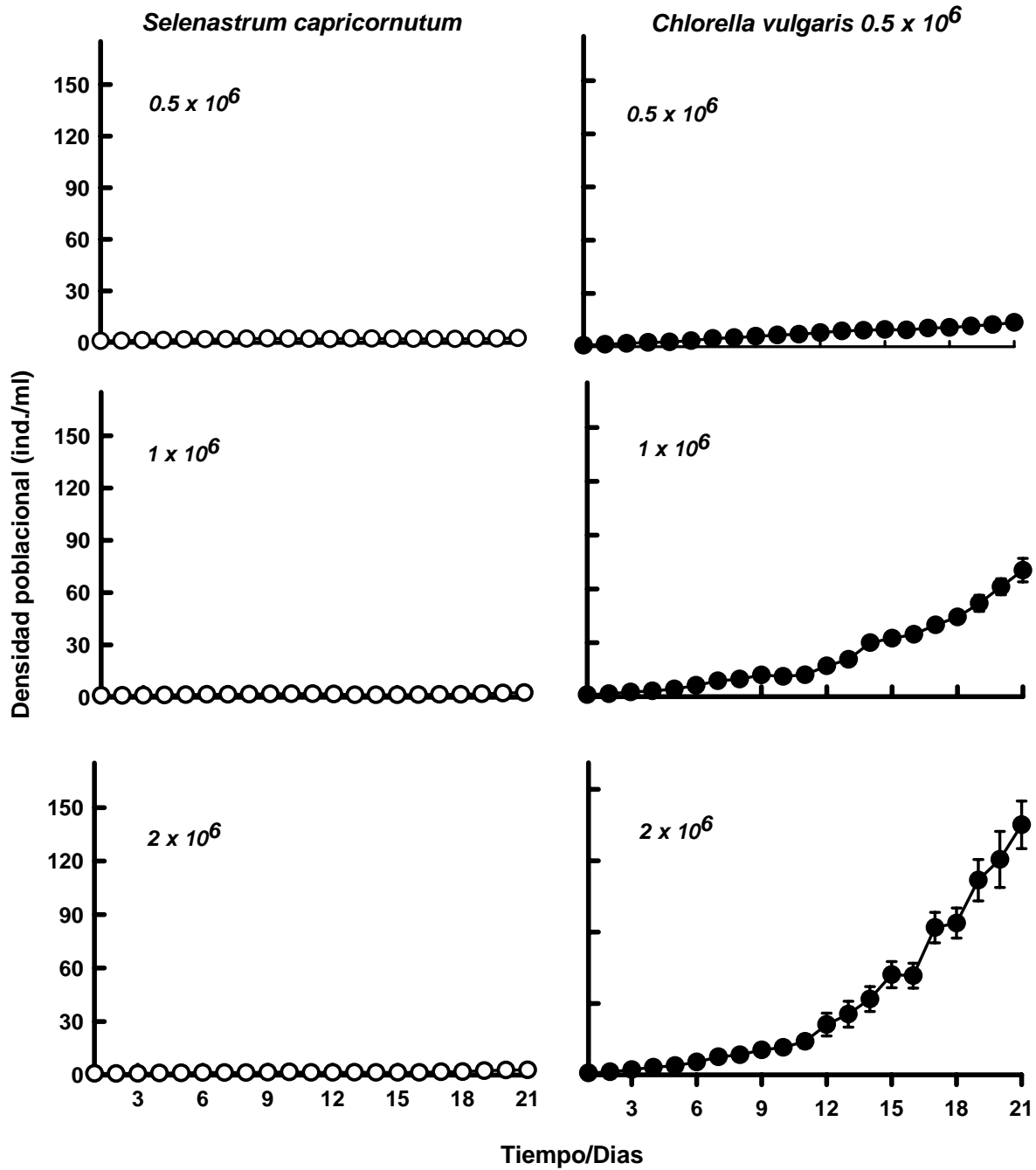


Figura 14. Crecimiento poblacional de *B. patulus* alimentado con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*. Los promedios y el error estándar están basados en cuatro replicas.

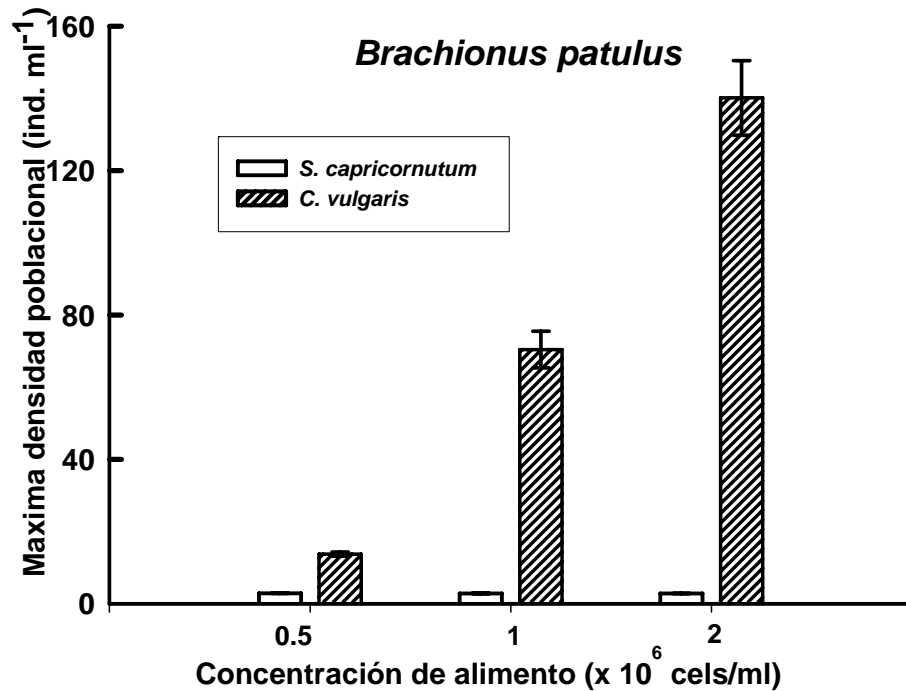


Figura 15. Máxima densidad poblacional alcanzada por *B. patulus* en relación a diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 9. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la máxima abundancia de *B. patulus* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ** = Muy significativo ($p < 0.005$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. patulus</i>				
Especie de alga (A)	1	30997.53	30997.53	210.04***
Densidad del alga (B)	2	16034.16	8017.08	54.32***
Interacción de A X B	2	16062.44	8031.22	54.42***
Error	18	2656.4	147.58	

