

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



**PRODUCCIÓN EN MASA DEL ROTÍFERO *Brachionus plicatilis*  
ALIMENTADO CON 4 DIFERENTES MICROALGAS, PARA SU USO  
COMO ALIMENTO VIVO DE LARVAS DE PECES MARINOS.**

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE  
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

**ALBERTO CARBAJAL LÓPEZ**

Las Agujas, Zapopan, Jalisco. Septiembre de 2008



Universidad de Guadalajara

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y  
Agropecuarias

*Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura  
en Biología*

818 / C. C. BIOLOGÍA

C. ALBERTO CARBAJAL LÓPEZ  
PRESENTE

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: Tesis e Informes opción Tesis con el título: "PRODUCCIÓN EN MASA DEL ROTÍFERO *Brachionus plicatilis* ALIMENTADO CON 4 DIFERENTES MICROALGAS, PARA SU USO COMO ALIMENTO VIVO DE LAS LARVAS DE PECES MARINOS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo el/la: DR. ARTURO F. MUHLIA MELO y el Asesor/a es el/la: M en C. JUAN CARLOS PÉREZ U. y el/la: DR. EDUARDO JUAREZ CARRILLO.

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

ATENTAMENTE  
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan., 18 de Septiembre del 2006.

"2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas.  
Don Benito Juárez García"

  
DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

  
DRA. LAURA GUADALUPE MEDINA CEJA  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

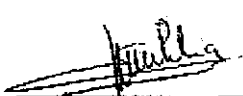
Dr. Fco. Marín Huerta Martínez  
 Presidente del Comité de Titulación,  
 Licenciatura en Biología.  
 CUCBA.  
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad tesis, con el título: "PRODUCCIÓN EN MASA DEL ROTIFERO *Brachionus plicatilis* ALIMENTADO CON 4 DIFERENTES MICROALGAS, PARA SU USO COMO ALIMENTO VIVO DE LARVAS DE PECES MARINOS" que realizó el pasante Alberto Carvajal López con número de código 396726155 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

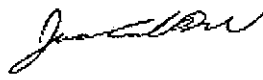
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente  
 Guadalajara, Jalisco, 28 de noviembre de 2007.

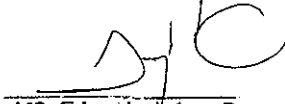
*Vobo*  
  

Dr. Arturo Muñoz Melo  
 Director de Tesis

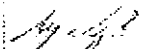
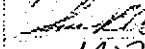



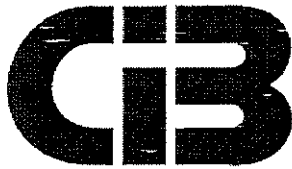
M.C. Juan Carlos Pérez Urbola  
 Asesor de Tesis



M.C. Eduardo Juárez C.  
 Asesor Interno

U  
 S  
 P

Nombre completo de los Señores(as) evaluados por el Comité de Titulación	Firma de aprobación	Fecha de aprobación
Cynthia Tenorio Ramirez		28/11/07
Alicia Roser Ramirez		28/11/07
Eduardo Ríos Jara		7/abril/08



Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste

Director de tesis: Dr. Arturo Muhlia Melo

Asesor de tesis: M.C. Juan Carlos Pérez Urbiola

Asesor Interno: M.C. Eduardo Juárez Carrillo

*A mis padres y abuelos*

## RESUMEN

Se estudió la producción del rotífero *Brachionus plicatilis* utilizando como dietas 4 especies de microalgas: *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). Los cultivos de rotíferos se llevaron a cabo en tanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio, con una capacidad de 190 l. El agua de cultivo fue mantenida a una temperatura constante de 28°C, salinidades de 25 – 30 ‰, e iluminación constante. Las microalgas fueron cultivadas en bolsas de 35 l. utilizando el medio f/2 formulado por Guillard y Ryther (1962). Las densidades de los cultivos fueron calculadas por medio de conteos diarios de células, y se alimentó a los rotíferos con 35 l. diarios de microalgas por tanque. De igual manera se realizaron conteos diarios de rotíferos para estimar las densidades alcanzadas con los diferentes tratamientos, obteniéndose un promedio de 150 rotíferos/ml, el análisis estadístico no encontró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en las densidades entre los distintos tratamientos. El efecto de la dieta en el tamaño de los organismos fue otra variable estimada en el presente estudio, no encontrándose diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). La productividad de cada dieta fue calculada estimando el número de rotíferos obtenidos por cantidad de alimento. Encontrándose que fue mayor el peso orgánico proporcionado en las dietas CH e ISO ( $p > 0.05$ ), pero obteniendo una mayor productividad con las dietas TE y NA ( $p > 0.05$ ).

# ÍNDICE

	Página
1. Introducción.....	8
2. Antecedentes.....	11
2.1. Los Rotíferos como Alimento Vivo en la Acuicultura.....	13
3. Justificación.....	17
4. Objetivos.....	18
4.1. Objetivo General.....	18
4.2. Objetivos Particulares.....	18
4.3. Hipótesis.....	18
5. Metodología.....	19
5.1. Material y Métodos.....	19
5.1.1. Cultivo de Microalgas.....	19
5.1.2. Cultivo de Rotíferos.....	21
5.2. Diseño Experimental.....	22
5.3. Procesamiento y Análisis de Muestras.....	23
5.3.1. Tamaño de los Rotíferos.....	24
5.3.2. Análisis Bromatológico.....	24
6. Resultados.....	28
6.1. Cultivos de Microalgas.....	28
6.2. Cultivos de Rotíferos.....	31
6.3. Resumen de los Resultados.....	34
7. Discusión.....	36
8. Conclusiones.....	38
9. Bibliografía.....	39

## INDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1. Peso orgánico de las células de las microalgas utilizadas como alimento para los rotíferos. ....	29
2. Concentraciones celulares y peso orgánico de microalgas por ración diaria de los diferentes cultivos. ....	34
3. Longitudes medias, concentraciones de rotíferos/ml en los tanques de cultivo, concentraciones microalgales en los tanques de rotíferos (millones de células/ml), y rendimiento obtenido en los rotíferos alimentados con las diferentes dietas .....	34
4. Contenidos nutricionales (en mg/g de peso seco) de las diferentes microalgas. ....	35
5. Contenidos nutricionales (en mg/g de peso seco) de los rotíferos alimentados con las diferentes dietas: .....	35



## INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Estructura interna de un rotífero. ....	14
2. Rotíferos <i>Brachionus plicatilis</i> , tomada de <a href="http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/wimsmall/extra/rotif7.html">http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/wimsmall/extra/rotif7.html</a> en línea el 20 de febrero de 2008. ....	15
3. <i>Chaetoceros calcitrans</i> , tomada de <a href="http://www.lib.noaa.gov/korea/korean_aquaculture/algae.htm">http://www.lib.noaa.gov/korea/korean_aquaculture/algae.htm</a> en línea el 20 de febrero de 2008. ....	20
4. <i>Isochrysis galbana</i> , tomada de <a href="http://www.lib.noaa.gov/korea/korean_aquaculture/algae.htm">http://www.lib.noaa.gov/korea/korean_aquaculture/algae.htm</a> en línea el 20 de febrero de 2008. ....	20
5. <i>Tetraselmis suecica</i> , tomada de <a href="http://www.empco.org/micro/aquaria.php">http://www.empco.org/micro/aquaria.php</a> en línea el 20 de febrero de 2008. ....	21
6. <i>Nannochloropsis oculata</i> , tomada de <a href="http://comenius.susqu.edu/bi/202/CHROMALVEOLATA/HETEROKONTAE/eustigmatophyta.htm">http://comenius.susqu.edu/bi/202/CHROMALVEOLATA/HETEROKONTAE/eustigmatophyta.htm</a> en línea el 20 de febrero de 2008. ....	21
7. Concentraciones de las diferentes microalgas cultivadas (en millones de células por ml) para alimentar a los rotíferos. <i>Chaetoceros calcitrans</i> (CH), <i>Isochrysis galbana</i> (ISO), <i>Tetraselmis suecica</i> (TE) y <i>Nannochloropsis oculata</i> (NA). ....	28
8. Peso orgánico por ración diaria (en gramos) de las diferentes microalgas con que se alimento a los rotíferos. <i>Chaetoceros calcitrans</i> (CH), <i>Isochrysis galbana</i> (ISO), <i>Tetraselmis suecica</i> (TE) y <i>Nannochloropsis oculata</i> (NA). ....	30
9. Longitudes de rotíferos (expresadas en micras) alimentados con diferentes microalgas. <i>Chaetoceros calcitrans</i> (CH), <i>Isochrysis galbana</i> (ISO), <i>Tetraselmis suecica</i> (TE) y <i>Nannochloropsis oculata</i> (NA). ....	31
10. Densidades de rotíferos (expresadas en rotíferos por ml) encontradas en los tanques de cultivos alimentados con las diferentes dietas monoalgales, <i>Chaetoceros</i>	

*calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). .....32

11. Producción de rotíferos (expresada en millones de rotíferos por g. de alimento) encontradas en los tanques de cultivos alimentados con las diferentes dietas monoalgales, *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). .....33

# 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la acuicultura es una actividad que puede ayudar a satisfacer las altas demandas de alimentos a nivel mundial. El cultivo de peces marinos es una alternativa para satisfacer dichas demandas, las cuales cada vez son más difíciles de cubrir ya que van en aumento y debido a la creciente sobre explotación de los recursos marinos.

