

Estudio comparativo de la densidad poblacional de *Brachionus plicatilis* (Mueller, 1786), alimentado con microalgas y Selco® (HUFA) cultivados a 10 gL⁻¹ de salinidad en laboratorio.

Orozco-Rojas DI*, Durán-Carlos V, Cardoso-Parra AK, Castro-Mejía J, Castro-Mejía, G.
*d.orozco508@gmail.com

Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco. Departamento el Hombre y su Ambiente.
Laboratorio de Alimento Vivo. Calzada del hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán.
C.P. 04960. D.F. México. Tel: 5483-7151.

RESUMEN

El rotífero *Brachionus plicatilis* es un organismo que se emplea en la alimentación de fases larvarias de crustáceos y alevines de peces, por lo que se hace indispensable en el laboratorio contar con producciones masivas de forma continua. El presente trabajo consideró la utilización de tres microalgas (*Chlorella vulgaris*, *Sphaerocystis* sp. y *Haematococcus pluvialis*), cada una enriquecida con 10 mL de Selco® rico en ácidos grasos (HUFA) y una combinación de las tres con Selco. La salinidad de cultivo fue de 10 UPS y la temperatura se controló a 23±2°C, con aireación continua. Los cultivos se hicieron en cilindros de 200L de capacidad con 160L de agua. Cada tercer día los organismos fueron contados para determinar la densidad poblacional, hasta completar tres meses. La densidad inicial del cultivo fue de 1,600,000 organismos/160L (10 org/mL). La densidad de rotíferos que se alcanzó con las microalgas + Selco fue entre los 4.8 x10⁶ a los 5.9 x 10⁶ organismos/160 L de cultivo, con una Ro entre 6.90-8.93, una Tc entre 21 y 31 días y una “r” entre 0.070 y 0.089; mientras que en la dieta combinada + Selco se alcanzó hasta los 35 x 10⁶ org/160L, una Ro de 59.70, una Tc de 33 y una “r” de 0.120. Con todo lo anterior se puede concluir que aunque la dieta cubra los requerimientos de tamaño y tenga una composición nutricional adecuada, la combinación de tres microalgas que completan los requerimientos nutricionales de este organismo, así como el suplemento de ácidos grasos, el cual no se encuentra en proporciones altas en las microalgas verdes, permiten una mayor digestibilidad del alimento, mejor sobrevivencia, así como más altas tasas de reproducción y crecimiento de estos organismos filtradores.

Palabras clave: Rotíferos, AGE, producción, tabla de vida

INTRODUCCIÓN

Con la finalidad de satisfacer las demandas alimentarias de distintos organismos de interés comercial y por sus principales ventajas como su alto valor nutricional de *Brachionus plicatilis* para el organismo consumidor además de que este se ha aislado y cultivado con éxito, utilizándose en el desarrollo de la larvicultura de peces y crustáceos marinos y dulce acuícolas (Rosas, 1998) el rotífero *Brachionus plicatilis* ubicado en la clase Aschelminata, orden Monogononta, superfamilia Brachionioidea (Castellanos, 1999), es un crustáceo microinvertebrado que representa a los más pequeños metazoarios pseudocelomados no segmentados, con una alta distribución mundial encontrándose en ambientes acuáticos y semiterrestres; que pueden ser sésiles o libres nadadores que poseen tres características anatómicas que los identifican: la corona, el mástax y la lórica (Romero, 2008).

Nogardy, 1993, citado por Romero, 2008 menciona que los rotíferos se caracterizan por tener las tasas reproductivas más altas entre los metazoarios y son capaces de poblar rápidamente nichos vacantes, llegando a integrar hasta el 30% de la biomasa del plancton. Su reproducción puede ser tanto sexual como por partenogénesis, dependiendo de las condiciones ambientales y alimenticias. La fase sexual implica la aparición de machos y es por un periodo breve como puede ser en condiciones de laboratorio.