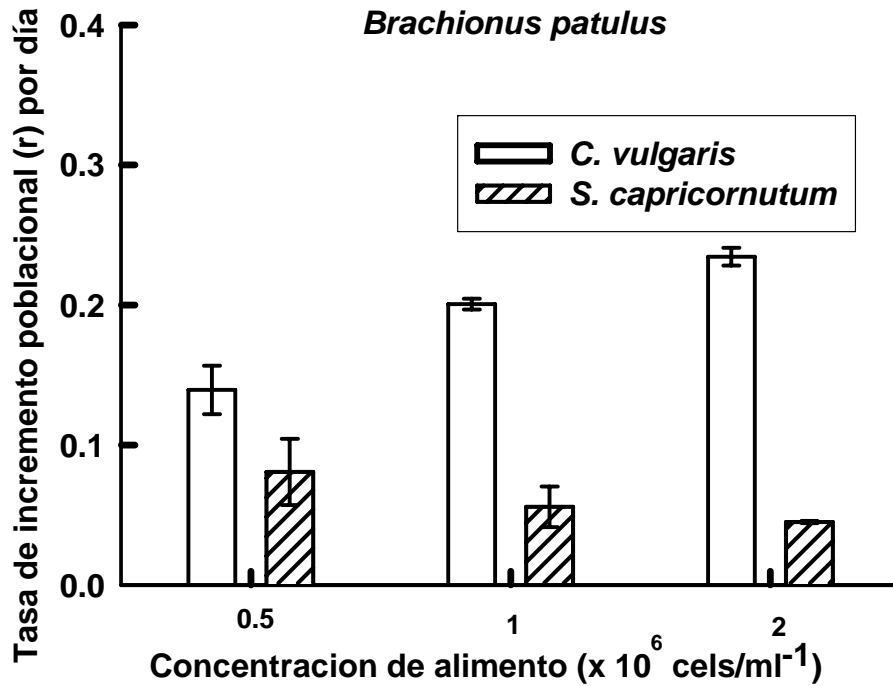


Figura 16. Tasa de crecimiento poblacional por día de *B. patulus* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 10. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la tasa de crecimiento poblacional de *B. patulus* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* y *S. capricornutum*. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ns = no significativo ($p > 0.05$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. patulus</i>				
Especie de alga (A)	1	0.102	0.102	137***
Densidad del alga (B)	2	0.003	0.001	2.38ns
Interacción de A X B	2	0.017	0.008	11.77***
Error	18	0.013	0.0007	

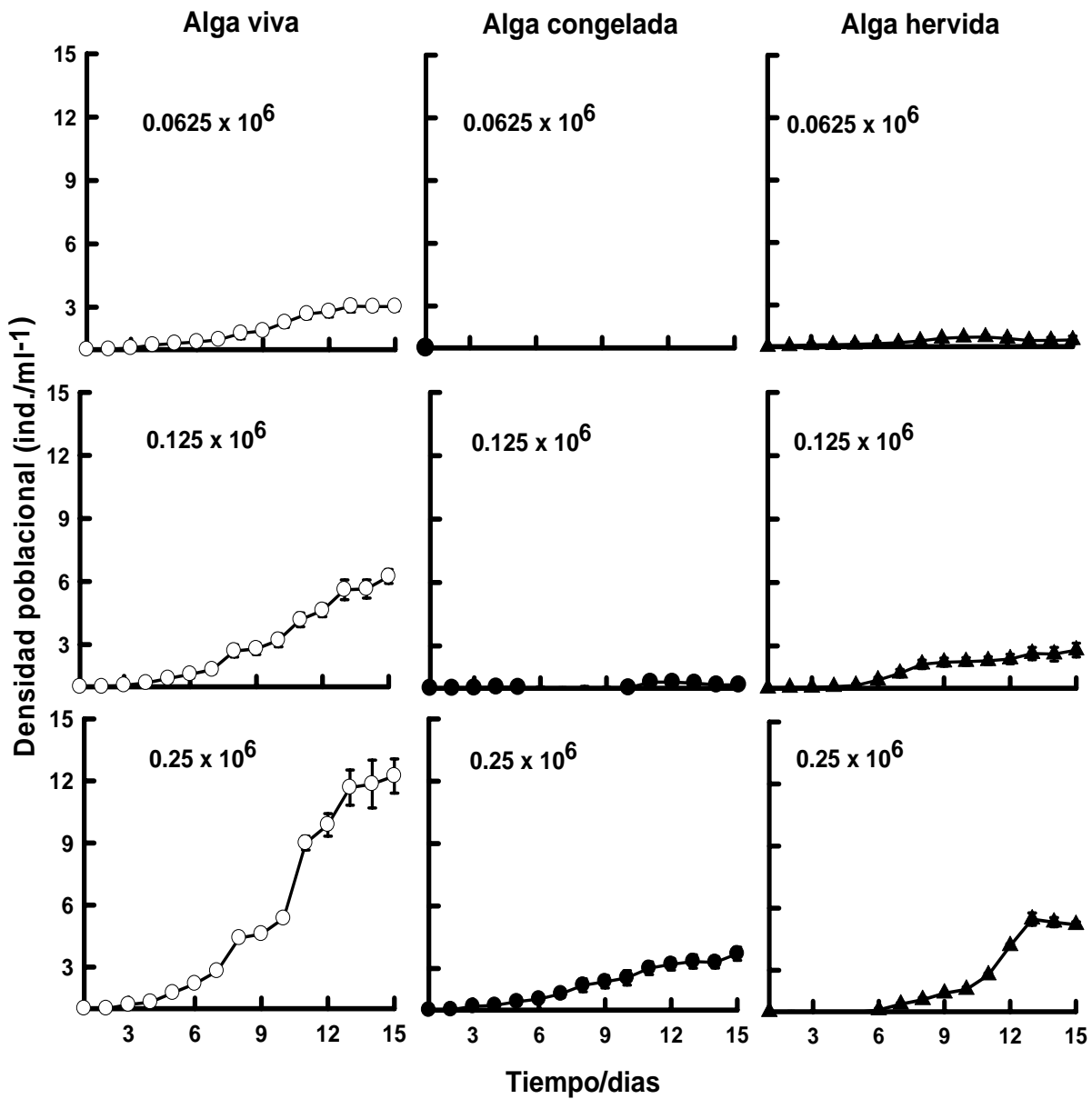


Figura 17. Crecimiento poblacional de *B. patulus* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* viva, congelada y hervida. Los promedios y el error estándar están basados en cuatro replicas.