Los recursos marinos han sido explotados desde la antigüedad pero debido al constante aumento de la población humana, la explotación pesquera se incrementa constantemente para satisfacer la demanda del recurso. Así, se tiene que durante el año 2002 la producción pesquera se estableció en 133 millones de toneladas (FAO, 2004). Hoy en día la alternativa más viable para lograr un incremento y satisfacer la creciente demanda de este recurso pesquero se sustenta en la acuicultura, que desde 1987 ha representado un 78.3 % del aumento en la producción pesquera (Tucker y Jory, 1991). Actualmente esta actividad representa alrededor del 42.7 % de la pesquería, y no deja de ser la única vía para lograr el incremento de esta producción (FAO, 2004).

En los últimos 30 años la acuicultura aumentó del 3,9 por ciento de la producción total en peso en 1970 al 29,9 por ciento en 2002. Este crecimiento sigue siendo más rápido que el logrado en cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal (FAO, 2004).

La práctica de la acuicultura, a pesar de ser una actividad más sofisticada y costosa que la pesca, sigue en aumento debido a que los recursos acuáticos naturales tienen su límite de producción ya que soportan solo una determinada tasa de explotación (Russell-Hunter, 1970; Ye, 1999) la cual ya ha sido alcanzada en el caso de muchas poblaciones o incluso ha sobrepasado los límites de su explotación sustentable (Martínez-Córdova, 1993; Pedini, 2000).

Por este motivo, el crecimiento de esta práctica ha estimulado una gran cantidad de estudios que han favorecido el desarrollo de nuevas tecnologías en varias áreas relacionadas con la domesticación de organismos acuáticos de interés comercial, como en el mejoramiento genético, el control o la prevención de enfermedades, el manejo del ambiente de cultivo y la nutrición (D'Abramo et al., 1997; Martínez-Córdova, 2002).

El desarrollo tan acelerado de la acuicultura en todo el mundo, con una tasa anual de crecimiento promedio cercana al 10 %, se debe en parte a que se ha conseguido cerrar el ciclo biológico de la mayoría de las especies que se cultivan comercialmente. Esto es muy importante ya que ha permitido la disponibilidad de larvas y juveniles a lo largo de todo el año, permitiendo la planificación de los ciclos de producción y la posibilidad de seleccionar tanto a los organismos reproductores como a las larvas, independientemente de las fluctuaciones del medio natural de donde se solía obtener la semilla (Lavens y Sorgeloos, 1996), y por consecuencia, la protección de los ecosistemas y las pesquerías tradicionales.

Hoy en día, aún cuando existen numerosas especies de peces marinos de importancia comercial, todavía faltan estudios que permitan tener un mayor conocimiento para la reproducción de especies en cautiverio. Aunque hay varias alternativas para el cultivo de peces no siempre son las más adecuadas debido a que las especies son muy diferentes y tienen características específicas y, por lo tanto, es necesario desarrollar técnicas de infraestructura y metodologías para la inducción al desove y supervivencia de las larvas. La finalidad de estas técnicas es lograr un nivel óptimo de aprovechamiento de los métodos y diseños de infraestructuras empleadas en el manejo y producción de especies de importancia comercial (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001).

Una de las principales causas que detienen el progreso en el cultivo comercial de muchos animales marinos es la falta de organismos juveniles o "semilla" (Droop, 1975; Hostmann, 1985), producción que a su vez se ve detenida por la falta de alimento de calidad para estos, especialmente microalgas y rotíferos en cantidades adecuadas. Este es un problema muy frecuente que requiere atención pues la falta de alimento en las primeras etapas de vida es el principal cuello de botella en la producción de peces marinos (Sarma y Nandini, 1997).

En el presente trabajo se pretende colaborar con las tecnologías de cultivos de apoyo para el óptimo desarrollo larvario de peces marinos haciendo énfasis en la producción masiva y la calidad alimenticia del rotífero *Brachionus plicatilis* ya que el cultivo larvario de muchas de las especies de peces cultivadas depende del abastecimiento de rotíferos como alimento vivo (Snell 1991), y de la utilización de este organismo como biocapsula, es decir como un vehículo para proporcionar ciertos nutrientes a los peces.

## 2. ANTECEDENTES

Aunque desde la antigüedad el hombre ha utilizado los recursos acuáticos y desarrollado la acuicultura de muy diferentes organismos, el desarrollo de las tecnologías base para el cultivo de peces marinos es muy reciente, tiene su origen en los años 70, específicamente desarrolladas para el cultivo de salmón mediante el empleo de jaulas flotantes. Este aspecto motivó la participación de piscicultores europeos quienes evaluaron el potencial de la producción de otras especies como: la dorada europea *Sparus aurata* y lubina *Dicentrarchus labrax* así como del rodaballo *Scophthalmus maximus* del Mediterráneo. Obteniendo de este último una producción de 15,000 toneladas métricas por año (Sorgeloos y Sweetman, 1993).

Mientras que en los años 70 los cultivos dependían casi completamente de la captura de larvas y juveniles silvestres para su engorda en estanques, tanques y jaulas, durante las últimas décadas se han domesticado completamente muchas especies (Lavens y Sorgeloos, 1996). Esto implica altas demandas de alimento vivo el cual debe ser de calidad ya que el desarrollo y crecimiento de los organismos cultivados depende en gran medida de la naturaleza y el contenido bioquímico del alimento proporcionado.

El cultivo larvario de muchos peces marinos depende del abastecimiento de rotíferos como alimento vivo (Snell, 1991), los rotíferos son muy importantes pues toman la energía que las microalgas obtienen de la luz solar y la transfieren en forma de energía química a los peces. Ya que el fitoplancton vivo es la mayor fuente de alimento para los organismos filtradores (Walne, 1974; Epifanio, 1979; Laing y Millican, 1986) su cultivo es esencial para la alimentación de los rotíferos utilizados en el cultivo larvario de peces.

La calidad nutricional del rotífero *Brachionus plicatilis* (Hirata, 1965) para el cultivo larvario de peces, depende de la transferencia de nutrientes del fitoplancton o las levaduras al animal (Whyte, 1990). Aunque, la composición química proximal del rotífero y su dieta

puede ser diferente, se sabe que las unidades constitutivas de macronutrientes, en especial los ácidos grasos, son trasferidos (Watanabe et al., 1983). Por ello es importante proporcionarles una dieta que cubra las necesidades alimenticias de los peces.

Los rotíferos son capaces de sintetizar ácidos grasos polinsaturados  $n_3$ , pero a niveles que son insuficientes para las demandas del desarrollo de las larvas de peces, por lo tanto, la acumulación de estos ácidos grasos en los tejidos del rotífero depende de fuentes exógenas como las microalgas que se le proporcionan como alimento al rotífero.

