

Efecto de la Dieta en el Crecimiento Poblacional del Rotífero, *Brachionus plicatilis* M. 1786 Cepa Us.

JESÚS ROSAS C., TOMAS CABRERA y JOSÉ MILLÁN

*Instituto de Investigaciones Científicas, Universidad de Oriente. Nueva Esparta
Boca de Río, Apdo. Postal 147.
Isla de Margarita, Venezuela*

RESUMEN

El rotífero *Brachionus plicatilis*, se agrupa de acuerdo a su tamaño en tres tallas; la Us, S y L que son de amplia distribución mundial. Se han aislado y cultivado con éxito, utilizándose en el desarrollo de la larvicultura de peces y crustáceos marinos y dulceacuícolas. En la Isla de Margarita, Venezuela, abunda este rotífero en lagunas y charcas costeras, donde se localizó y aisló una cepa con una talla media de $149.78 \pm 1.33 \mu\text{m}$. Por quintuplicado se cultivó cada una de las siguientes microalgas, *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata*, *Dunaliella salina*, *Chlorella* sp., *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana*, utilizándose recipientes de vidrio de 14 l de capacidad, en un laboratorio donde la temperatura ambiente fue de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Cada recipiente recibió aireación continua y luz fluorescente. Cuando las microalgas se encontraban en su fase exponencial de crecimiento, se inocularon con *B. plicatilis* (1 rotífero/ml). Paralelamente se inocularon diferentes recipientes de vidrio en las mismas características y condiciones con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la cianofita *Spirulina maxima* deshidratada a una porción inicial de 500 mg, que fue en aumento diario a razón de 250 mg hasta el séptimo día. Así las microalgas *T. chuii* produjo 325,000 rot/l; *N. oculata* produjo 215,000 rot/l; *Chlorella* sp. 146,000 rot/l; *D. salina* 245,000 rot/l; *Ch. gracilis* 256,000 rot/l.; *I. galbana* 171,000 rot/l; *S. cerevisiae* 178,000 rot/l y *S. maxima* 95,000 rot/l. No se observó ninguna alteración de las características morfométricas en los rotíferos con las dietas utilizadas. No se detectaron ejemplares machos durante la experiencia.

PALABRAS CLAVES: Microalgas, *Brachionus plicatilis*. Levadura. *Spirulina maxima*.

Effect of Diet on the Population Growth of the Rotifer, *Brachionus plicatilis* M. 1786

ABSTRACT

The rotifer *Brachionus plicatilis* is grouped according its size in three strains, Us, S, and L, with worldwide distribution. These strains have been isolated and cultured successfully, using them in marine and freshwater fish and crustaceans larvae. In Margarita island, Venezuela this rotifer growth widespread in coastal lagoons, where the strain used in this experiment was isolated (14.78

$\pm 1.33 \mu\text{m}$). The microalgae *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata*, *Dunaliella salina*, *Chlorella* sp., *Chaetoceros gracilis* and *Isochrysis galbana* were cultured in 5-14 l glass container, in a lab with air temperature $23 \pm 1^\circ\text{C}$, each container had been with air and light. When the microalgae reach the exponential growth, the rotifer *B. plicatilis* was inoculated (1 rot./ml). In the other hand, another glass containers were inoculated initially with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and others with dehydrated blue-algae *Spirulina maxima* at 500 mg/container initially, an 250 mg/container through the seven days. The results showed that when *T. Chuii* was used the rotifer production was 325,000 rot./l, *N. oculata* produced 215,000 rot./l, *Chlorella* sp. 146,000 rot./l, *D. salina* 245,000 rot./l, *C. gracilis* 256,000 rot./l, *I. galbana* 171,000 rot./l, *S. cerevisiae* 178,000 rot./l and *S. maxima* 95,000 rot./l. There were not detected any morphological alteration in rotifers with the diets used. The male rotifer were not found in this strain during this trial.

KEY WORDS: *Brachionus plicatilis*, microalgae, yeast, *Spirulina maxima*

INTRODUCCION

Las investigaciones en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* O. F. Müller están señaladas a su utilidad inicial en la alimentación exógena durante el desarrollo larval en la mayoría de los peces y crustáceos, contribuyendo significativamente con los adelantos alcanzado en la acuicultura a nivel comercial y de investigación.