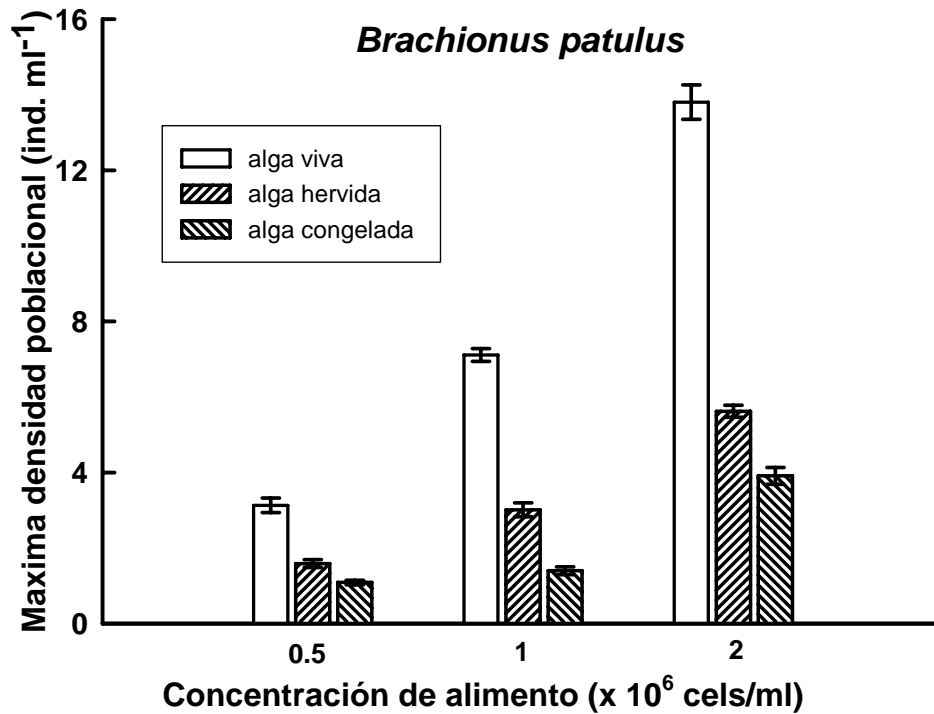


Figura 18. Máxima densidad poblacional alcanzada por *B. patulus* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* viva, hervida y congelada. Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 11. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la máxima abundancia de *B. patulus* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* en forma viva, hervida y congelada. GI = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>GI</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. patulus</i>				
Presentación del alga (A)	2	236.7	118.35	169.65***
Densidad del alga (B)	2	183.97	91.98	131.86***
Interacción de A X B	4	51.79	12.94	18.56***

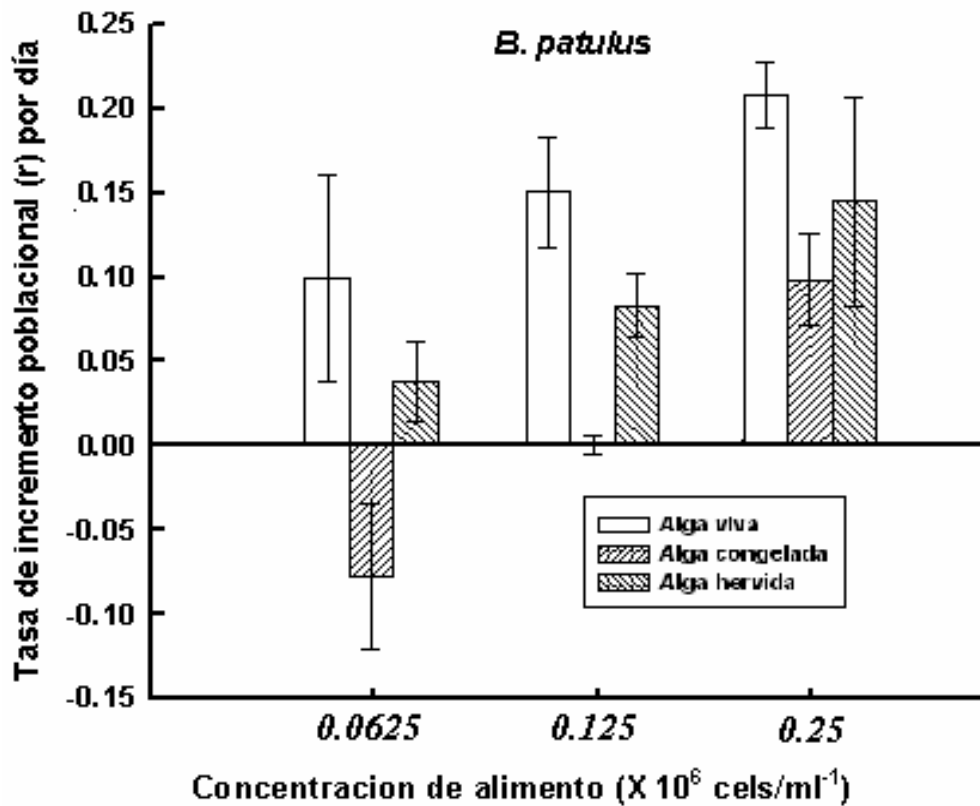


Figura 19. Tasa de crecimiento poblacional por día de *B. patulus* en relación con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* (viva, hervida y congelada). Los valores representan el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 12. Resultados del análisis de varianza de dos factores de la tasa de crecimiento poblacional de *B. patulus* alimentado con diferentes concentraciones de *C. vulgaris* en forma viva, hervida y congelada. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, SM = promedio de cuadrados; F = F-radio, ns = no significativo ($p > 0.05$), *** = Altamente significativo ($p < 0.001$).

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Gl</i>	<i>SC</i>	<i>SM</i>	<i>F</i>
<i>B. patulus</i>				
Presentación del alga (A)	2	0.1278	0.0639	49.68***

Densidad del alga (B)	2	0.1024	0.0512	39.83***
Interacción de A X B	4	0.0063	0.0015	1.227ns
Error	27	0.0347	0.0012	

VIII. DISCUSION

Varios trabajos han demostrado que un incremento en la disponibilidad de alimento causa un incremento en la densidad poblacional de varias especies de rotíferos, en general la mayoría de las especies de rotíferos necesitan una densidad inicial mínima de 0.1 millón de células de *C. vulgaris*, bajo esta concentración los rotíferos pueden mantenerse a una densidad baja o pueden morir completamente (Walz 1983).