El contenido de ácidos grasos de los rotíferos es en extremo importante ya que los ácidos grasos polinsaturados  $n_3$ , particularmente el ácido eicosapentaenoico (EPA 20:5  $n_3$ ) y el docosahexaenoico (DHA 22:6  $n_3$ ), son esenciales para el desarrollo larvario de muchas especies de peces marinos (Scott y Middleton, 1979; Watanabe et al., 1983; Ben-Amotz et al., 1987) puesto que estos no los pueden sintetizar por sí mismos y necesitan obtenerlos directamente una vez que inician la alimentación exógena. Por ejemplo, el ácido docosahexaenoico (DHA 22:6  $n_3$ ) es esencial para el desarrollo del cerebro y la retina de los peces marinos (Bell y Dick, 1991; Mourente et al., 1991; Mourente and Tocher, 1992, 1993; Tocher et al., 1992; Sargent et al., 1993), los peces con deficiencias de DHA pueden mostrar anomalías en su comportamiento debido a limitaciones neurológicas y visuales (Navarro y Sargent, 1992).

El alto contenido de los ácidos grasos esenciales como el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20: 5  $n_3$ ) y el docosahexaenoico (DHA, 22:6  $n_3$ ) en algunas microalgas como *Nannochloropsis oculata* para el primero, e *Isochrysis* para el segundo, las hacen un excelente alimento para incrementar el contenido de ácidos grasos de los rotíferos (Lavens y Sorgeloos, 1996). La microalga *Chaetoceros calcitrans*, perteneciente al grupo de las diatomeas, posee al igual que todo su grupo un alto contenido de EPA.

Dada la importancia de los ácidos polinsaturados y especialmente los  $n_3$  PUFA para los organismos marinos, es importante incorporarlos en su dieta (Langdon, 1980; Langdon y Waldock, 1981; Webb y Chu, 1982). *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* y *Tetraselmis*

*suecica* se encuentran entre las microalgas más apropiadas para ser utilizadas como dieta debido a sus niveles de ácidos grasos polinsaturados (Fernández, 1989).

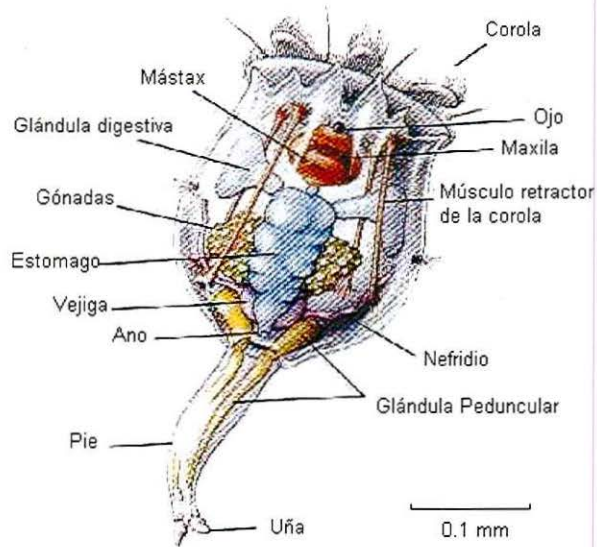
Por otro lado, además de que los rotíferos cumplan con los requerimientos nutricionales de las larvas de peces es importante poder suministrar a las larvas el alimento vivo en cantidades suficientes y de manera constante, por esta razón el alimento y el manejo de los rotíferos es de gran importancia en su cultivo.



## 2.1. LOS ROTÍFEROS COMO ALIMENTO VIVO EN LA ACUICULTURA

La producción de alimento vivo es indispensable para el cultivo de muchas de las especies de interés comercial o científico. Para la primera alimentación de muchas de las especies marinas es necesario que dicho alimento tenga las siguientes características: que sea menor de 400  $\mu\text{m}$  (que es la talla de los nauplios de artemia), ser rico en ácidos grasos esenciales, y poder ser producido en grandes cantidades (Barnabé, 1989). No son muchos los organismos marinos que reúnen estas cualidades, ciertos protozoarios ciliados, copepoditos de algunas especies de copépodos, y algunas larvas trocóforas y veligeras de diferentes invertebrados, cumplen con las características necesarias para ser usados como alimento vivo (Barnabé, 1989).

Los rotíferos, aunque no siempre forman parte del zooplancton marino, han sido utilizados con mucho éxito como alimento vivo de larvas de peces marinos (Sarma, 1996) y de más de 18 especies de crustáceos (Fulks y Main, 1991).



**Fig. 1.** Estructura interna de un rotífero.

Los rotíferos componen un phylum de metazoarios microscópicos filtradores, estos organismos son los metazoarios más pequeños y están conformados por un número fijo de células (alrededor de 1000) desde que eclosionan hasta su muerte. Durante el crecimiento del organismo dichas células no se multiplican, solo incrementan su tamaño. Los rotíferos se alimentan de pequeñas partículas suspendidas en la columna de agua, las cuales filtran por medio de una corona de cilios que presentan en la parte anterior de su cuerpo. Dicha corona ciliada les sirve también para su locomoción, aunque muchas especies pasan su vida fijadas al sustrato.



**Fig. 2.** Rotíferos *Brachionus plicatilis*.

El rotífero *Brachionus plicatilis* es una especie planctónica que mide entre 125 y 300  $\mu\text{m}$  de longitud. Esta especie puede reproducirse tanto sexualmente (reproducción mítica) como asexualmente, por medio de partenogénesis (reproducción amítica) en la que las hembras producen clones, copias genéticamente idénticas a sí mismas.

En algunos casos los acuicultores inducen la reproducción mítica para obtener quistes en los que los rotíferos permanecen en estado de latencia, análogos a los de artemia, los cuales son muy útiles para almacenarse o para ser transportados.

*Brachionus plicatilis* es ampliamente utilizado para la primera alimentación de muchos organismos (no solo de peces sino también de muchas especies de crustáceos) y algunas de las características que lo hacen ideal para este fin se enlistan a continuación:

- Su pequeño tamaño (<300  $\mu\text{m}$ )

- Baja velocidad de nado
- Se mantiene siempre en la columna de agua
- Capacidad de ser cultivado a grandes densidades (hasta 2000 ind/ml)
- Elevada tasa reproductiva
- Amplio rango de salinidades
- Puede ser usado como biocapsula, ya que es fácilmente enriquecido con ácidos grasos, antibióticos, etc. para servir como un vehículo que transfiera dichas sustancias a sus depredadores.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Una limitante muy importante en los cultivos de peces marinos es la falta de juveniles, debido a que su producción se ve limitada por la falta de suministros constantes de alimento vivo para su cultivo larvario. El contenido bioquímico del alimento proporcionado a los organismos cultivados es de suma importancia ya que estos componentes son utilizados para obtener energía y para la producción de tejidos durante el crecimiento. Debido a esto es importante conocer los mejores medios para producir la mayor cantidad de alimento vivo de calidad, así como conocer la calidad nutricional de este, lo cual se investigó en el presente estudio haciendo énfasis en el tipo y cantidad de alimento proporcionado a los rotíferos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar cual dieta (*Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* o *Nannochloropsis oculata*) es la más apropiada para la producción en masa de rotíferos de calidad.

### **4.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

4.2.1. Conocer los contenidos nutricionales del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con diferentes dietas monoalgales.

4.2.2. Determinar si la dieta tiene efecto en el tamaño de los rotíferos.

4.2.3. Determinar si la dieta tiene efecto en la densidad poblacional.

4.2.4. Conocer cual dieta proporciona un mejor rendimiento en la producción en masa de rotíferos.

### **4.3 HIPÓTESIS**

Las densidades poblacionales, el tamaño de los individuos, y los valores nutricionales de los rotíferos para ser usados como alimento vivo de larvas de peces marinos están en función del tipo de microalga utilizada para su cultivo, de las densidades de esta, y de su calidad nutricional.

## **5. METODOLOGÍA**

### **5.1. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Experimental ubicado en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en La Paz, Baja California Sur, México, entre agosto y octubre de 2005, en una sala especial para el cultivo de rotíferos, la cual cuenta con líneas de distribución de aire comprimido, de agua dulce y agua marina. Dicho laboratorio cuenta también con equipos de aire acondicionado para el control de las temperaturas.

