



TASA DE CRECIMIENTO SIMPLE (TCS) DEL ROTÍFERO *Brachionus calyciflorus* CON DIFERENTES TIPOS DE ALIMENTO

SIMPLE GROWTH RATE (SGR) OF THE ROTIFER *Brachionus calyciflorus* WITH DIFFERENT TYPES OF FOOD

Marco A Imués-Figueroa^a Zoot MSc, Gustavo A Torres-Valencia^a PA, Wilmer R Sanguino-Ortiz^a IPA, Frank Chapman^b PhD

Recibido: 06-dic-2016

Aceptado: 11-may-2017

RESUMEN

Brachionus calyciflorus es un rotífero de agua dulce que ha cobrado gran importancia en la alimentación de algunos peces en la etapa de larvicultura, una fase crítica en la cual ha demostrado ser un excelente alimento vivo, procurando una solución para la acuicultura; sin embargo, existen pocos estudios sobre técnicas para su cultivo en masa. El presente estudio pretende determinar el efecto de diferentes dietas consistentes en microalga *Chlorella vulgaris* (T1), levadura *Saccharomyces cerevisiae* (T2) y microalgas mas levadura (T3), sobre la tasa de crecimiento simple (TCS) de este rotífero cultivado en laboratorio. Para ello se realizó dos experimentos; uno a temperatura baja ($22,67 \pm 0,57^\circ\text{C}$) y otro a temperatura alta ($28,4 \pm 1,03^\circ\text{C}$), distribuidos en un diseño en bloques completos al azar, con submuestreo, y tres réplicas por tratamiento, los cuales fueron desarrollados en el Laboratorio de Alimento Vivo de la Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. La densidad inicial en el Experimento 1 fue de $3,67 \pm 0,4$ rot.ml⁻¹ y de $18,89 \pm 2,47$ rot.ml⁻¹ en el Experimento 2, cuyas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$). La TCS mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre experimentos, siendo mayor en el Experimento 2, con promedio de crecimiento poblacional superior en el T2 ($18,48 \pm 7,97\%$) y en el T3 ($67,11 \pm 10,01\%$), diferencias que no fueron significativas en el T1. El comportamiento de la temperatura y el pH del agua no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) y permanecieron estables a lo largo del periodo experimental. Esto permite concluir que la TCS fue mayor cuando se alimentó con algas+levadura, a temperatura media de 28°C , cuyo crecimiento es sostenido hasta el quinto día, especialmente cuando se inició con bajas densidades, por lo que se recomienda realizar cosecha dentro del período de mayor crecimiento, cuando seguramente se tendrá mayor población.

Palabras clave: Larvas de peces, acuicultura, zooplancton, rotífero.

ABSTRACT

Brachionus calyciflorus is a freshwater rotifer that has gained great importance in the feeding of some fish in the stage of larviculture, a critical phase in which it has proved to be an excellent live food, looking for a solution for aquaculture; however, there are few studies on techniques for mass culture. The present study aims to determine the effect of different diets consisting of microalgae *Chlorella vulgaris* (T1), yeast *Saccharomyces cerevisiae* (T2) and microalgae+yeast (T3), on the simple growth

^a Profesores, Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. marcoi@udenar.edu.co, gustavotorresvalencia@gmail.com, wilmer963@gmail.com

^b Profesor, Universidad de Florida. fchapman@ufl.edu

rate (SGR) of this rotifer cultured in laboratory. Two experiments were carried out; one at low temperature ($22.67 \pm 0.57^\circ\text{C}$) and other one at high temperature ($28.4 \pm 1.03^\circ\text{C}$), distributed in a randomized complete block design, with sub-sampling, and three replicates per treatment, which were developed at the Live Food Laboratory of the University of Nariño, Pasto, Colombia. The initial density in Experiment 1 was $3.67 \pm 0.4 \text{ rot.ml}^{-1}$ and $18.89 \pm 2.47 \text{ rot.ml}^{-1}$ in Experiment 2, whose differences were not significant ($p > 0, 05$). The SGR showed significant differences ($p 0.05$) and remained stable throughout the experimental period. This leads to the conclusion that SGR was higher when fed with algae + yeast, at an average temperature of 28°C , whose growth is sustained up to the fifth day, especially when it started with low densities, so it is recommended to harvest within the period of greatest growth, when there will probably be a larger population.