Es filtrador no selectivo que se alimentan tanto de bacterias, así como de organismos vivos de

Densidad de población de rotíferos alimentados con microalgas + Selco.
Orozco-Rojas DI, Durán-Carlos V, Cardoso-Parra AK, Castro-Mejía J, Castro-Mejía, G.

tamaño apropiado como algas verdes microscópicas entre las que destacan *Chlorella vulgaris*, *Sphaerocystys* sp. y *Haematococcus pluvialis*, suministrando proteínas y pigmentos, estas presentes en ambientes dulces (Castellanos, 1999).

El rotífero *Brachionus plicatilis* ha sido considerado en los últimos 20 años, como uno de los recursos alimenticios más adecuados en la acuicultura, por su facilidad de cultivo, tamaño, calidad nutricional y por su carácter eurihalino y euritermo (Vallejo, 1993).

MATERIAL Y METODOS

Preparación de alimento

Para alimentar al *Brachionus plicatilis* se cultivaron tres microalgas verdes de agua dulce (*Chlorella vulgaris*, *Sphaerocystys* sp. y *Haematococcus pluvialis*), además de un enriquecedor con ácidos grasos altamente insaturados (HUFA; Selco®). Cada tercer día, 6L del cultivo de cada microalga fueron extraídos de los cultivos y suministrados a cada uno de los cilindros de cultivo, así como 20 mL de la solución emulsificada Selco®.

Los fertilizantes utilizados en las microalgas fueron Urea (fertilizante foliar enriquecido Growgreen 1 Kg/4L agua; 5mL/20mL cultivo) y Triple 17 (N:P:K 17%; 100 g/500mL agua; 10 mL/20L cultivo), al inicio del cultivo y cada vez que el 50% del medio de cultivo era renovado. El Selco, es una solución comercial, la cual ya viene preparada.

Cultivo de *Brachionus plicatilis*

El cultivo de organismos se realizó en cilindros de plástico de 200L de capacidad, los cuales fueron llenados a 160L de agua a 10 UPS de salinidad. La temperatura ($25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$), pH (7-8) y la iluminación se mantuvieron constantes durante todo el experimento. Al inicio del experimento, 10 org/mL fueron sembrados y alimentados cada tercer día, hasta completar tres meses de cultivo.

Conteo de individuos

Cada tercer día durante 90 días se filtraron 10 litros del cultivo de cada cilindro con un tamiz,

la biomasa retenida en éste se colocó en un vaso de precipitados hasta completar con agua 80mL. Posteriormente con una micropipeta se tomaron diez muestras de 0.1mL, las cuales fueron observadas para su conteo en un microscopio. Los datos obtenidos fueron extrapolados a 160L.

Tabla de vida

Los datos obtenidos cada tercer día fueron procesados por un programa de Tablas de Vida para obtener la tasa de reproducción (R_0), tiempo generacional de la cohorte (T_c), y la tasa intrínseca de crecimiento (r).

RESULTADOS

Los valores de la densidad poblacional de los rotíferos tomados cada tercer día, se presentan en la Tabla 1. Como se puede observar, las dietas presentan un crecimiento constante hasta el día 60, en donde se encuentra su pico máximo, menos la dieta con la combinación de las tres microalgas con Selco, el cual se presenta a los 57 días. A partir de esta fecha los cultivos decaen hasta el día 90. Solamente la dieta con las tres microalgas y Selco se mantiene en un 50% de la densidad poblacional con respecto a su pico máximo.

La densidad máxima obtenida por las dietas con cada una de las microalgas + Selco, mantuvieron una densidad máxima de 30 – 37 org/mL, mientras que la dieta combinada más Selco obtuvo una densidad poblacional máxima de 178 org/mL (35035480 ± 3340 organismos).

La mejor tasa de producción (R_0) se presentó con la dieta combinada + Selco con 59.70 org/hembra; con un tiempo generacional de la cohorte (T_c) de 34 días y una tasa de crecimiento (r) de 0.120. Los valores más bajos se presentaron con la dieta de *C. vulgaris*. ($R_0= 6.90$; $T_c=22$ días; $r=0.089$) (Tabla 2).

En la Fig.1, se presentan las curvas de densidad poblacional con las dietas empleadas, las cuales muestran su curva de tendencia de crecimiento. Siendo la polinómica, la curva que mejor relación presentó.

Tabla 1. Valores promedio (\pm D.S.) de la densidad poblacional obtenida por día de muestreo en los cultivos con las cuatro dietas experimentales.