La concentración umbral de *B. angularis* es aparentemente alrededor de 0.0625×10^6 céls/ml⁻¹, pero cuando aumenta la densidad de alimento hasta 0.25×10^6 céls/ml⁻¹ *B. angularis* creció en forma exponencial. Otros trabajos han demostrado que abajo del nivel umbral la población de zooplancton no crece y arriba del nivel umbral las especies de zooplancton crecen con distintas fases de crecimiento, hecho que coincide con lo señalado por Lampert y Sommer (1997). La tasa de crecimiento poblacional de *B. angularis* (0.41 – 0.63) concuerda con la de otros autores (Sarma et al. 2001; Walz, 1983) a concentraciones similares de alimento.

Sobre niveles óptimos, las oscilaciones en las poblaciones zooplanctónicas son drásticas y algunas veces las poblaciones pueden llegar a un nivel mínimo antes de llegar a recuperarse. Por otro lado en poblaciones que son constantemente expuestas a niveles subóptimos, alrededor del nivel umbral las oscilaciones son mínimas (Sarma y

Rao 1987) como podemos ver esto mismo pasa con *B. angularis* a la concentración mas baja (0.0625×10^6 cels/ml⁻¹) y a *B. patulus* con *C. vulgaris* viva y hervida a la misma concentración.

B. rubens empezó a crecer con una baja concentración de alimento de 0.0625×10^6 céls/ml⁻¹, pero cuando la concentración de alimento se incremento hasta 0.25×10^6 céls/ml⁻¹ la población mostró un gran incremento en su abundancia, varios trabajos previamente han publicado que existen diferencias para diferentes especies de rotíferos con respecto a las concentraciones umbrales. Este estudio nos sirve de forma preliminar para apoyar los siguientes estudios sobre crecimiento poblacional.

La concentración umbral de alimento a nivel de un individuo, es definido como la energía interna que solamente permite los requerimientos metabólicos mínimos necesarios, haciendo imposible su reproducción (Lampert y Sommer 1977). A nivel de población la concentración umbral de alimento es definido como el mínimo nivel de alimento para mantener en cero la tasa de crecimiento (Stemberger y Gilbert, 1985).

Bennet y Boraas (1989) presentan la hipótesis de que existe una interrelación entre la energía que utilizan los organismos para su reproducción, crecimiento y mantenimiento; de tal forma que, cuando los recursos son limitados, debe haber un balance entre éstas características. Por ejemplo, si más recursos son derivados hacia la reproducción, entonces necesariamente estará acompañado de pérdida de recursos para el crecimiento, mantenimiento o ambos. Tal vez es por esta razón, que de manera significativa, en todos los tratamientos establecidos en el presente estudio,

independientemente de la forma de alga utilizada, en general, las tres especies presentaron mayor densidad poblacional en base a la densidad del alimento suministrado.

Stemberger y Gilbert (1985), quienes estudiaron la relación entre diferentes concentraciones de alimento y la tasa de crecimiento para ocho especies de rotíferos de diferente tamaño encontraron que existe una relación significativamente positiva entre el tamaño corporal y la tasa de crecimiento poblacional. Aclarando que las especies pequeñas tienen un nivel de alimentación bajo, con lo que parecen estar bien adaptadas a vivir en ambientes con escasez de alimento, mientras que las especies grandes parecen estar restringidas a ambientes ricos en alimento, donde pueden prosperar gracias a su alto potencial reproductivo; esto es evidente para *B. angularis* que logro mantener su población a una concentración de 0.065×10^6 cels/ml⁻¹ con cualquier dieta lo cual no sucedió con *B. patulus* y *B. rubens* que son de mayor tamaño.

El alga congelada provoco un impacto negativo sobre el crecimiento poblacional de las tres especies de rotíferos a una concentración de 0.0625×10^6 cels/ml⁻¹ lo cual es comparable con el trabajo realizado por Sarma et al. (2007) donde prueban la respuesta de dos especies usadas en el presente estudio (*B. angularis* y *B. patulus*) a concentraciones comparables.

Cuando ofrecemos un alga en buenas condiciones, los rotíferos muestran un incremento en la abundancia poblacional al incrementar la disponibilidad de alimento en el medio (Nandini et al., 2007). Esto fue observado para todas las pruebas de tres

especies de rotíferos en tratamientos con alga viva, de cualquier modo dependiendo la forma en la cual es ofrecida el alga, esta puede llegar a no ser apropiada para un buen crecimiento de los rotíferos. Usualmente el alga congelada llega a ser difícil de digerir y así las tasas de crecimiento de los rotíferos pueden ser mas bajas.

El hecho de que las tres especies presenten el más bajo crecimiento poblacional consumiendo alga congelada, se puede deber a la baja digestibilidad del alga, ya que Becker (1986) señala que *C. vulgaris* presenta 51% de digestibilidad cuando el alga es secada por congelamiento y 77% cuando se hierve. Esto ha sido previamente mostrado para dos especies de rotíferos (*B. patulus* y *B. calyciflorus*) a concentraciones distintas a las usadas en el presente estudio (Pavón, 2000). En el presente estudio, la respuesta de crecimiento poblacional al ofrecerles alga hervida o congelada fue diferente. Por ejemplo el alga congelada promovió hasta cierto punto el crecimiento poblacional de *B. angularis* y *B. rubens* principalmente bajo la mas alta concentración de alimento probada. Cuando ofrecimos *C. vulgaris* hervida se obtuvieron las mas bajas abundancias poblacionales de *B. angularis* y *B. rubens* en comparación con el alga viva. Además las concentraciones de alimento también tuvieron un papel importante en la interacción con la forma de la dieta para soportar los crecimientos poblacionales de las diferentes especies.

Enríquez et al. (2003) mencionaron que la calidad del alga disminuye al congelarla y han mostrado que *Scenedesmus acutus* hervida tiene ligeramente niveles más bajos de nitrógeno y fósforo. Por otro lado con 2 especies de rotíferos (*B. calyciflorus* y *B. patulus*) Pavón et al. en 2001 trabajaron algo similar donde muestran que *C. vulgaris*

congelada tuvo los valores mas bajos de tasa de crecimiento poblacional para *B. patulus* lo cual concuerda con lo obtenido en el presente trabajo.

Es claro que la calidad nutricional de las dietas controlan la abundancia del zooplancton (Sarma et al., 1998) y se ha visto que las limitaciones del aporte por las microalgas puede ser, por algunos nutrientes esenciales como el nitrógeno o el fósforo o, de igual importancia, el contenido celular de compuestos bioquímicos como aminoácidos, ácidos grasos o vitaminas. Dentro de las especies de microalgas que se han utilizado como alimento, está bien establecido que el uso de *C. vulgaris* incrementa la cantidad de aminoácidos y proteínas que asimilan los rotíferos y cladóceros pues la composición en % de materia seca de esta especie es 51-58 de proteínas, 14-22 de lípidos, 12-17 de carbohidratos y 4-5 de ácidos nucleicos (De Pavón, 2000).