Keywords: fish larvae, aquaculture zooplankton, rotífero.

INTRODUCCIÓN

El rotífero *Brachionus calyciflorus*, un miembro común del zooplancton de agua dulce ^[1], ha resultado de gran importancia en la alimentación de post-larvas de algunos peces, lo cual ha sido demostrado por varios autores ^[2], convirtiéndolo en un excelente alimento vivo en acuicultura ^[3]; sin embargo, muy pocos reportan técnicas para su cultivo en masa ^[4], por lo que se requiere el desarrollo de estudios sobre los tipos de alimento y las dietas más adecuadas para optimizar el crecimiento poblacional.

El pequeño tamaño de los rotíferos del género *Brachionus* ha inducido que sea usado como alimento vivo en acuicultura ^[5]; sin embargo, la utilización para especies ícticas de agua dulce es bastante escasa, debido principalmente a que los rotíferos marinos mueren rápidamente cuando se introducen en agua dulce ^[6]. También existen especies de este género en ambientes dulceacuícolas, donde son habitantes frecuentes y abundantes de aguas cálidas, por lo que se ha intentado el trabajo con algunas de ellas como *B. calyciflorus* o *patulus*, cultivados en alta densidad, para luego ser suministrados en alevinos de varios peces de agua dulce ^[7].

Se reportan algunas investigaciones utilizando *B. calyciflorus*, realizados por Sneli y Persoone hacia los años 1989, quienes lo usaron en ensayos de toxicidad enfocados a determinar la sensibilidad a 28 tóxicos, en diferentes temperaturas y salinidades, demostrando mayor idoneidad para este tipo de estudios que la *Daphnia magna* ^[8], y otros autores que han utilizado este organismo en estudios de ecotoxicología ^[9, 10].

Por otra parte, se sabe que la longevidad y la fecundidad están claramente influenciadas por la temperatura ^[11]. Kauler y Enesco ^[12], analizando estas dos variables a 16, 22 y 29°C en *Brachionus calyciflorus*, encuentran que, a temperaturas bajas, existe una prolongación de los periodos pre-reproductivos y reproductivos; se ha comprobado que la fecundidad se reduce significativamente por la supresión de la tasa de reproducción. Sin embargo, en muchos casos, cuando la temperatura decrece, los organismos que se encuentran adaptados a temperaturas bajas muestran un desarrollo embrionario más veloz que los adaptados a temperaturas altas; lo contrario cuando la temperatura aumenta ^[13].

En estudios sobre crecimiento poblacional de *Brachionus sp.*, “Cayman” cepa Chilca, alimentado con diferentes especies de algas, se alcanzó una tasa de crecimiento de $0,40 \pm 0,01$ por día, con una densidad final de $190 \pm 5,51 \text{ indiv.ml}^{-1}$, utilizando *Nannochloropsis maculata* ^[14]. Por su parte, Sarma et al ^[15] encontraron que la tasa de crecimiento poblacional diaria, de *B. calyciflorus* fue mayor ($0,13 \pm 0,03$ a $0,63 \pm 0,04$) cuando se alimentó con una mezcla de *Chlorella vulgaris* y *Saccharomyces cerevisiae*, aunque menores a los obtenidos en *B. patulus* ($0,19 \pm 0,01$ a $0,37 \pm 0,01$). Sugumar y Munnuswamy ^[4] alcanzaron un incremento poblacional diario de $2,10 \pm 0,03$ individuos/ml, alimentando con *C. vulgaris* a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura del agua.

Con base en los argumentos planteados anteriormente, se desarrolló el presente estudio, con el fin de determinar el efecto de diferentes tipos de dieta (T1: alga *C. vulgaris*, T2: levadura *S.*

cerevisiae y T3: la combinación de estas dos dietas), sobre la tasa de crecimiento simple

(TCS) en el rotífero *B. calyciflorus*, en experimentos desarrollados en los Laboratorios de Acuicultura de la Universidad de Nariño.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Alimento Vivo del Programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño, Pasto, al sur occidente de Colombia, a una altura de 2.527 msnm, temperatura ambiental promedio 13,3°C, temperatura del agua 16°C, precipitación pluvial de 415 mm al año y humedad relativa del 73% [16].