Día de muestreo	<i>Chlorella vulgaris</i> + Selco	<i>Haematococcus pluvialis</i> + Selco	<i>Sphaerocystys</i> sp. + Selco	Combinación tres microalgas + Selco
0	1600000	1600000	1600000	1600000
	$\pm 5\ 874$	± 2838	± 3088	± 3636
3	658474	704407	648965	699254
	$\pm 4\ 906$	± 4332	± 4524	± 3137
6	680133	667377	632244	690963
	$\pm 4\ 856$	± 5906	± 2840	± 4803
9	676426	619839	627803	697317
	± 4810	± 5130	± 5967	± 5163
12	1737985	1672782	1033978	3754093
	± 3632	± 3965	± 3051	± 3463
15	2968758	2276786	1317812	4588230
	± 4574	± 2178	± 2819	± 3760
18	3013837	2534434	2778208	4821405
	± 4023	± 2209	± 2509	± 5443
21	3439417	2715073	2961820	15879376
	± 2788	± 2148	± 3040	± 5386
24	3978474	3953985	3883932	16824928
	± 3269	± 3297	± 5603	± 5184
27	3777899	3804125	3971762	17893742
	± 4885	± 5173	± 3722	± 4080
30	3719169	3771174	3801872	16774835
	± 5187	± 4044	± 4869	± 3221
33	3694203	3788233	3799798	16032308
	± 5586	± 5807	± 2112	± 5529
36	3923672	3879698	3951109	18079738
	± 4825	± 5307	± 3647	± 4218
39	3946515	3941131	4084988	20096138
	± 2885	± 4811	± 5503	± 4467
42	4079142	4826338	4293264	25304010
	± 5783	± 2171	± 3329	± 3311
45	4660767	4948670	5076811	28596010
	± 2165	± 3579	± 4335	± 5616

Densidad de población de rotíferos alimentados con microalgas + Selco.
Orozco-Rojas DI, Durán-Carlos V, Cardoso-Parra AK, Castro-Mejía J, Castro-Mejía, G.

Tabla 1. Valores promedio (\pm D.S.) de la densidad poblacional de rotíferos (Continuación....).

Día de muestreo	<i>Chlorella vulgaris</i> + Selco	<i>Haematococcus pluvialis</i> + Selco	<i>Sphaerocystys</i> sp. + Selco	Combinación tres microalgas + Selco
48	4489547 \pm 2931	4929909 \pm 3552	5139894 \pm 2369	30599420 \pm 4900
51	4640063 \pm 3170	5087224 \pm 4745	5235417 \pm 3546	31132130 \pm 2083
54	4634476 \pm 3797	5112674 \pm 5175	5254757 \pm 2576	32341460 \pm 5028
57	4711831 \pm 5309	5138016 \pm 3948	5677971 \pm 2823	35035480 \pm 3340
60	4834798 \pm 2414	4926186 \pm 2378	5962693 \pm 4393	28378030 \pm 2498
63	4766203 \pm 2605	2248871 \pm 2466	4882404 \pm 5259	26395547 \pm 4726
66	4436294 \pm 4584	1277971 \pm 5920	2239759 \pm 5075	25119991 \pm 3071
69	3724800 \pm 4874	1280208 \pm 5185	2778951 \pm 2951	28910515 \pm 3381
72	2946154 \pm 4319	1389099 \pm 5494	1858555 \pm 3415	29116040 \pm 5986
75	1564487 \pm 2610	933949 \pm 5858	712110 \pm 3667	28743376 \pm 3673
78	686021 \pm 2925	875559 \pm 2678	651583 \pm 2460	28033172 \pm 3321
81	572441 \pm 2518	874069 \pm 3721	507890 \pm 5565	28215304 \pm 2682
84	450122 \pm 2199	647750 \pm 3738	444112 \pm 2732	26428366 \pm 4426
87	263781 \pm 3945	159209 \pm 3750	68580 \pm 3647	16067728 \pm 2232
90	87136 \pm 2748	94453 \pm 2476	45599 \pm 5573	14512104 \pm 6000

Densidad de población de rotíferos alimentados con microalgas + Selco.
Orozco-Rojas DI, Durán-Carlos V, Cardoso-Parra AK, Castro-Mejía J, Castro-Mejía, G.