#### **5.1.1. CULTIVO DE MICROALGAS**

Las cuatro especies de microalgas utilizadas como dietas para los rotíferos fueron cultivadas en el Laboratorio de Microalgas del CIBNOR. Los cultivos, de tipo semicontinuo, se realizaron en bolsas de 35 litros con agua marina filtrada a una micra, desinfectada con hipoclorito de sodio al 0.2 % y posteriormente neutralizado con tiosulfato de sodio. El medio de cultivo utilizado fue el F/2 (Guillard y Ryther, 1962), adicionado con 0.03 g de silicatos por litro para el caso de *Chaetoceros calcitrans*. La salinidad del agua se mantuvo a 37 ‰.

## MICROALGAS UTILIZADAS

Las microalgas *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA), fueron utilizadas en este trabajo debido a sus características nutricionales, compatibilidad con los cultivos de rotíferos, disponibilidad, y por su fácil cultivo. A continuación una breve descripción de dichas microalgas.

### *Chaetoceros calcitrans*

Esta diatomea perteneciente a la clase Bacillariophyceae posee un tamaño de 3 a 7 micras y presenta cuatro largas cetras. El rango de temperaturas óptimo para su crecimiento es de 17 a 26 °C. Presenta un color café oscuro y se caracteriza por su alto contenido de ácido eicosapentaenoico (EPA), por lo que ha sido utilizada ampliamente en la acuicultura.

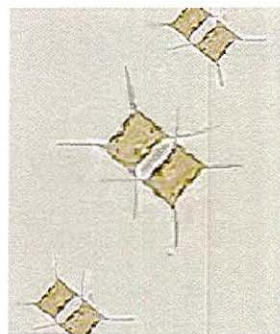


Fig. 3. *Chaetoceros calcitrans*.

### *Isochrysis galbana*

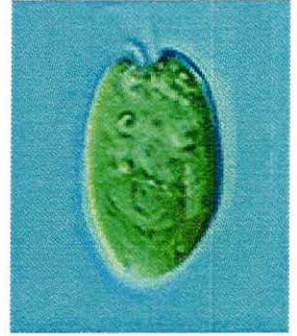
Perteneciente al grupo de las Haptofitas, *Isochrysis* es una microalga que presenta células subsféricas a fusiformes, biflageladas, con dimensiones de 6 a 8 micras. Su órgano más importante es el haptonema circundado por pequeños relieves. Es un flagelado de color amarillo que habita en climas templados. Conocida también como *Isochrysis* "Tahiti" (Laing, 1986), su crecimiento óptimo se encuentra a una temperatura que varía de 16 – 20 °C, a una salinidad de 25 – 28 ‰ y una iluminación de 4000 lux. Debido a su tamaño y a que es un flagelado desnudo, es fácilmente digerible por los consumidores. Su alto valor nutritivo le sitúa entre las especies más importantes para alimentación de organismos filtradores marinos. Es destacable su alto contenido de ácido docosahexaenoico (DHA).



Fig. 4. *Isochrysis galbana*.

### *Tetraselmis suecica*

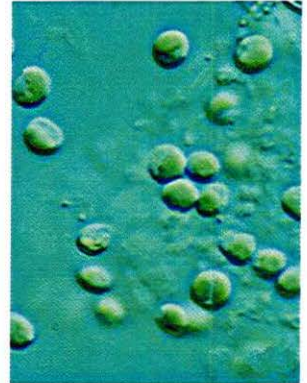
Es una microalga comprimida elipsoidal, perteneciente a las Prasinophyceae. Esta especie presenta cuatro flagelos, y mide de 7 - 9 micras de diámetro y de 10 - 16 de largo y un color verde brillante. Es una especie eurihalina y posee una pared celular delgada formada principalmente de carbohidratos que la hace un poco más difícil de digerir que otras microalgas. Crece bien en el rango de temperatura de 18 - 22 °C, pH de 7.5 - 8.0 y salinidad de 25 - 30 ‰. Por estas razones, es una especie de considerable potencial de cultivo a gran escala.



**Fig. 5.** *Tetraselmis suecica*.

### *Nannochloropsis oculata*

Estos organismos pertenecientes a la clase Eustigmatophyceae presentan células esféricas de 2 a 4 micras. Presentan un color verde oscuro y el rango de temperaturas óptimas para su crecimiento es de 11 a 16 °C. Esta especie ha sido ampliamente utilizada en la acuicultura, aunque en algunos casos las características de su pared celular y su pequeño tamaño, no la hacen viable para alimentar a algunos organismos filtradores debido a que son difíciles de digerir y sus nutrientes pueden no ser asimilados.



**Fig. 6.** *Nannochloropsis oculata*.



### **5.1.2. CULTIVO DE ROTÍFEROS**

Se inició un cultivo semicontinuo de rotíferos de la cepa de *Brachionus plicatilis* que se mantiene en el Laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR. Dicho cultivo se llevó a cabo en tanques translúcidos, cilindro-cónicos, de fibra de vidrio, con una capacidad de 190 litros. Los cultivos fueron alimentados diariamente con 35 litros de microalgas, dicho volumen representa el recambio diario para cada tanque.

Para el proceso de recambio se utilizó un tamiz de 80 micras y los rotíferos retenidos se regresaban al tanque de cultivo. Se realizaron recambios totales semanalmente.

Las temperaturas se mantuvieron a 28° C y la salinidad entre 25 y 30 ‰. La iluminación del laboratorio fue constante.

Los parámetros como densidad poblacional, temperatura y salinidad se tomaron diariamente.

### **5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL**

El experimento consistió en mantener cuatro cultivos semicontinuos de rotíferos a lo largo de tres meses, de agosto a octubre de 2005. Dichos cultivos se realizaron en 4 tanques de fibra de vidrio, con una capacidad de 190 litros. El experimento se dividió en tres periodos de un mes. Estos periodos fueron considerados como tres replicas para su análisis.

Cada tanque de rotíferos se alimentó con una diferente dieta monoalgal, éstas fueron cultivadas en el Laboratorio de Microalgas del CIBNOR.

Las Especies de microalgas cultivadas para alimentar a los rotíferos fueron: *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE), *Nannochloropsis oculata* (NA).

El alimento fue proporcionado a los rotíferos en una ración diaria de 35 litros de microalgas a lo largo del experimento. La cantidad promedio de células microalgales por mililitro de cada dieta se contó en un hematocitometro. De igual manera las densidades poblacionales de rotíferos fueron estimadas diariamente por medio de conteos en un estereoscopio.

Se tomaron muestras de rotíferos cada semana para ser fotografiados y evaluar su tamaño midiéndolos con un analizador de imágenes. Fueron medidos 50 organismos de diferentes muestras.

De igual manera se tomaron las muestras al final de cada repetición, por medio de un tamiz de 100  $\mu\text{m}$  de luz de malla para realizar los análisis bromatológicos de los rotíferos.

Para obtener muestras de microalgas para los análisis bromatológicos estas fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 minutos.

### **5.3. PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE MUESTRAS**

La producción de rotíferos y microalgas se estimó por medio de conteos directos al estereoscopio y al microscopio respectivamente, además se tomaron muestras en cada repetición del experimento para verificar la composición proximal tanto de las dietas como de los rotíferos y evaluar sus tallas bajo los distintos tratamientos.

Los datos se analizaron con el programa estadístico SigmaStat. Los resultados de los diferentes tratamientos se compararon mediante pruebas de análisis de varianza de una vía, después de verificar que se cumplieron los supuestos de normalidad (con la prueba de Kolmogorov Smirnov) y de igualdad de varianzas.

Las diferencias entre tratamientos se discriminaron mediante la prueba a *posteriori* de Tukey (Zar, 1984).

### **5.3.1. TAMAÑO DE LOS ROTÍFEROS**

Para estos análisis se tomaron fotografías con una cámara Olympus BX41 montada en un microscopio de campo oscuro y contraste de fases. Posteriormente se midieron los rotíferos en las fotografías con el analizador de imágenes Image Pro. Sólo se tomaron las longitudes de rotíferos grávidos y se midieron incluyendo el huevo que estos portaban.

### **5.3.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS**

Estos análisis fueron realizados en el Laboratorio de Bioquímica Fisiológica del CIBNOR, tanto para el caso de las microalgas como para el de los rotíferos.