Se utilizó una población clonal de la especie citada, a partir de una cepa aislada en el mismo Laboratorio, que se cultivó durante dos semanas previas en un acuario con 50 L de agua, a temperatura de 22,5±1,1°C, pH de 8,6±0,7 y *Chlorella vulgaris* como alimento, en concentración de 6,72×10⁶ cel.ml⁻¹ por cada 1.000 rotíferos (rot), similar a las recomendaciones de algunos autores [2, 4, 15, 17], hasta alcanzar una media de 5,6 rot.ml⁻¹, en un conteo de 10 muestras. La cepa de rotífero fue obtenida en los estanques de una estación acuícola ubicada en el corregimiento de El Remolino, municipio de Taminango, departamento de Nariño, Colombia, localidad que se encuentra a una altura de 504 msnm, temperatura ambiente de 28°C y temperatura del agua de 26°C.

El experimento se efectuó en unidades homogéneas conformadas por frascos de vidrio con 3 L de agua, a temperatura promedio de 22,67±0,57 °C y pH de 8,06±0,11 que se mantuvieron constantes durante todo el período,

con baja variabilidad entre tratamientos (CV: 2,53% y 1,30% respectivamente). Un segundo experimento se desarrolló a temperatura del agua de 28,4±1,03°C y pH de 7,6±0,4 en promedio. Las demás condiciones experimentales fueron similares.

Se aplicó un diseño experimental en bloques completos al azar (BCA) con sub-muestreo; los bloques fueron constituidos por los dos experimentos y los tratamientos por tres tipos de dieta: *C. vulgaris* a una densidad de 100.000 células por mililitro, por cada 1.000 rot (T1); *S. cerevisiae*, a razón de 1 g por cada 1.000 rot, diluido en agua destilada mediante licuadora (T2); algas+levadura (T3), calculando la mitad de las cantidades de los otros dos tratamientos. Cada tratamiento contó con tres réplicas.

Para calcular el crecimiento poblacional y la población total se realizó conteo diario, durante siete días, utilizando una cámara Sedgwick Rafter, datos que fueron utilizadas para el ajuste de la cantidad de alimento a suministrar y estimar la tasa de crecimiento simple (TCS). Previo a ello se realizó la verificación de los supuestos estadísticos de normalidad, homogeneidad de varianzas e independencia, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de Tukey, para establecer diferencias significativas ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran los valores de TCS en porcentaje, por cada uno de los tratamientos y experimentos, al ser comparados para identificar diferencias significativas.

Es importante mencionar que el conteo en el Experimento 1 fue de 3,67±0,4 rot.ml⁻¹, densidad poblacional inicial con variabilidad del 10,92%; en el Experimento 2 la densidad alcanzó 18,89±2,47 rot.ml⁻¹ y variabilidad del 13,09%, diferencias que no fueron significativas ($p > 0,05$) dentro de cada experimento; la

TCS total fue de 37,81±22,36% diario, valor estimado para todo el período experimental, en donde se identificó alta variabilidad, en un coeficiente de variación (CV) de 59,14%.

Lo anterior muestra una baja variabilidad entre experimentos y a lo largo del período experimental, aún con densidades poblacionales altas, que indica un manejo adecuado en cuanto al control ambiental, lo cual se puede explicar por cuanto *B. calyciflorus* es euritermo, capaz de producir tasas de crecimiento poblacional

positivas cuando se cultiva a temperaturas entre los 10 y 40°C [8].

Al realizar el análisis de varianza se pudo evidenciar la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los experimentos estudiados, con TCS mayor en el Experimento 2, en

el cual se estableció un promedio de crecimiento poblacional significativamente superior en el T2 ($18,48 \pm 7,97\%$) y en el T3 ($67,11 \pm 10,01\%$), diferencias no fueron significativas cuando se compararon con el T1 ($p > 0,05$).