Las densidades de alga probadas en el presente trabajo han sido utilizadas para diferentes rotíferos planctónicos y no planctónicos, por ejemplo Nandini et al., (2007) probaron el efecto de diferentes concentraciones de alga (0.025×10^6 a 1.5×10^6 cels/ml¹) de *C. vulgaris* sobre el crecimiento poblacional de 5 especies de rotíferos y encontraron que al incrementar la disponibilidad de alimento incrementaba la abundancia poblacional de los rotíferos; sin embargo éstos autores solamente probaron el alga viva y por lo tanto sus resultados no pueden explicar completamente las desviaciones observadas con el alga muerta. Las densidades máximas de las especies de rotíferos aquí probadas variaron dependiendo de la forma de la dieta y de la densidad. De cualquier modo estos están dentro del rango conocido para varias especies de rotíferos bajo densidades de alga comparables (Nandini et al., 2007).

En lo que se refiere a las diferentes formas y especies de alga utilizadas, es importante señalar que se cultivó el alga con los mismos nutrientes y bajo las mismas condiciones ambientales, el factor de calidad nutricional no es alterado; sin embargo, la respuesta entre las tres especies fue diferente, lo que nos indica que sus hábitos alimenticios son diferentes en la naturaleza (Wallace, 1991).

Durante el desarrollo del presente trabajo, el empleo de *Selenastrum capricornutum* no permitió un buen crecimiento de *B. patulus*, mientras que *C. vulgaris* como alimento vivo, permitió el crecimiento adecuado, de las tres especies de rotíferos, esto se debe a que son especies que presentan características nutricionales adecuadas para el crecimiento de zooplancton (Vega Quintero, 1997; Cooney, et al., 1992) y se han utilizado exitosamente en trabajos anteriores (Sarma, et al., 1997; Sarma, et al., 1999; Larios Jurado, 1999; Díaz et al. 2006). El tamaño de las partículas que se considera adecuado para un crecimiento óptimo en *B. patulus* se encuentra entre las 5 y las 10 μm y las células de *C. vulgaris* y *S. capricornutum* presentan un diámetro de 5 μm , el cual también es el tamaño apropiado para la alimentación de otros braquiópodos de menor tamaño como *B. rubens* y *B. angularis* (Routhaupt, 1990b; Nandini et al., 2007), además, cuando en el ambiente natural se presentan partículas alimenticias menores al tamaño óptimo, las poblaciones de rotíferos tienden a disminuir la tasa de filtración si la concentración de éstas aumenta, a su vez la tasa de ingestión aumenta en forma lineal hasta un nivel máximo, el cual está determinado por la tasa de almacenamiento y la tasa de evacuación intestinal y, por otro lado, cuando la concentración de alimento es

baja, los individuos colectan y procesan un gran número de partículas sin interferencia entre éstas.

Estudios concernientes al uso de *S. capricornutum* como alimento vivo para el crecimiento de *B. patulus* no han sido publicados hasta ahora, los valores obtenidos respecto a la densidad máxima son comparables con los de Sarma et al. (2001) Bajo una similar densidad de alimento usada (1×10^6 cels/ml⁻¹) de *C. vulgaris* y reportan una abundancia máxima de 109 ind/ml⁻¹, de igual modo sucede con los valores de r donde ellos reportan un valor de 0.19 ± 0.01 a 0.37 ± 0.01 , mientras que en el presente estudio fue de 0.13 ± 0.01 a 0.23 ± 0.006 dependiendo de la concentración de alimento. Este estudio muestra que *C. vulgaris* es mejor como alimento vivo comparado con *S. capricornutum* para obtener un mejor crecimiento poblacional de *B. patulus*.

La respuesta de los rotíferos a diferentes dietas de alga es de interés no solo para ecologistas acuáticos sino también en acuicultura. Por ejemplo, numerosos estudios han sido realizados sobre el zooplancton usando diferentes microalgas de agua dulce a diferentes proporciones, por ejemplo Flores-Burgos et al. (2003) probaron el efecto de *C. vulgaris* y *Scenedesmus acutus* en diferentes proporciones sobre cuatro especies de zooplancton incluyendo dos especies de rotíferos (*B. calyciflorus* y *B. patulus*) y dos especies de cladóceros.

La máxima densidad poblacional a la que pueden llegar los rotíferos esta dada por varios factores como: La digestibilidad, la calidad nutricional y la cantidad de las células algales los cuales pudieron ser los factores que influenciaron los patrones de

crecimiento de los rotíferos mientras que los factores ambientales que afectan mayormente la edad-específica, sobrevivencia y reproducción son la temperatura, la calidad del alimento, la cantidad de alimento dotación genética, y tipo de reproducción (Nogrady, 2006).

El zooplancton de agua dulce es ideal para evaluar el papel de los factores bióticos y abióticos a nivel de población porque tienen un corto ciclo de vida, plasticidad fenotípica y se pueden cultivar fácilmente en volúmenes pequeños (Lampert y Sommer 1997). Son pequeños (entre 45 μ m y 2.5mm), sensibles y rápidamente responden a cambios en la calidad y la cantidad de alimento, además de que cambios en la concentración de alimento han sido ampliamente usados para interpretar variaciones estacionales de zooplancton en la naturaleza en cuerpos de agua y lagos (Edmondson 1957).

La abundancia de alimento ejerce una mayor influencia sobre las dinámicas poblacionales de los rotíferos en la naturaleza, esto es evidente debido a la tasa de natalidad que crece después de la fertilización, además la cerrada relación entre la abundancia de alimento y la tasa de natalidad en cuatro lagos ingleses, por otro lado diferentes especies de alimento tienen diferente efecto sobre la tasa reproductiva (Edmondson, 1965), en este contexto Pourriot (1957, 1965) examinó las respuestas de varias especies de rotíferos alimentados con diferentes especies de alga. Usando el número de descendientes de cada individuo después de un periodo de entre 7 y 14 días como un índice del valor nutritivo y encontró que había diferencias dependiendo de la especie de alga probada. Los cultivos con mayor fertilidad eran aquellos que crecieron con algas pequeñas y de forma simple. Ito (1955, 1957) encontró que el máximo

crecimiento en cuanto a calidad y cantidad de alimento han sido citadas varias veces como los factores responsables o relacionados con la producción de machos (King, 1967).