### **PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS (MICROALGAS Y ROTÍFEROS)**

Las muestras se pesaron en un tubo Eppendorf de 2 mL, los tubos se identificaron con una marca que permanece durante todo el análisis. Una vez pesados se colocaron en un ultra congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Las muestras se liofilizaron con ayuda de una liofilizadora (Virtis Benchtop ES) a  $-51^{\circ}\text{C}$  y con un vacío menor a los 80  $\mu\text{barrs}$ , durante 20 horas. Una vez pasado ese tiempo se comprobó que las muestras estuvieran completamente deshidratadas y se procedió a obtener su peso seco, en la obtención de los pesos se utilizó una balanza analítica (Ohaus, Analytical Plus, mod. AP 250-D).

Las muestras liofilizadas fueron rehidratadas con 1 mL de solución isotónica (solución salina = 35% de NaCl) fría y homogeneizadas con ayuda de un homogeneizador (IKA, Ultra-Turrax T8.01), procurando siempre mantener las muestras en hielo para conservar su integridad.

## PROTEÍNAS

Para determinar las proteínas de las muestras, se utilizó el método de Bradford (1976) el cual se basa en la reacción de los grupos amino libres con el azul Cromassie en presencia de ácido fosfórico y metanol. El complejo formado por la proteína y el colorante provoca un desplazamiento en la absorción máxima del colorante desde 465 a 595 nm. La absorción es proporcional a la concentración de proteína (albúmina en suero bovino) de manera lineal desde 1µg a 140µg usando una solución reactiva comercial (BioRad #500-0006).

Una alícuota de 10µL del homogeneizado se puso a digerir en 90µL de NaOH 0.1N durante 120 minutos, posteriormente se tomaron 10µL del digerido, se puso en un tubo de vidrio limpio y se agregó un mililitro de reactivo de Bradford, se dejó reaccionar 5 minutos y posteriormente se tomaron las lecturas al espectrofotómetro (Spectronic Genesys II) a 595 nm.

Se utilizó una solución estándar con una concentración de 5mg/ml de albúmina bovina, la cual se diluye en proporción 1:2 en solución salina hasta tener concentraciones, de 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625 y 0.078125 mg/ml de proteína y solución salina como blanco.

La concentración de proteínas se calculó:

$$\text{Conc. de Proteínas (mg/g)} = (\text{Abs.Sol.Prob.} \times \text{FD}) / (m \times \text{peso de la muestra})$$

Donde: FD es el factor de dilución y  $m$  es la pendiente en la curva tipo.

## CARBOHIDRATOS TOTALES

Para la determinación de carbohidratos totales se utilizó la técnica de Roe, et al., 1960. Para la medición de estos, se tomaron 0.2 mL de homogeneizado de cada muestra y se mezclaron con 0.2 mL de Ácido Tricloroacético (TCA) al 20% en tubos Eppendorf de 0.65

ml, esto con la finalidad de precipitar proteínas que interfieren en la medición de carbohidratos. Los tubos se centrifugaron a 3600 rpm (1376 g) por 10 minutos a 4°C en una centrifuga refrigerada (Eppendorf 5810 R). Se recuperó el sobrenadante en tubos Eppendorf de 0.65 mL limpios. 0.1ml de sobrenadante se colocó en un tubo de vidrio, se le agregó 1ml de solución de antrona 0.1% diluida en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72%. Se calientan a baño maría a 90 °C durante 5 minutos y se enfrían en baño de hielo. Se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro (Spectronic Genesys II) a 620 nm.

Curva tipo: La solución estándar de carbohidratos contiene 5mg/ml, se preparan diluciones en proporción 1:2, en 500µl de TCA, quedando concentraciones de 5, 2.5 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625, 0..078125 mg/ml de carbohidratos.

La cantidad de carbohidratos se calculó con la siguiente relación:

$$\text{Conc. de carbohidratos (mg/gr)} = (\text{Abs.sol.prob.x FD}) / (m \times \text{Peso de la muestra})$$

Donde: *m* es la pendiente en la curva tipo y FD es el factor de dilución

## LÍPIDOS TOTALES

Se utilizó el método de la sulfafosfovainillina (Barnes y Balckstock, 1973). Una alícuota de 0.025mL (25µL) de cada muestra, se puso en tubos de vidrio, se les agregó 0.25mL de ácido sulfúrico concentrado y se incubaron a baño maría a 90°C, por 10 minutos. Los tubos se enfriaron en baño de hielo, posteriormente se tomaron 20 µL de cada tubo y se colocaron en el fondo del pozo de una microplaca (placa elisa) de 96 pozos, se le agregó solución reactiva para lípidos (fosfovainillina al 0.2% en ácido sulfúrico al 80%) se dejó incubar la placa por 40 minutos a temperatura ambiente y se tomó la lectura de la placa en un lector de placas de BioRad (modelo 550) a 540nm. Al mismo tiempo que las muestras se hizo reaccionar una curva de calibración la cual se prepara de la siguiente manera:

Curva tipo: La solución estándar de lípidos (Lin-Trol Sigma L2648) contiene 20mg/ml, de ésta se preparan diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución salina, quedando

concentraciones de 10, 5, 2.5 1.25, 0.625, 0.3125y 0.15625, mg/ml de lípidos. Se utilizó solución salina como blanco.

La cantidad de lípidos se calculó con la siguiente relación:

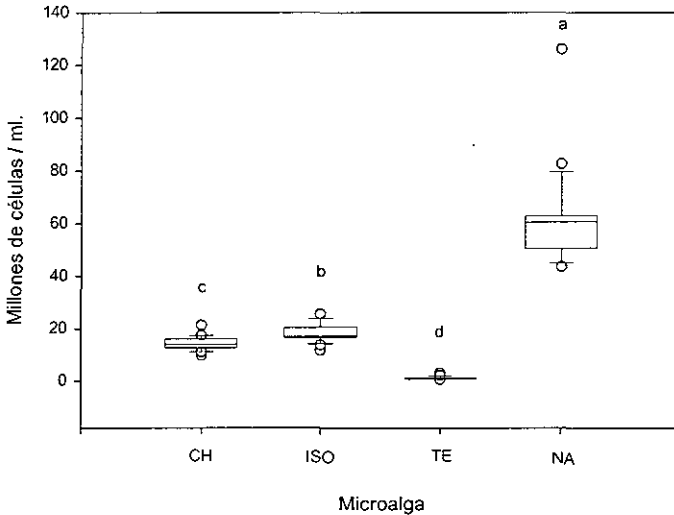
$$\text{Conc. de lípidos (mg/g)} = (\text{Abs.sol.prob.x FD}) / (m \times \text{Peso de la muestra})$$

Donde:  $m$  es la pendiente en la curva tipo y FD es el factor de dilución

## 6. RESULTADOS

### 6.1. CULTIVO DE MICROALGAS

La concentración media, obtenida en los cultivos de *Chaetoceros calcitrans* fue de 14.32 millones de células/ml. ( $DE \pm 2.79$ ), para el caso de *Isochrysis galbana* fue de 18.70 millones de células/ml. ( $DE \pm 3.63$ ), en los cultivos de *Tetraselmis suecica* 1.09 millones de células/ml. ( $DE \pm 0.62$ ), y para *Nannochloropsis oculata* de 62.21 millones de células/ml. ( $DE \pm 18.66$ ). (Fig. 7).



**Fig. 7.** Concentraciones de las diferentes microalgas cultivadas (en millones de células por ml) para alimentar a los rotíferos. *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey;  $P > 0.05$ ).

La concentración de las microalgas proporcionadas a los rotíferos en las distintas dietas fue medida por medio de conteos en un hematocitometro, dicha información nos dice el número de células administradas en cada uno de los tratamientos, pero las diferentes especies de microalgas tienen dinámicas poblacionales particulares, y el tamaño y la composición de las células varía para cada especie.