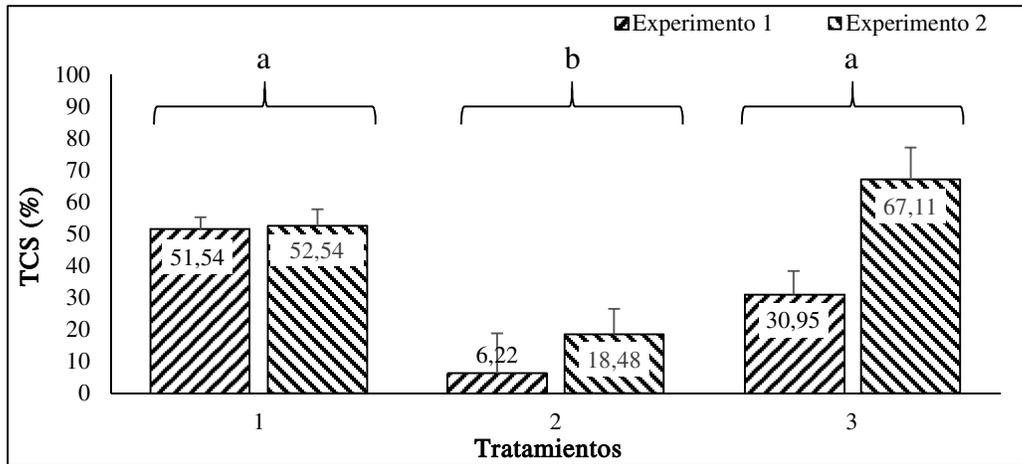


Figura 1. Valores de TCS en *Brachionus calyciflorus* alimentados con *C. vulgaris* (T1), *S. cerevisiae* (T2), algas+levadura (T3). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La comparación entre tratamientos indica diferencias significativas ($p < 0,05$) del T2 con respecto a los otros, pero sin diferencias significativas entre T1 y T3 (algas+levadura), siendo significativamente menor el crecimiento poblacional de los rotíferos cuando fueron cultivados con levadura como alimento, con crecimiento poblacional similar al reportado por Sarma et al [15], quienes aseguran que *B. calyciflorus* presenta una alta tasa de crecimiento cuando se alimenta con *C. vulgaris* o en combinación con levadura, especialmente si se tiene alta densidad.

En la Figura 2 se indica el comportamiento de la TCS en cada uno de los experimentos, a lo largo de todo el período, discriminado por tratamientos. Aquí es posible identificar un comportamiento variable en la TCS, que fue mayor durante los dos primeros días, posiblemente por constituir un período de establecimiento, puesto que se inició utilizando concentraciones diferentes, ante la dificultad para tener poblaciones homogéneas; la densidad inicial fue de $3,67 \pm 0,4$ rot.ml⁻¹ en el Experimento 1 y $18,87 \pm 2,47$ rot.ml⁻¹; sin embargo, al transcurrir el período, las poblaciones tienden a estabilizarse y a disminuir la heterogeneidad,

quizá debido a las características reproductivas de la especie en estudio.

Es importante destacar que el crecimiento poblacional tuvo una tendencia ascendente hasta el cuarto día, al mantener un valor de TCS constante, siendo mayor la homogeneidad en el primer experimento (CV 19,63%) que en el segundo (CV 35,38%), lo cual lleva a pensar que densidades iniciales bajas, con temperaturas medias de cultivo, alrededor de 22,6°C, puede generar un crecimiento sostenido de la población de rotíferos.

La tendencia de mayor crecimiento se extiende hasta el día 5, período en el cual puede efectuarse la cosecha, garantizando una mayor población. La TCS fue mayor en el Experimento 1 en el período citado (Figura 2A), especialmente cuando se utilizó como alimento alga+levadura; posteriormente se evidenció una tendencia decreciente hasta el final; aunque se obtuvo una mayor población en el Experimento 2, la TCS global fue menor.

En la Figura 3 es posible observar el comportamiento de algunas variables de calidad del agua durante el período de cultivo, en los dos experimentos.