El alga muerta forma parte del detritus y así llega a ser una importante fuente de alimento para ciertos rotíferos en la cadena alimenticia detrítica (Biddanda y Pomeroy 1988). El detritus en forma natural contiene bacterias además de materia orgánica en descomposición. Aunque los rotíferos se alimentan de bacterias y materia orgánica en descomposición en la naturaleza es difícil separarlos y por lo tanto la influencia del alga muerta sobre el crecimiento poblacional de los rotíferos es menos clara (Dumont 1977). En la naturaleza la disponibilidad del alga congelada es probablemente mas común (Psenner y Sattler 1998) que el alga en forma hervida, con posible excepción en regiones termales o regiones de actividad volcánica (Sperling 1975). Algunas especies del genero *Brachionus* son encontrados en lagos congelados y regiones termales (Koste, 1978). Por lo tanto ofrecer alga en forma hervida y congelada a los rotíferos probablemente no es completamente inusual.

Con base en la utilización de esferas saborizadas y sin sabor, Rothhaupt (1990a), considera que en general, las especies de *Brachionus* son comedores "generalistas" con escasa habilidad para discriminar alimento, por otro lado, Charoy (1995) describe la presencia de mecano y quimiorreceptores entre los cilios pseudotrunciales de rotíferos, mencionando que cada receptor está ligado directamente, o a través de un ganglio, al cerebro, el cual enerva todos los músculos; por lo que la estimulación de estas células sensoriales por las partículas alimenticias, podría afectar la conducta natatoria de los

rotíferos y así aumentar o disminuir su tasa de filtración. Sin embargo no se sabe cómo estos mecano y quimiorreceptores funcionan en la selectividad de alga viva y alga muerta y si este factor es especie específico o sólo para género (Pavón, 2000).

Se propone estudiar el efecto de *S. capricornutum* hervida y congelada sobre las mismas especies de rotíferos a concentraciones similares (0.5×10^6 , 1×10^6 y 2×10^6 cels/ml⁻¹), además de establecer las concentraciones umbrales de *B. angularis* y *B. rubens* ya que fueron las especies que tuvieron un buen crecimiento poblacional con el uso de esta alga. Por otro lado sería interesante probar el efecto de *S. capricornutum* con otras especies de rotíferos.

IX. CONCLUSIONES

- Cuando los cultivos se mantienen en condiciones normales (alga viva), las tres especies presentan crecimiento poblacional en relación a la abundancia de alimento, aunque el alga congelada no permite un buen crecimiento poblacional de las especies, puede permitir el mantenimiento de la población por 2 ó 3 días, el cual puede usarse cuando no hay disponibilidad de alga viva.
- Independientemente de la forma del alimento suministrado, la respuesta que presentan los tres braquiódidos respecto a la abundancia máxima para alcanzar ésta, es diferente, ya que *B. patulus* alcanza mayores densidades en más días que *B. rubens* y *B. angularis*.
- Se encontraron diferencias en los rotíferos alcanzaron una densidad máxima semejante cuando se alimentaron con *Selenastrum capricornutum* que cuando se les suministro *Chlorella vulgaris*, con lo que concluimos que es buena para el cultivo de estas especies.
- La respuesta de las tres especies de rotíferos fueron muy variables lo que explica diferencias en las dietas de las especies en la naturaleza, esto también explica en la mayoría de los trabajos usan *C. vulgaris* para el cultivo de braquiódidos lo que probablemente nos dice que es una especie de alga con mayor aceptabilidad para los braquiódidos.

X. ANEXO 1

Para el cultivo y cosecha de *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*

La cepa de *Chlorella vulgaris* que se cultiva de manera cotidiana en el Laboratorio fue aislada del aire (Vega Quintero, 1996), mientras la cepa *Selenastrum capricornutum* fue adquirida en el Instituto Mexicano de la Tecnología del Agua (IMTA) que se encuentra en Cuernavaca, Mor. Se utilizó como medio de cultivo el Medio Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988) ver anexo 4, con Ph de 7.5, el cual es enriquecido con bicarbonato de sodio (Sarma, 1996) en botellas plásticas de dos litros. Los cultivos se mantienen a T° de 25 ± 1 ° C, con aireación constante y luz difusa en forma continua.

Para la cosecha de la microalga, los cultivos se dejan crecer de una concentración inicial entre 0.5 y 1.0×10^6 cels.ml⁻¹ hasta su fase exponencial (aproximadamente 25×10^6 cels.ml⁻¹), lo cual dura entre 7 y 10 días, con el fin de garantizar una gran cantidad de células y su buen estado nutricional (Pavón, 2001), cuando se tiene la concentración adecuada, se retira la aireación de las botellas y se mantienen en el refrigerador durante aproximadamente cuatro días para permitir la sedimentación de las células y posteriormente hacer el decantado de las botellas. Una vez cosechada el alga se concentra y se puede mantener en buenas condiciones en el refrigerador (3 ± 1 °C) hasta por 14 días.

XI. ANEXO 2

Características generales de los rotíferos

Los rotíferos (Rotifera) constituyen una gran clase de pseudocelomados dentro de la línea de los alscuelmintos, son los metazoos más pequeños y son organismos eutélicos, compuestos de alrededor de un millar de células y cuyo cuerpo está cubierto con una cutícula delgada y flexible que se extiende sobre la hipodermis. Con algunas excepciones, el cuerpo de los rotíferos se encuentra dividido en cabeza, cuello, tronco y pie, mediante pliegues. Se han descrito aproximadamente 2000 especies, las cuales poseen dos características distintivas; primero la región ciliada llamada corona que constituye la cabeza en la región apical y tiene una función locomotora y de alimentación al mismo tiempo; segundo, el mástax (una “faringe” muscular) formado por un grupo de duras mandíbulas con el nombre de trofi, el cual se utiliza para la identificación de género a especie (De Pavon, 2000).

La clasificación que establecen Nogrady et al. (1993) es la siguiente:

Phylum: ROTIFERA

Clase: MONOGONONTA

Brachionus patulus

Orden: PLOIMIDA

(Müller)

Familia: BRACHIONIDAE

Genero: BRACHIONUS

Especie: *Brachionus angularis*

Brachionus rubens

XII. ANEXO 3

Preparación del medio EPA

El medio EPA se prepara disolviendo 95 mg de NaHCO_3 , 60 mg de CaSO_4 , 60 mg de MgSO_4 , 4 mg de KCl por litro de agua destilada (Anon. 1985).