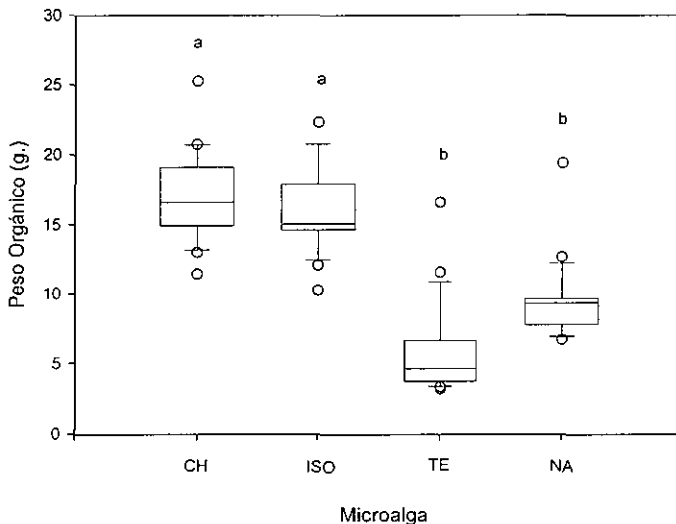
Para medir la cantidad de alimento proporcionado en cada dieta se utilizaron los índices de peso orgánico que se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Peso orgánico de las células de las microalgas utilizadas como alimento para los rotíferos.

<b>Microalga</b>	<b>Peso orgánico</b>
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	<b>33.9 pg/cel</b> (Lora-Vilchis y Doktor, 2001)
<i>Isochrysis galbana</i>	<b>24.7 pg/cel</b> (Lora-Vilchis y Doktor, 2001)
<i>Tetraselmis suecica</i>	<b>158.4 pg/cel</b> (López-Elías y Voltolina, 1993)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	<b>4.4 pg/cel</b> (Lora-Vilchis, 2004)



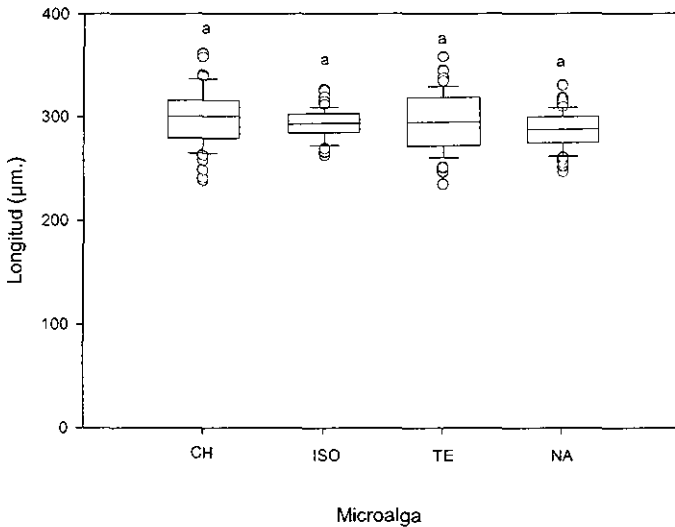
El peso orgánico del alimento proporcionado por ración, para el caso de CH fue de 16.99 g. (DE±3.31), para el caso de ISO 16.17 g. (DE ±3.15), para TE 6.05 g. (DE±3.46), y 9.58 g. (DE±2.87) para NA. (Fig. 8).



**Fig. 8.** Peso orgánico por ración diaria (en gramos) de las diferentes microalgas con que se alimenta a los rotíferos. *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey;  $P > 0.05$ ).

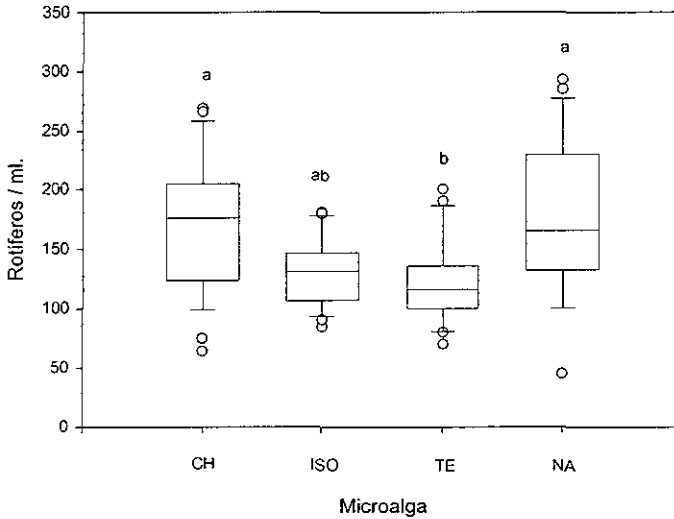
## 6.2. CULTIVOS DE ROTÍFEROS

Los resultados de las mediciones de la longitud de los rotíferos alimentados con diferentes dietas monoalgales fueron, para el caso de *Chaetoceros calcitrans* (CH), de 298.56  $\mu\text{m}$ . (DE $\pm$ 27.93), para *Isochrysis galbana* (ISO) 292.98  $\mu\text{m}$ . (DE $\pm$ 14.55), para el caso de *Tetraselmis suecica* (TE) 294.84  $\mu\text{m}$ . (DE $\pm$ 28.44), y para *Nannochloropsis oculata* (NA) 286.53  $\mu\text{m}$ . (DE $\pm$ 18.16). (Fig. 9).



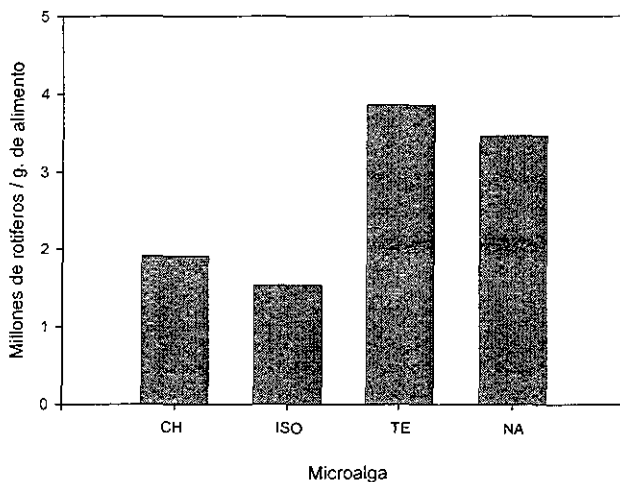
**Figura 9.** Longitudes de rotíferos (expresadas en micras) alimentados con diferentes microalgas. *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey;  $P > 0.05$ ).

La media de las densidades poblacionales registradas por medio de los conteos diarios de rotíferos fue para el caso del cultivo alimentado con CH de 170.35 rotíferos/ml. (DE±57.25), para ISO 130.67 rotíferos/ml. (DE±28.63), en el caso de TE 123.15 rotíferos/ml. (DE±36.41) y 174.74 rotíferos/ml. (DE±65.17) para NA. (Fig. 10).



**Fig. 10.** Densidades de rotíferos (expresadas en rotíferos por ml.) encontradas en los tanques de cultivos alimentados con las diferentes dietas monoalgales, *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey;  $P > 0.05$ ).

La producción de rotíferos alcanzada para el caso de CH, en millones de rotíferos/g. de alimento, fue de 1.90, para el caso de ISO de 1.54, para TE 3.87 y de 3.47 para NA. (Fig.11).



**Fig. 11.** Producción de rotíferos (expresada en millones de rotíferos por g. de alimento) encontradas en los tanques de cultivos alimentados con las diferentes dietas monoalgales, *Chaetoceros calcitrans* (CH), *Isochrysis galbana* (ISO), *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA).

### 6.3. RESUMEN DE LOS RESULTADOS

**Tabla 2.** Concentraciones celulares y peso orgánico de microalgas por ración diaria de los diferentes cultivos. (Media±DE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; P > 0.05).

	CH	ISO	TE	NA
<b>Células microalgales</b>				
<b>(millones/ml)</b>	14.32±2.79 <sup>c</sup>	18.71±3.64 <sup>b</sup>	1.09±0.62 <sup>d</sup>	62.21±18.66 <sup>a</sup>
<b>Peso orgánico por ración (g.)</b>	16.99±3.31 <sup>a</sup>	16.17±3.15 <sup>a</sup>	6.05±3.46 <sup>b</sup>	9.58±2.87 <sup>b</sup>

**Tabla 3.** Longitudes medias, concentraciones de rotíferos/ml. en los tanques de cultivo, concentraciones microalgales en los tanque de rotíferos (millones de células/ml.), y rendimiento obtenido en los rotíferos alimentados con las diferentes dietas. (Media±DE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; P > 0.05).