Las publicaciones sobre *B. plicatilis* se refieren aspectos morfológicos y de reproducción y de los tipos de cepas (Fukusho y Okauchi, 1982; Fu et al., 1991; Cabrera, 1993; Rosas et al., 1997). *B. plicatilis* ha sido agrupado en tres cepas de acuerdo a su talla; la ultra pequeña (Us) (ca. 140 μm) la pequeña (S) (ca. 170 μm) y la grande (L) (220 μm) (Fu et al., 1991a; Kurokura et al., 1992). Todas ellas difieren en cuanto a morfología y cariotipo (Fu et al., 1991a; Rumengan et al., 1991) en tolerancia a la temperatura y el crecimiento poblacional y salinidad (Mustahal et al., 1991). Además se han alimentado con diferentes especies de microalgas y cianobacterias (Rueda-Jasso, 1996), dando a conocer su perfil de ácidos grasos (Watanabe et al., 1983; Cabrera, 1993). Igualmente se han empleado soluciones emulsionantes para aumentar el contenido de los principales ácidos grasos estudiando su correlación con el perfil de grasas de la carne de las larvas de los peces (Frolov et al., 1991; Caric et al., 1993; Dhert, 1996).

En el presente trabajo se planteó la siguiente hipótesis: cuanto mejor sea la alimentación del rotífero *B. plicatilis* tanto mejorará el crecimiento poblacional en cultivos controlados. El objetivo fue cuantificar el crecimiento poblacional del rotífero *B. plicatilis* tipo Us, ubicada en las costas de la isla de Margarita

(Cabrera, 1993), cultivado con las microalgas *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata*, *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Chlorella* sp., levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la cianobacteria *Spirulina maxima* deshidratada.

MATERIALES Y METODOS

En un laboratorio del IIC se realizó el crecimiento por separado de las microalgas *T. chuii*, *N. oculata*, *D. salina*, *Ch. gracilis*, *Chlorella* sp. e *I. galbana*, utilizando como nutriente el medio f/2 (Guillard, 1974), por quintuplicado, en recipientes de vidrio de 18 l de capacidad, que contenían cada uno de 14 l de agua de mar filtrada y esterilizada con UV. Los inoculos para cada microalga, los diferentes pesos en base seca, para cianobacteria y para la levadura se detallan en la Tabla 1. En el agua de los recipientes la salinidad fue de 38 ± 2 ‰, ubicados en un laboratorio de ambiente controlado con temperatura de 23 ± 2 °C con aireación continua e intensidad lumínica de 2,500 Lux.

Tabla 1. Inóculos utilizados en cada una de las microalgas y peso seco de *Spirulina maxima* y *Saccharomyces cerevisiae* antes de la siembra de *Brachionus plicatilis*

Dieta	Células/ml	DIA 1 (mg)	DIA 7 (mg)
<i>T. chuii</i>	75 x 10 ⁴		
<i>Ch. Gracilis</i>	1,5 x 10 ⁵		
<i>D. salina</i>	1,0 x 10 ⁶		
<i>N. oculata</i>	2,0 x 10 ⁶		
<i>I. galbana</i>	1,6 x 10 ⁶		
<i>Chlorella</i> sp.	1,2 x 10 ⁵		
<i>S. cerevisiae</i>		500	250
<i>S. maxima</i>		500	250

Cuando cada una de las microalgas de los recipientes alcanzaron la fase exponencial, se inocularon con el rotífero *B. plicatilis* tipo Us (149.38 ± 1.33) a una concentración de 1 rot./ml y un grado de fecundidad promedio de 0.95. Al séptimo día de cultivo, se extrajeron de cada recipiente 1 ml, por quintuplicado, el cual se fijo con lugol al 4%. Cada submuestra fue colocada en una cámara de Bogoroff bajo una lupa esteroscópica para contabilizar la densidad (rot./ml) de cada recipiente de cultivo.

Los valores de crecimiento de la población de los rotíferos alimentados con cada una de las microalgas, la levadura y la cianobacteria, se utilizaron para realizar los cálculos en términos de la densidad absoluta (da), tasa instantánea de crecimiento (k), tiempo de duplicación (td) y rendimiento (r), siguiendo lo descrito en Vallejo *et al.* (1991).

Los valores de crecimiento poblacional fueron transformados (Log_{10}) y se estudiaron utilizando el análisis de varianza a una vía. Luego con la prueba a posteriori Turkey-HSD se ubicó la diferencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

A pesar del gran uso del rotífero *B. plicatilis*, en la alimentación larvaria de peces y crustáceos no se señala la procedencia y el tamaño de las cepas tanto a nivel de investigación como de producción. Sin embargo, es común referir el fracaso de la larvicultura porque los rotíferos no presentaban un tamaño acorde a la abertura bucal de las larvas y recomiendan el aislamiento y cultivo de modelos "Item" de tamaño menor (Manrique, 1989).

En este experimento *B. plicatilis* no sufrió alteraciones en sus características morfométricas como largo y ancho de la lórica, amplitud de la corona de espinas y producción de huevos al ser sometida a las diferentes dietas. En tal sentido se indica que estas características son cualidades particulares de cada cepa según su ubicación geográfica (Fu et al., 1991a).