XIII. ANEXO 4

Medio de Cultivo Bold Basal

Es un medio cuya composición es:

1. NaNO_3	250 gr L^{-1}
2. MgSO_4	75 gr L^{-1}
3. K_2HPO_4	75 gr L^{-1}
4. KH_2PO_4	75 gr L^{-1}
5. NaCl	25 gr L^{-1}
6. EDTA	50 gr+31gr de KOH L^{-1}
7. FeSO_4	4.98 gr L^{-1} + (1 ml H_2SO_4 L^{-1})
8. H_3BO_3	11.42 gr L^{-1}
9. CaCl_2	25 gr L^{-1}
10. Elementos Traza:	
• ZnSO_4	8.82 gr L^{-1}
• MnCl_2	1.44 gr L^{-1}
• MoO_3	0.71 gr L^{-1}
• $\text{MoO}_3\text{CuSO}_4$	1.75 gr L^{-1}
• $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$	0.49 gr L^{-1}



XIV. LITERAURA CITADA

- Anónimo, 1985. Methods of Measuring the acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms. US Environment Protection Agency. EPA/600/4-85/013.
- Becker, E. W. 1986. Nutritional properties of microalgae: Potentials and constraints. In: CRC handbook of microalgal mass culture. Ed. by Richmond, A. Pp 339-420.
- Bennett, W. N. & Boraas, M. E. 1989. A demographic profile of the fastest growing metazoan: A strain of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Oikos*. 55: 365-369.
- Biddanda, B.A., Pomeroy, L.R. 1988. Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater. 1. Microbial succession. *Marine Ecology Progressive Series* 42: 79-88.
- Borowitzka, M.A. & Borowitzka, L. J. 1988. *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, London.
- Brilliant, M.G. S. & MacDonald, B.A. 2002. Postingestive sorting of living and heat-killed *Chlorella* within the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 290 (2003) 81–91 91.
- Brito, D.; Milani, N. & Pereira, G. 2006. Tasa de filtración e ingestión de *Simocephalus vetulus* (Müller, 1776) (Crustacea: Cladocera) alimentado con *Selenastrum capricornutum* Printz, 1914 y *Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890. *Interciencia*. 31:010.

-
-
- Brown, M.R. 1995. Effects of storage and processing on the ascorbic acid content of concentrates prepared from *Chaetoceros calcitrans*. *Journal of Applied Phycology* 7: 495-500.
 - Comas, G. A. 1996 Las chlorococcales dulciacuícolas de Cuba. J. Cramer. Stuttgart. Alemania. Pp. 105, 106.
 - Cooney, J. D.; DeGraeve, G. M.; Moore, E. L.; Palmer, W.D. & Pollock, T. L. Effects of Food and Water Quality on Culturing of *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 11:6. p 823-837.
 - Díaz, D.; Santos, M. G.; Silva, B. M.; Adabache, O. A. & Rico, M. R. 2006. Sexual reproductive biology of *Brachionus quadridentatus* Hermanss (Rotifera: Monogononta). *Hidrobiologica*. 16:001. p 81-87.
 - Dumont, H. J., 1977. Biotic factors in the population dynamics of rotifers. *Archiv für Hydrobiologie Beihaft* 8: 98-122.
 - Edmondson, W. T. 1957. Trophic relations of the zooplankton. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 76: 225-246.
 - Edmonson, W.T. 1965. Reproductive Rate of Planktonic Rotifers as Related to Food and Temperature in Nature. *Ecological monographs*. 35:1. pp 66-111.
 - Ehrenberg, 1832. In relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. *Acta hydrochim. Hydrobiol.* **30** (2002) 2–3, 128–140.
 - Elías-Gutiérrez & S. S. S. Sarma. 1998. Phylum: Rotifera. *Enciclopedia de Quintana Roo*. Mexico. Pp 327-343.
 - Ellison, M. E. & Brett, M. T. 2006. Particulate phosphorus bioavailability as a function of stream flow and land cover. *Water research*. 40 (2006) 1258 – 1268.
-
-

-
-
- Enríquez-García, Nandini S & Sarma SSS. 2003. Food type effects on the population growth patterns of littoral rotifers and cladocerans. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 31(2): 120-133.
 - Fairchild, J. F.; Ruessler, D. S.; Haverland, P. S. & Carlson, A. R. Comparative Sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to Sixteen Herbicides. *Archives of environmental contamination and toxicology.* 32, 353–357.
 - Fernández-Araiza, M.A., Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2005. Combined effects of food concentration and temperature on competition among four species of *Brachionus* (Rotifera). *Hydrobiología* 546: 519-534.
 - Flores Burgos, J. 1997. Estudio sobre los rotíferos como indicadores de calidad del agua. Tesis de Licenciatura. U.N.A.M. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala. México.
 - Flores-Burgos, J. Sarma S. S. S. & Nandini S. 2003. Population Growth of Zooplankton (Rotifers and Cladocerans) Fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in Different Proportions. *Acta hydrochim. Hydrobiol.* 31 (2003) 3, 240–248.
 - Galkovskaja, G. A. 1987. Planktonic rotifers and temperature. *Hydrobiologia* 147: 307-317.
 - King, Ch. E. & Miracle, M.R. 1980. A perspective on aging in rotifers. *Hydrobiologia.* 73:13-19.
 - Koste, W. 1978. Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Borntraeger, Berlin, Stuttgart. vol. Vol. 1, 673 Pages, Vol. 2, 234 Pages.
-
-

-
-
- Hindak, F., 1990. "Studies of the Chlorococcal Algae (*chlorophyta*)", V. *Biologické Práce* (Slovenskej Akademie Vied), Bratislava, 36:1-225.
 - Larios Jurado, P.S. 1999. Crecimiento poblacional de los rotíferos *Brachionus calyciflorus* Pallas, *B. patulus* (Müller) y *Asplanchna* (Leydig) en relación a diferentes alimentos bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. U.N.A.M. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala. México.
 - Linton, S. & Goulder, R. 1998. The duckweed *Lemna minor* compared with the alga *Selenastrum capricornutum* for bioassay of pond-water richness. *Aquatic botanic*. 60:27-36.
 - Margalef, R., 1983. *Limnología*. Ed. Omega, España, p 1110.
 - Nandini, S., Sarma, S.S.S., Amador-López, R.J. & Bolaños-Muñoz, S. 2007. Population growth and body size in five rotifer species in response to variable food concentration. *Journal of Freshwater Ecology* 22: 1-10.
 - Nogrady, T.; Wallace, R.L. y Snell, T.W. 1993. *Rotifera*. Volume 1: Biology, Ecology and Systematics. SPB Academic Publishing bv. 12 pp.
 - Nogrady, T.R.L., Wallace, T. Snell & Ricci, C. 2006. *Rotifera*, Biology, Ecology y Sistemática. 2nd edition. Kenobi productions & Backhuys publishers. Belgium. Pp 93, 95, 97, 99-101, 106, 110 y 115.
 - Ooms-Wilms, A. 1998. On the food uptake and population dynamics of rotifers in a shallow eutrophic lake. *Academisch Proefschrift*. 150 pp.
 - Pavón, Meza, L. 2000. Efecto *Chlorella vulgaris* viva y muerta sobre el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* PALLAS y *B. patulus*
-
-