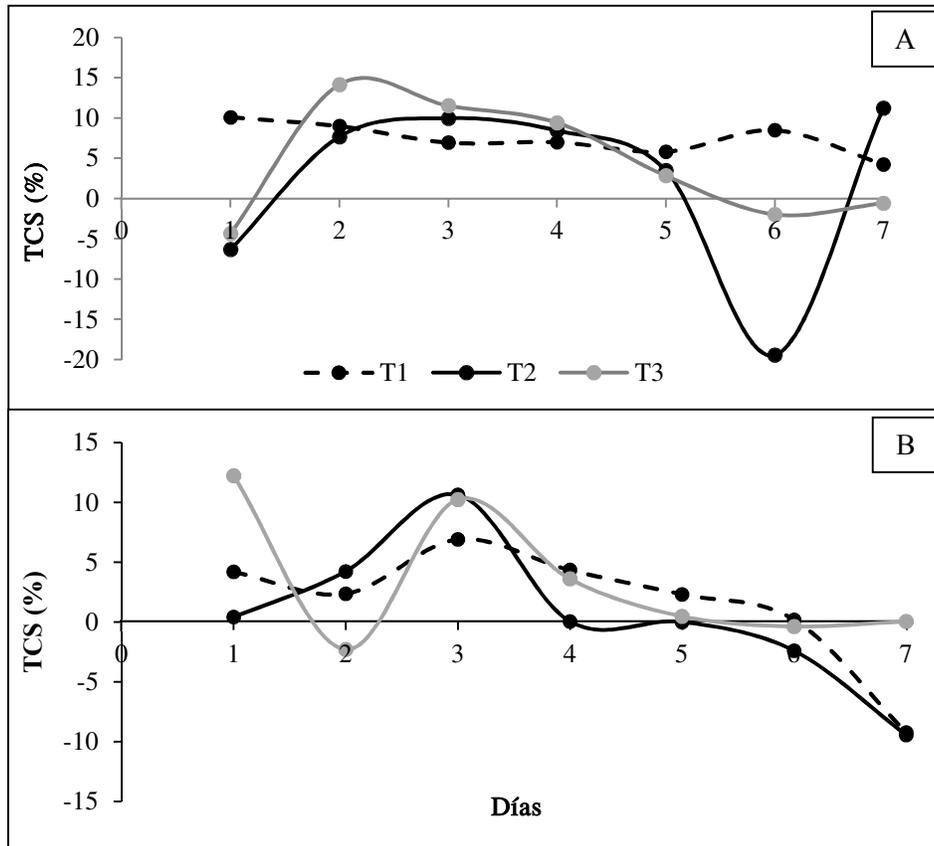


Figura 2. Comportamiento de la TCS poblacional en el rotífero *Brachionus calyciflorus*. A: Experimento 1; B: Experimento 2.

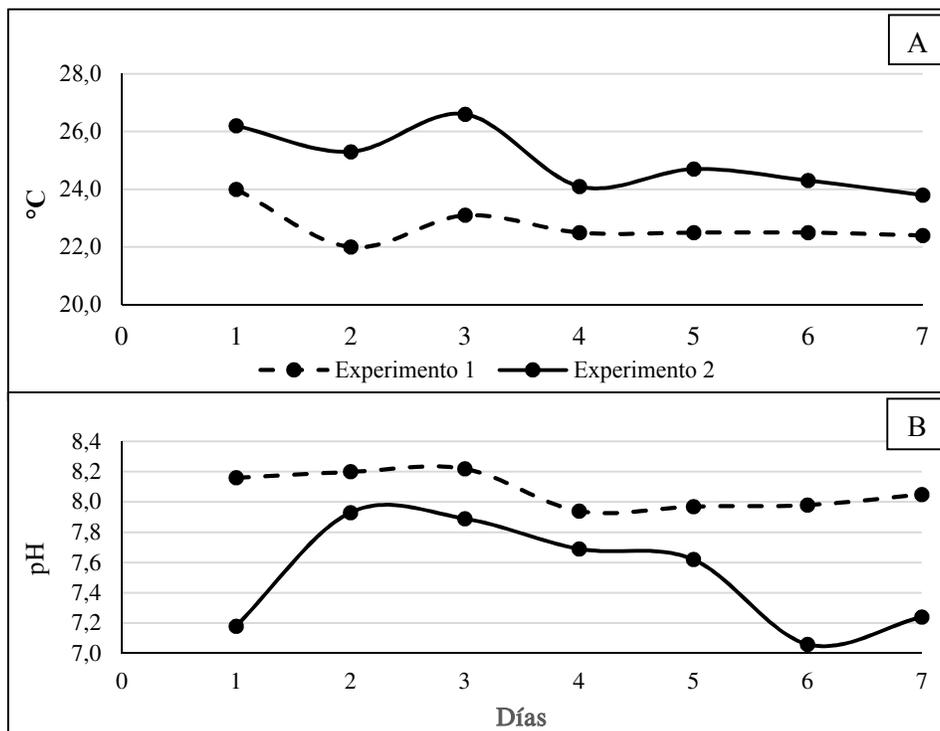


Figura 3. Características del agua de cultivo en los dos experimentos para el cultivo de *B.calyciflorus*. A: temperatura; B: pH

En cuanto a la temperatura, esta variable mostró estabilidad durante el período experimental, tanto para el Experimento 1 ($22,67\pm 0,57^{\circ}\text{C}$), cuyo coeficiente de variación de 2,53%, como en el Experimento 2 ($24,79\pm 1,02$) con CV de 4,12%, valores que garantiza la fiabilidad de los resultados, indicando un manejo adecuado del ambiente.