	CH	ISO	TE	NA
<b>Long rotíferos (µm.)</b>	298.56±27.93 <sup>a</sup>	292.98±14.55 <sup>a</sup>	294.84±28.44 <sup>a</sup>	286.53±18.16 <sup>a</sup>
<b>Rotíferos / ml</b>	170.35±57.25 <sup>a</sup>	130.67±28.63 <sup>ab</sup>	123.15±36.41 <sup>b</sup>	174.74±65.17 <sup>a</sup>
<b>Microalgas en los tanques de rotíferos</b>	2.64	3.45	0.20	11.46
<b>Millones de rotíferos/ g. alimento</b>	1.90	1.54	3.87	3.47

**Tabla 4.** Contenidos nutricionales (en mg/g de peso seco) de las diferentes microalgas. Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey;  $P > 0.05$ ).

	CH	ISO	TE	NA
<b>Carbohidratos</b>	42.55±0.19 <sup>a</sup>	38.63±1.58 <sup>b</sup>	22.25±1.24 <sup>c</sup>	18.96±1.58 <sup>c</sup>
<b>Proteínas</b>	709.83±26.48 <sup>b</sup>	916.31±35.14 <sup>a</sup>	274.57±20.47 <sup>c</sup>	169.34±5.25 <sup>d</sup>
<b>Lípidos</b>	103.27±6.62 <sup>b</sup>	110.33±1.86 <sup>b</sup>	86.63±1.87 <sup>c</sup>	127.67±9.69 <sup>a</sup>
<b>Triglicéridos</b>	17.81±0.68 <sup>a</sup>	26.19±2.20 <sup>a</sup>	10.25±1.54 <sup>a</sup>	19.03±0.31 <sup>a</sup>

**Tabla 5.** Contenidos nutricionales (en mg/g de peso seco) de los rotíferos alimentados con las diferentes dietas. Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Prueba de comparaciones múltiples de Tukey;  $P > 0.05$ ).

	CH	ISO	TE	NA
<b>Carbohidratos</b>	81.88±10.29 <sup>bc</sup>	69.25±3.13 <sup>c</sup>	98.05±2.86 <sup>a</sup>	95.04±4.31 <sup>ab</sup>
<b>Proteínas</b>	850.55±11.19 <sup>a</sup>	386.09±7.46 <sup>b</sup>	799.91±45.57 <sup>a</sup>	821.55±89.84 <sup>a</sup>
<b>Lípidos</b>	73.17±10.93 <sup>a</sup>	38.62±0.61 <sup>b</sup>	57.82±2.13 <sup>ab</sup>	50.38±2.63 <sup>ab</sup>
<b>Triglicéridos</b>	61.54±3.767 <sup>a</sup>	-----	20.07±2.127 <sup>b</sup>	11.37±1.663 <sup>c</sup>

## 7. DISCUSIÓN

Los valores nutricionales de las microalgas empleadas en este experimento son consistentes con los reportados por la FAO (1996) para las mismas especies.

Las dietas más productivas, es decir, las que produjeron una mayor cantidad de rotíferos con menor cantidad de alimento fueron *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA). Esto fue determinado usando como referencia la biomasa del alimento proporcionado y no su peso seco ya que este último incluye las partes no asimilables de algunas microalgas como la cubierta de sílice de *Chaetoceros calcitrans* (CH). Para calcular dicha biomasa se realizaron conteos celulares y se multiplico el número encontrado por los pesos orgánicos por célula descritos por Lora-Vilchis (2004).

Benni y Wernberg-Moller (1997) concluyeron también que TE es la dieta más eficiente. Estos autores comentan que el tamaño relativamente grande de *Tetraselmis* favorece el forrajeo por parte de los rotíferos. Sin embargo, en el presente estudio se encontró que también *Nannochloropsis* es una dieta adecuada, con una producción de rotíferos similar. Ya que existe una diferencia importante en la talla de TE y NA, probablemente el tamaño de las células no sea determinante en la dieta, tal y como concluyen estos autores. Además otras condiciones pueden ser determinantes como la concentración de células, en relación con la calidad del agua. Al suministrar un exceso de alimento a los rotíferos se pueden ver afectados parámetros importantes de la calidad del agua, como son el oxígeno disuelto y la presencia de organismos patógenos. Las microalgas muertas propician la aparición de una gran cantidad de bacterias que las descomponen, pudiendo ser también patógenas muchas de ellas. Durante este proceso de descomposición se consume oxígeno y se generan desechos metabólicos que pueden causar estrés en los organismos.

La calidad de agua también puede disminuir por la muerte de células debido al shock térmico que experimentan las microalgas al ser suministradas en los tanques de cultivo de rotíferos. Probablemente este estrés sea tolerado en diferente medida por las cuatro especies

utilizadas. Las microalgas, cultivadas a 18° C, se aplicaban directamente en el agua de cultivo de rotíferos que se mantenía a 28° C sin algún proceso de aclimatación, de manera que si esto generaba mortalidades de células, la descomposición de estas disminuiría la calidad del agua.

De igual manera se presentó un shock osmótico que podría ser significativo para algunas de las especies de microalgas, ya que las diferentes especies utilizadas poseen características celulares muy variadas, teniendo algunas de ellas paredes celulares como en el caso de NA y CH o siendo desnudas como TE e ISO. Las microalgas fueron sometidas a un cambio brusco de salinidad de 37-39 ‰ a 25-30 ‰ cada vez que se aplicaban en los tanques de rotíferos. Sin embargo, en el presente estudio no se evaluó el efecto del shock térmico y del shock osmótico sobre la mortalidad de las microalgas, de manera que no es posible llegar a conclusiones sobre esto.

Finalmente, el tamaño de los rotíferos no fue una variable importante en los diferentes tratamientos ya que no se encontraron diferencias significativas en la talla. Esta variable fue controlada manteniendo la misma temperatura, la cual determina en gran medida la talla de estos organismos (Stelzer, 2002).



## 8. CONCLUSIONES

Aunque la cantidad de alimento proporcionado en las dietas de *Chaetoceros calcitrans* (CH) e *Isochrysis galbana* (ISO) fue casi el doble al proporcionado en las dietas de *Tetraselmis suecica* (TE) y *Nannochloropsis oculata* (NA), las concentraciones de rotíferos por mililitro no mostraron diferencias significativas.

Las dietas de TE y NA registraron la mayor productividad, es decir, la mayor cantidad de rotíferos producidos por alimento proporcionado.

Aunque TE y NA fueron las dietas que proporcionaban menor biomasa de microalgas, estas produjeron la misma cantidad de rotíferos que CH e ISO, y presentaron una productividad mayor.

Es posible que TE y NA hayan generado un mayor rendimiento debido a que no se suministró exceso de alimento, como probablemente sucedió con las otras dietas, ocasionando un detrimento de la calidad del agua.

En cuanto a las longitudes de rotíferos no se encontró diferencia significativa entre las diferentes dietas

## 9. BIBLIOGRAFÍA

**Aguilar-Medina, V.** 2004. Efecto del perfil de ácidos grasos de los alimentos usados para el cultivo de larvas de mysis de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. 54 p.

**Álvarez-Lajonchere, L. y O. G. Hernandez-Molejon,** 2001. Producción de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: Diseño, Operación y Tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 424 p.

**Bardford, M. M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254

**Barnabe, G.** 1989. Aquaculture. Technique et documentation. Paris. 528 p.

**Barnes, H. y J. Blackstock.** 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method to total lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 12: 103-118 .

**Bell, M. V. y J. R. Dick.** 1991. Molecular species composition of the major diacyl glycerophospholipids from muscle, liver, retina and brain of cod (*Gadus morhua*). *Lipids*. 26: 565-573.

**Ben-Amotz, A., R. Fishler y A. Schneller.** 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acid. *Mar. Biol.* 95: 31-36.

**Benni**, H. y T. Wernberg-Moller. 1997. Particle grazing efficiency and specific growth of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller). Journal of experimental biology and ecology. 215: 217-233.

**Castellanos**, M. E., G. Garza y S. Marañon. 1999. Aislamiento, caracterización, biología y cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (O. F. Müller). Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. México D. F. 119 p.

**D'Abramo**, L. R., D. E. Conklin y D. M. Akiyama. 1997. Advances in world aquaculture-crustacean nutrition. World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana. 587 p.