-
-
- (MÜLLER) (Rotifera: Brachionidae) bajo condiciones de laboratorio. Tesis de maestría. U. N. A. M. Instituto de ciencias del mar y limnología. México.
- Pavón-Meza, E. L.; S. S. S. Sarma & S. Nandini. 2001. Effect of different densities of live and dead *Chlorella vulgaris* on the population growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Rev. Biol. Trop.* 49 (3-4). Pp 895-902.
 - Pavón-Meza, E. L.; S. S. S. Sarma & S. Nandini. 2004. Combined effects of food (*Chlorella vulgaris*) concentration y rotíferos en the population growth of *Brachionus havanaensis* (rotifera: Brachionodae). *Journal of freshwater ecology*, 19:4.
 - Pennak, R. W. 1989. Fresh-water invertebrates in the United States. The Ronald-Press Co. New York. Pp 168-187. Rao, T.R. y Sarma, S.S.S. 1985. Mictic and amictic modes of reproduction in the rotifer *Brachionus patulus* Müller. *Curr. Sci.* 54(11): 499-501.
 - Peña, A. F. 2003. Crecimiento poblacional de tres rotíferos y dos rotíferos planctónicos en relación con el tipo de dieta. Tesis de maestría. U. N. A. M. Posgrado en ciencias del mar. México.
 - Pourriot, R. 1977. Food and feeding habits of Rotifera. *Archiv für Hydrobiologie Beihaft 8*: 243-260.
 - Price, E. E.; Parkerton, T. F. & Dickson, K. L. 1990. Use of *Selenastrum capricornutum* and microfeast as food for *Daphnia pulex*. *Bull environ. Contam. Toxicol.* 44:59-66.
 - Psenner, R., Sattler, B. 1998. Life at the freezing point. *Science* 280: 2073-2074.
-
-

-
-
- Rico-Martínez, R. & Dodson, S.I. 1992. Aislamiento y cultivo de rotíferos de agua dulce *B. rubens*. Memorias del Congreso Nacional de Zoología. Tomo I, pp. 45-48.
 - Rothhaupt, K. O. 1990a. Differences in particle size-dependent feeding efficiencies of closely related rotifer species. *Limnol. Oceanogr.* 35 (1). 16-23.
 - Rothhaupt, K. O. 1990b. Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particles sizes. *Limnol. Oceanogr.* 35 (1). Pp 24-32.
 - Rottmann, R.W. Shireman, J.V. & Lincoln E. P 1991. Comparison of three live foods and two dry diets for intensive culture of grass carp and bighead carp larvae. *Aquaculture*, 96: 269-280.
 - Sarma, S.S.S. 1985. Effect of food density on the growth of the rotifer *Brachionus patulus* Mueller. Bull. Bot. Soc. Sagar. 32:54-59.
 - Sarma, S.S.S. & Rao T. R. 1987. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Müller. *Arch. Hydrobiol.* 111: 245-253.
 - Sarma, S.S.S. 1991. Rotifers and Aquaculture. Environment & Ecology. 9(2):414-428.
 - Sarma, S.S.S. 1996. Rotifer culture systems. In: International workshop on rotifer culture systems. UNAM Campus Iztacala, México: 28-56.
 - Sarma, S.S.S., Arévalo Stevenson, R. & Nandini, S., 1998. Influence of food (*Chlorella vulgaris*) concentration and temperature on the population dynamics of
-
-

Brachionus calyciflorus Pallas (Rotifera) isolated from a subtropical reservoir in México. Ciencias Ergo Sum 5 (1):77-81.

- Sarma, S. S. S.; Fiogbe, E. D. & Kestemont, P. 1999. Population growth of *Brachionus calyciflorus* pallas (Rotifera) in relation to algal(*Dictyosphaerium chorelloides*) density. *Advances in fish and wildlife ecology and biology*. Vol 2. 83-93.
- Sarma, S. S. S.; Larios, J. P. & Nandini, S. 2001. Effect of three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* (Rotifera:Brachionidae). *Rev. Biol. Trop.* 49(1):77-84.
- Sarma, S. S. S. & Nandini, S. 2002. Comparative Life table demography and population growth of *Brachionus macracanthus* DADAY, 1905 and *Platylas quadricornis* Ehrenberg 1832 (Rotifera: Brachionidae) in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. *Acta Hydrochim Hydrobiol.* 30(2-3): 128-140.
- Sládeček, V. 1983. Rotifers as indicators of water quality. Hydrobiología. 100:169-201.
- Snell, T.W. 1991. Improving the design of mass culture systems for the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. Proceeding of a U.S.- Asia Workshop. Honolulu,Hi. The Oceanic Institute. Pp 61-71.
- Sperling, J. A. 1975. Algal ecology of southern Icelandic hot springs in winter. *Ecology* 56: 183-190.
- Stemberger, R. S. & Gilbert, J. J. 1987. Rotifer Threshold Food Concentrations and the Size-Efficiency Hypothesis. *Ecology*, Vol. 68:1. pp. 181-187.

-
-
- Tavera, B. K. 2004. Efecto de la densidad y tipo de alimento (*Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*) sobre la dinámica poblacional de *Daphnia ambigua* (Crustacea: Cladocera). U.N.A.M. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México.
 - Walz, N. 1983. Individual culture and experimental population dynamics of *Keratella cochlearis* (Rotatoria). *Hydrobiologia* 107: 35-43.
 - Wetzel G. R., 1981. *Limnología*, Ed. Omega, Barcelona, pp 679.
 - Wallace, R.L. & Snell, T.W. 1991. Rotifera en: *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. James H. Trop y Alan (Eds) Academic Press Inc.
 - Yúfera, M. & Navarro, N. 1995. Population growth dynamics of the rotifer *Brachionus plicatilis* cultured in non-limiting food condition. *Hydrobiologia* 313/314: 399-405,
 - Vega Quintero, M. S. 1996. Caracterización y análisis bromatológico de una cepa monoalgal: *Chlorella vulgaris* Beijerinck colectada de la atmósfera con posible uso en acuicultura. Tesis de licenciatura U.N.A.M. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala. México.
 - Zarattini, & Mura, G. 2004. The effects of food type on length-weight growth, sexual differentiation and survival in *Chironomus ruffoi* (Anostraca) cultured under standard conditions. *Journal of crustacean biology*. 24(2): 225–231.