Recibido: 01 de Junio de 2012.

Aceptado 01 de Agosto de 2012.

Publicado: 01 de Diciembre de 2012

Tabla 2. Valores de la tasa de crecimiento (Ro), tiempo generacional de la cohorte (Tc) y tasa de crecimiento de los organismos alimentados con las cuatro dietas experimentales.

Dieta suministrada	Tasa de reproducción (Ro) $\sum l_x m_x$	Tiempo generacional de la cohorte (Tc) $\sum x l_x m_x / R_o$	Tasa instantánea de crecimiento (r) $\log_e R_o / T_c$
<i>Chlorella</i> + Selco	6.90	21.64	0.089
<i>Haematococcus</i> + Selco	7.14	23.42	0.084
<i>Sphaerocystis</i> + Selco	8.93	31.03	0.070
Combinación tres microalgas + Selco	59.70	33.89	0.120

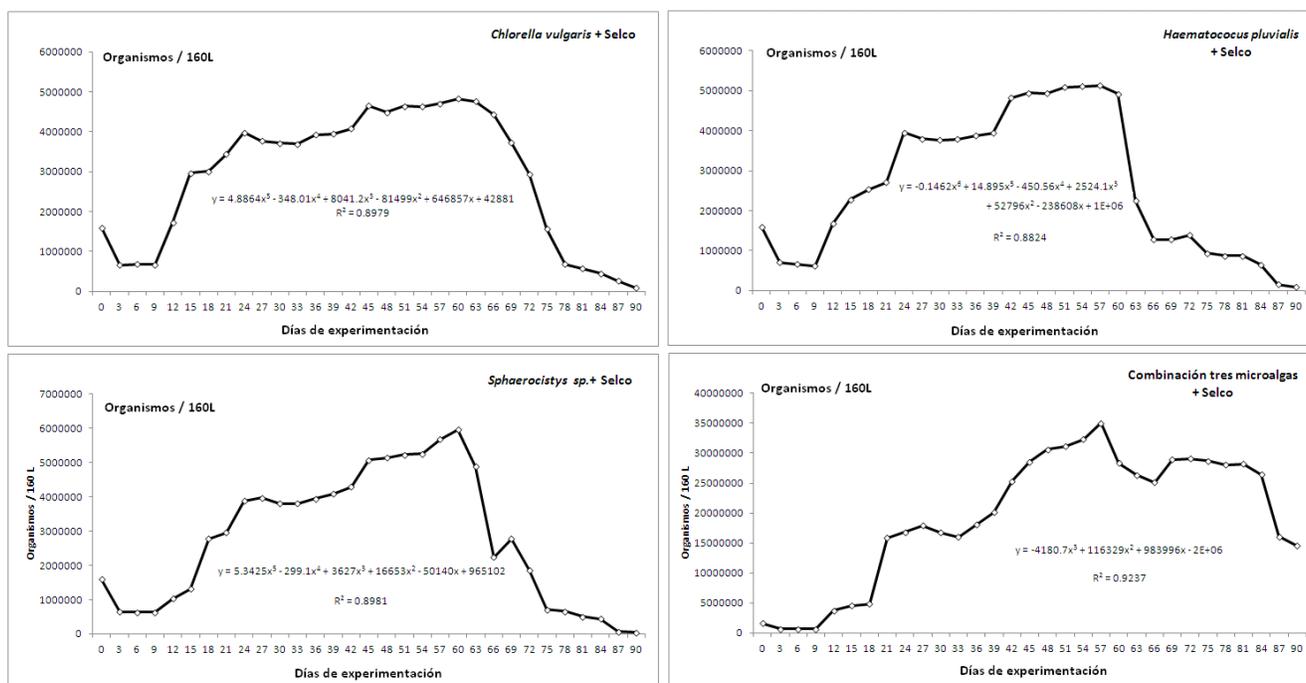


Fig.1. Curvas de la densidad poblacional de rotíferos cultivados con las cuatro dietas experimentales y sus fórmulas polinomiales de curvas de tendencia.