**Droop**, M. R. 1975. The chemostat in mariculture. 10<sup>th</sup> European Symposium on Marine Biology. 1: 71-93.

**Epifanio**, C. E. 1979. Comparison of yeast and algal diets for bivalve molluscs. Aquaculture. 16: 187-192.

**FAO**. Fishery department, fishing information, data and statistics unit. 2001. FISHSTAT plus: Universal software for fishery statical time series. Versión. 2.3.2000.

**FAO**. Estado mundial de la pesca y la acuicultura. 2004. ([http://www.fao.org/sof/sofia/index\\_es.htm](http://www.fao.org/sof/sofia/index_es.htm)) FAO. Pesca. En línea 17 de julio de 2006.

**FAO**, 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. <http://www.fao.org/docrep/003/W3732E/w3732e00.HTM>. En línea Nov 2006.

**Fernández-Reiriz**, M. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (Total Protein, Carbohydrates, RNA, Lipids and Fatty Acids) of seven species of marine microalgae. Aquaculture. 83: 17-37.

**Fisher, T., T. Berner, D. Iluz y Z. Dubinsky.** 1998. The kinetics of photoacclimation response of *Nannochloropsis* sp (Eustigmatophyceae): A study of changes in ultrastructure and PSU density. *J. Phycol.* 34: 818-824.

**Flores-Santana, R.** 2004. Efecto de *Brachionus plicatilis* cultivado con tres microalgas con diferentes contenidos de ácidos grasos, sobre el crecimiento y el desarrollo de larvas de mysis de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. 43 p.

**Fulks, W. y K. L. Main.** 1991. Rotifer and microalgae culture systems. The Oceanic Inst., Honolulu, USA. 364 p.

**Guillard, R. R. L. y J. H. Ryther.** 1962. Studies of marine planktonic diatoms. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula conferaces* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8, 229-239.

**Guillaume, J., S. Kaushik, S. Bergot, P. Metailler.** 1999. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. INRA, IFREMER. 489 p.

**Hirata, H.** 1965. Cultivation of live food organisms in the Yashima Station. *Saibaigyogyo News* 2:4. En: Sarma. S.S.S. y S. Nandini. 1997. International Workshop on Field Cultivation Technology of Rotifers for use as Food in Aquaculture. UNAM Campus Iztacala, México. 36 p.

**Hostmann, U.** 1985. The use of microalgae in aquaculture. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 20: 153-156.

**Laing, I., P. F. Millican.** 1986. Relative growth and efficiency of *Ostrea edulis* L. spat fed various algal diets. *Aquaculture.* 54: 245-262.

**Langdon, C. J.** 1980. The nutrition of *Crassostrea gigas* larvae and spat fed on artificial diets. Ph.D. Thesis, University of Wales, Great Britain. 209 p.

**Langdon, C. J. y M. J. Waldock.** 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 61: 431-448.

**Lavens, P. y P. Sorgeloos.** 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No.361. Roma, FAO. 295 p.

**López-Eliás J. A. y D. Voltolina.** 1993. Cultivos semicontínuos de cuatro especies de microalgas con un medio no convencional. Ciencias Marinas 19 (2): 169-180.

**Lora-Vilchis, M. C.** 2004. Evaluación de la calidad dietética de microalgas mediante el estudio del balance energético de *Artemia franciscana*. Tesis doctoral. CIBNOR - La Paz. 135 p.

**Lora-Vilchis, M. C. y N. Doktor.** 2001. Evaluation of seven algal diets for spat of the Pacific Scallop *Argopecten ventricosus*. Journal of the World Aquaculture Society 32 (2): 228-235.

**Martínez-Córdova, L. R.** 1993. Camaronicultura. Bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones peneidos. A.G.T. Editor, S.A. México, D.F. 233 p.

**Martínez-Córdova, L. R.** 2002. Camaronicultura. Avances y tendencias. A.G.T. Editor, S.A. México, D.F. 167 p. En: Flores-Santana, R. 2004. Efecto de *Brachionus plicatilis* cultivado con tres microalgas con diferentes contenidos de ácidos grasos, sobre el crecimiento y el desarrollo de larvas de mysis de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. 43 p.

**Mourente, G. y D. R. Tocher.** 1992. Effect of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22 : 6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture. 105: 363-377.

**Mourente, G., D. R. Tocher y J. R. Sargent.** 1991. Specific accumulation of docosahexanoic acid (22 : 6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. *Lipids*. 26: 871-877.

**Navarro, J. C. y J. R. Sargent.** 1992. Behavioural differences in starving herring *Clupea harengus* L. larvae correlate with body levels of essential fatty acids. *J. Fish Biol.* 41: 509-513.

**Pedini, M.** 2000. Bridging the gap: Can aquaculture meet the additional demand for fishery products?. *FAO Aquaculture newsletter*. 24: 4-9.

**Roe, J. H., J. M. Bailey, R. R. Gray y J. N. Robinson.** 1961. Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid solution. *The Journal of Biological Chemistry*. 236 (5): 1244-1246.

**Russell-Hunter, W. D.** 1970. *Aquatic productivity*. Macmillan Publishers, Inc., New York and London. 224 p.

**Sargent, J. R., M. V. Bell y D. R. Tocher.** 1993. Docosahexaenoic acid and the development of brain and retina in marine fish. En: C.A. Devon, J. Baksaas y H.E. Krokan (Editors), *Omega-3 Fatty Acids: Metabolism and biological effects*. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 139-149.

**Sarma, S. S. S.** 1996. Rotifer Culture Systems. En: *International workshop on rotifer culture systems*. UNAM Campus Iztacala, México. 28-56.

**Sarma, S. S. S.** 1996. *International workshop on rotifer culture systems*. UNAM Campus Iztacala, México. 56 p.

**Sarma**, S. S. S. y S. Nandini. 1997. International workshop on field cultivation technology of rotifers for use as food in aquaculture. UNAM Campus Iztacala, México. 36 p.

**Scott**, A. P. y C. Middleton. 1979. Unicellular algae as a food for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. The importance of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*. 18: 227-240.

**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, 1991. The Oceanic Institute.

**Sorgeloos**, P. y J. Sweetman. 1993. Aquaculture success stories. *World Aquaculture*. 24: 4-14.

**Stelzer**, C. P. 2002. Phenotypic plasticity of body size at different temperatures in a planktonic rotifer: mechanisms and adaptive significance. *British Ecological Society, Functional Ecology*. 16: 835-841.

**Suchar**, V. A. y P. Chigbu. 2006. The effects of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. *Journal of experimental marine biology and ecology*. 337: 96-102.

**Tamaru**, C. S. y L. Cheng-Seng. 1991. Improving the Larval Rearing of Striped Mullet (*Mugil cephalus*) by Manipulating Quantity and Quality of the Rotifer, *Brachionus plicatilis*. En: Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceeding of a U.S. – Asia Workshop. Honolulu, HI, 1991. The Oceanic Institute.

**Tocher**, D. R., G. Mourente y J. R. Sargent. 1992. Metabolism of [ $1-^{14}\text{C}$ ] docosahexaenoate (22 : 6n-3), [ $1-^{14}\text{C}$ ] eicosapentaenoate (20 : 5n-3) and [ $1-^{14}\text{C}$ ] linolenate (18 : 3n-3) in brain cells from juvenile turbot *Scophthalmus maximus*. *Lipids*. 27: 494-499.

**Tuker, J. W.** y Jory, D. E. 1991. Marine fish culture success stories. *World Aquaculture*, 22 (1): 10-27.

**Vázquez, R.** 1994. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and fist-feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture*. 119: 273-286.

**Walne, P. R.** 1974. Culture of Bivalve Molluscs. 50 Years of Experience at Conway. Fishing News (Books) Ltd., Surrey, Great Britain. 173 p.

**Watanabe, T., C. Kitajima** y S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*. 34: 115-143.

**Whyte, J. N. C.** y W. D. Nagata. 1990. Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast or phytoplankton. *Aquaculture*. 89: 263-272.

**Webb, K. L.** y F. L. Chu. 1982. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. En: Pruder, G., C. J. Langdon y D. E. Concklin. Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition, 2. Louisiana State University, Baton Rouge, LA. 272-291.

**Ye, Y.** 1999. Historical consumption and future demand for fish and fishery products. Exploratory calculations for the years 2005-2030. *FAO Fish. Circ.* 946. 31 p.

BIBLIOTECA CUCBA