El pH tuvo mayor variación, ocasionado por el tipo y diversidad del alimento utilizado. En

el Experimento 1 el pH resultó más alto ($8,06\pm 0,11$) pero más estable (CV 1,3%); en el Experimento 2 fue más bajo ($7,61\pm 0,4$) y con mayor variabilidad (CV 5,25%), aunque la variación sigue siendo baja, sin que ocasionara que las diferencias entre los experimentos fueran significativas ($p>0,05$); a pesar de ello, los valores encontrados en este estudio están dentro de los rangos óptimos recomendados por Sarma et al ^[15].

CONCLUSIÓN

El cultivo de rotíferos de la especie *B. calyciflorus* alcanzó mayor TCS cuando se alimentó con algas+levadura, a temperatura media de 28°C ; sin embargo, el crecimiento poblacional se extiende hasta el quinto día, especialmente

cuando el cultivo se inició con bajas densidades, por lo que se recomienda realizar cosecha dentro del período de mayor crecimiento, cuando seguramente se tendrá mayor población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Gilbert J. Mictic female production in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Journal of Experimental Zoology. 2005; 163 (2): 113-123.
- [2] Yang J, Dong S, Jiang Q, Si Q, Liu X, Yang J. Characterization and expression of cytoplasmic copper/zinc superoxide dismutase (CuZn SOD) gene under temperature and hydrogen peroxide (H_2O_2) in rotifer *Brachionus calyciflorus*. Gene. 2013; 518: 388–396.
- [3] Hagiwara A, Hoshi N, Kawahara F, Tominaga K, Hirayama K. Resting eggs of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* Muller: development and effect of irradiation of hatching. Hydrobiologia. 1995; 313/314: 223–229.
- [4] Sugumar V, Munuswamy N. Induction of population growth, mictic female production and body size by treatment of a synthetic GnRH analogue in the fresh water rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Aquaculture. 2006; 258: 529–534.
- [5] Lubzens E, Zmora O, Stottrup J, McEvoy L. Production and nutritional value of rotifers. Live feeds in marine aquaculture. 2003; 300-303.
- [6] Lim L, Dhert P, Sorgeloos P. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. Aquaculture. 2003; 227 (1): 319-331.
- [7] Lim L, Wong C. Use of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, in freshwater ornamental fish larviculture. Live Food in Aquaculture. 1997; 269-273
- [8] Snell TW, Moffat BD, Janssen C, Persoone G. Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effects of cystage, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 1991; 21:308-317.
- [9] Snell TW, Janssen CR. Rotifers in ecotoxicology: a review. Hydrobiologia. 1995; 313: 231–247.
- [10] Snell TW, Joaquim-Justo C. Workshop on rotifers in ecotoxicology. Hydrobiologia. 2007; 593: 227–232.
- [11] Rosales-Barrantes R. Efecto de la temperatura, la salinidad y sus interacciones sobre el crecimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. Cayman, cepa Chilca, Perú. Tesis Licenciado en Biología. Lima [Perú]: Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Académico Profesional de Biología; 2012.

- [12] Kauler P, Enesco HE. The effect of temperature on life history parameters and cost of reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. J. Freshwater Ecology. 2011; 26: 399–408.
- [13] Galkovskaya GA. Planktonic rotifers and temperature. Hydrobiologia. 1987; 147: 307–317.
- [14] Cisneros R. Crecimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus sp.* “Cayman”, al evaluar diferentes microalgas como alimento. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras. 2012; 29 (1): 18-23.
- [15] Sarma S, Larios-Jurado P S, Nandini S. Effect of three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). Rev. Biol. Trop. 2001; 49 (1): [on line: rbt@biologia.ucr.ac.cr].
- [16] Torres F, Legarda L, Narvaez A. Análisis de algunos parámetros climáticos del Altiplano de Pasto, Nariño, Colombia. Revista de Ciencias Agrícolas. 1987; 10: 152-169.
- [17] Rico-Martinez R, Dodson I. Culture of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Aquaculture. 1992; 105: 191–199