Densidad de población de rotíferos alimentados con microalgas + Selco.
 Orozco-Rojas DI, Durán-Carlos V, Cardoso-Parra AK, Castro-Mejía J, Castro-Mejía, G.

Recibido: 01 de Junio de 2012.

Aceptado 01 de Agosto de 2012.

Publicado: 01 de Diciembre de 2012

DISCUSIÓN

Varios trabajos han comparado las diferencias existentes del crecimiento poblacional de las diversas especies de rotíferos, suministrando distintas dietas. Los cultivos masivos del rotífero *B. plicatilis* se pueden realizar utilizando como alimento microalgas o dietas preparadas como es el caso de este experimento al utilizar tres microalgas por separa y una dieta con la combinación de las tres, incorporando un enriquecedor comercial (Selco®), rico en ácidos grasos insaturados. Como mencionan Pérez (1989) y Espinosa (2007) en sus investigaciones afirmando que los mejores resultados se obtienen al combinar el alimento, (*Tetraselmis* sp y levadura para hornear enriquecido con aceite de hígado de bacalao) debido a que aumentarían su contenido de ácidos grasos en comparación a una dieta convencional, ya que entre mayor energía obtenida por la ingesta de alimento existe una mayor reproducción, crecimiento y mantenimiento aumentando de este modo el tamaño de la población.

Larios, 2001 realizó un estudio con *B. calyciflorus* y *B. patulus* en el cual comparó el crecimiento poblacional implementando una dieta de alga verde (*C. vulgaris*), una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y su mezcla en proporciones iguales, resultando la dieta más adecuada aquella en la que se le proporcionó la combinación de ambas, mostrando una mayor abundancia en la población. Esto demuestra que *C. vulgaris* es una de las microalgas más utilizadas como alimento ya que se encuentra dentro del rango adecuado (1-5nm) para ser consumida de manera más eficaz por el organismo, por tanto presenta un alto porcentaje de filtración y digestibilidad, además de que incrementa la cantidad de aminoácidos y proteínas que asimilan los rotíferos (Espinosa 2007). Lo que sugiere que la respuesta numérica y funcional que mostró *B. plicatilis* en las poblaciones de cultivo, es resultado no solamente del tamaño de alimento empleado, sino también a la composición nutricional del alimento empleado. Así como su concentración en el medio (Benítez 2006). Factores que fueron controlados en esta investigación.

En la figura de la densidad poblacional de cada una de las dietas empleadas, se observa al

principio un incremento de la mortalidad entre el 9-10 día de experimento, periodo en el cual los organismos se aclimatan a la salinidad, alimento y condiciones del cultivo, Sosa (2007), menciona que la tasa de crecimiento de este tipo de organismos a la capacidad eurihalina que tienen, además de la condición de alimentación generalista (con escasa habilidad para discriminar el alimento), lo cual les permite adaptarse rápidamente a las condiciones ambientales del medio de cultivo, así como del alimento suministrado, tanto vivo (microalgas) como inerte (Selco).

La temperatura es un factor determinante en el crecimiento de los rotíferos, un ejemplo de ello es el estudio realizado por Pavón (1993), el cual monta tres cultivos de rotíferos, cada uno a distintas temperaturas (25°C, 27°C y 29°C), obteniendo la mayor densidad poblacional a 27°C. Hirayama y Kusano (1972) citado en Coll (1991), señalan que la temperatura óptima para el cultivo en masas de rotíferos es de 25°C-27°C con un pH de 7.7-8.2 (Pérez 1989), lo cual aumenta el número de hembras con huevo, causando una aceleración en el crecimiento poblacional. Esta condición de temperatura fue mantenida en los experimentos realizados con las tres dietas pudiendo observar una producción máxima de individuos de 30 a 37 org/mL, siendo el máximo encontrado en la dieta combinada con Selco con 178 org/mL.

En todos los casos de la dieta utilizada, la tasa de crecimiento presentó un rango de 0.089 a 0.120. Densidad máxima en la capacidad de carga que el cilindro es capaz de mantener teniendo como consecuencia en los últimos muestreos una alta mortalidad lo cual se ve reflejado en una curva de supervivencia del tipo I caracterizada por altas mortalidades en las categorías de edad más avanzadas (Valverde, 2005), esto se puede explicar a causa de que los cultivos se mantuvieron en condiciones controladas; ya que de lo contrario en condiciones naturales la curva de supervivencia característica en estos organismos es de tipo III.

Con todo lo anterior se puede concluir que en cultivos cerrados semi intensivos a nivel laboratorio, además de cuidar las condiciones físico-químicas del medio, es importante la incorporación de alimento que no solamente cubra el tamaño

indicado para la filtración de estos organismos, sino el complemento nutricional que cada una de las microalgas tienen, las cuales se complementan al incorporar las tres, en un mismo sistema, además de un enriquecedor de ácidos grasos, componente nutricional, que no se encuentra en proporciones altas en las microalgas verdes, permitiendo con ello no solamente el cubrir los requerimientos nutricionales, sino una mejor digestibilidad del alimento, permitiendo con ello una mejor sobrevivencia, tasa de reproducción y crecimiento de estos organismos filtradores (Wallace, 2006).

CONCLUSIONES

La combinación de tres microalgas verdes, con el tamaño y concentración adecuada, además de la incorporación de un enriquecedor de ácidos grasos altamente insaturados, permite una mejor densidad poblacional en los cultivos de *B. plicatilis* en condiciones de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

- Benítez D, MI Mirón. 2006. Comparación morfométrica del rotífero *Brachionus angularis* (Gosse, 1851) entre una población silvestre y una población cultivada en laboratorio: evaluación para su utilización en acuicultura. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. México. 31 p.
- Castellanos PME, MG Garza, SH Maraño. 1999. aislamiento, caracterización, biología y cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller). Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. México. 119p.
- Coll MJ. 1991. Acuicultura Marina Animal. 3ª edición. Ed. Mundi- Pensa. Madrid. 671p.
- Espinosa RCA. 2007. Efecto de diferentes dietas (*Chlorella vulgaris* y *Selenastrum capricornutum*), Tesis de licenciatura UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, México. 15-19 p.
- Larios JPS. 1999. Crecimiento poblacional de los rotíferos: *Brachionus caluciflorus pallas*, *Brachionus patulus* (Muller) *Asplanchna sieboldi* (Leydig) en relación a diferentes alimentos bajo condiciones de laboratorio. UNAM Facultad de Ciencias. México. 1, 2, 12 p.
- Pavón MEL. 1993. Desarrollo de una técnica de cultivo para la producción masiva del rotífero *Brachionus calyciflorus*, UNAM. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. México. 3, 22, 23 p.
- Pérez R, G Torres. 1989. Efectos de diferentes dietas (naturales y artificiales) en el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus plicatilis*, UAG. Escuela de Biología. 4, 8, 9, 12, 16 p.
- Romero L. 2008. Caracterización morfométrica y aspectos filogenéticos de cepas de rotíferos del grupo *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae) utilizados en la acuicultura peruana. Facultad de Ciencias Biológicas. UNMSM. Lima, Perú. 76p.
- Rosas CJ, T Cabrera, J Millán. 1998. Efecto de la dieta en el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller. 1786) Cepa Us. Instituto de investigaciones científicas. Universidad de Oriente. Nueva Esparta Boca de Rio. 6 p.
- Sosa FGA. 2007. Consideraciones y necesidades de producción de alimento vivo en la Acuicultura Veracruzana. Revisita de los acuicultores Veracruzanos. Desarrollo acuícola, vol 2(1), avac, México. 3-4 p.
- Vallejo IA. 1993, Efecto de la salinidad sobre el crecimiento poblacional y el rendimiento del rotífero *Brachionus plicatilis* (cepa Ciénaga Grande de Santa Martha). An. Inst. Invest. Mar. Punta Betin, Colombia. 10 p.
- Valverde T, 2005. Ecología y medio ambiente. 1ª ed. pp. 47-49. Ed. Pearson. México. 240p.
- Wallace RL, Snell TW. Ricci C. Nogrady T. 2006. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Rotifera, volume 1: Biology, Ecology and Systematics. Ed Segers H. Leiden the Netherlands. 299 p.