Las hembras ovadas de *B. plicatilis* observadas durante el desarrollo de esta investigación presentaron un número de huevos que varió entre 0 y 3 huevos, a pesar de que la cepa fue sometida a varias dietas por espacio de 7 días. La baja fecundidad se relaciona con el tamaño de la cepa. Amat (1983) señala que una cepa aislada en un charca costera en España se le observó hasta siete huevos y (Hung, 1988) indica un máximo de seis huevos en *B. plicatilis* cuando se alimentó con *T. chuii*. Aunque no se ha indicado la relación de la cepa con el número de huevos que pueda tener una hembra en el momento determinado puede estar relacionado con el tamaño de la misma.

Los resultados sobre densidad absoluta (da), tasa instantánea de crecimiento (k), tiempo de duplicación (td) y rendimiento (r) son detallados en la tabla 2. El crecimiento poblacional promedio de los rotíferos de este trabajo alimentados con diferentes microalgas estudiados por análisis de varianza ($F=100.93$) señala que fueron diferentes ($P \leq 0.01$). La producción de *B. plicatilis* fue mayor cuando se alimentó con la microalga *T. chuii* en un tiempo de 7 días ($P \leq 0.01$); un segundo valor de crecimiento poblacional se obtuvo con las microalgas *D. salina*, *Ch. gracilis*, *N. oculata* y los menores valores fueron con *Chlorella* sp. y las dietas secas *S. maxima* y la levadura *S. cerevisiae*.

Una de las microalgas de mayor uso en el cultivo de rotíferos es *Chlorella* sp. (Rueda-Roa, 1992; Cabrera, 1993). Durante el desarrollo de esta experiencia, la cepa Us, no se nutrió con esta especie de microalga la cual se refleja en uno de los valores más bajo de "da" y "r" obtenidos con las dietas a base de microalgas (Tabla 2). Esto es debido a los bajos valores de elementos nutritivos esenciales requeridos por *B. plicatilis* (Marin et al., 1994) y que repercuten en el

crecimiento poblacional de esta cepa recién aislada en Venezuela.

Tabla 2. Densidad absoluta (da) tasa instantánea de crecimiento (k), tiempo de duplicación (td) y rendimiento de *Brachionus plicatilis* cepa Us cultivada con diferentes dietas.

Dieta	da	k	td	r
<i>T. chunii</i>	325 ± 27 a	0.83 ± 0.010	0.84 ± 0.010	46.28 ± 3.89
<i>Ch. gracilis</i>	255 ± 13 b	0.79 ± 0.008	0.87 ± 0.009	36.45 ± 2.14
<i>D. salina</i>	243 ± 13 b	0.78 ± 0.080	0.88 ± 0.008	34.82 ± 2.15
<i>N. oculata</i>	215 ± 18 b	0.76 ± 0.010	0.42 ± 0.430	30.68 ± 2.58
<i>I. galbana</i>	169 ± 24 c	0.73 ± 0.020	0.95 ± 0.030	24.17 ± 3.39
<i>Chlorella</i> sp	147 ± 10 d	0.71 ± 0.010	0.97 ± 0.020	20.97 ± 2.11
<i>S. cerevisiae</i>	177 ± 60 c	0.74 ± 0.040	0.94 ± 0.005	25.31 ± 6.00
<i>S. maxima</i>	94 ± 14 e	0.65 ± 0.007	1.07 ± 0.010	13.37 ± 0.66

a, b,c,d,e : diferencias significativas ($P \leq 0.01$)

Cuando los rotíferos fueron alimentados con *Ch. gracilis*, los valores se ubicaron de segundo grupo ($P \leq 0.01$), muy similares a los que se obtuvieron con *D. salina* (Tabla 2). Ambas microalgas son señaladas por diversos autores (Lim, 1991) como las que mejores resultados ofrecen en cuanto a crecimiento poblacional y aporte de ácidos grasos a los rotíferos sometidos a cultivo. En tal sentido la cepa Us de *B. plicatilis* utiliza en su alimentación estos elementos nutritivos (Verginelli *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 1994).

Cuando la cepa Us se expuso a condiciones de cultivo con *N. oculata*, los resultados son menores a los que señala Cabrera (1993) para una cepa del mismo tipo. Sin embargo es importante señalar, que este autor trabajó en un lapso de 13 días, mientras que la presente experiencia se realizó en 7 días. Cabrera (1993) indica que una cepa de *B. plicatilis* tipo Us alcanzó un crecimiento poblacional superior a los 700 rot/ml, cuando fue cultivada con *Chlorella ellipsoidea* durante de 13 días a un valor de salinidad de 32‰. Durante el desarrollo de esta experiencia, la salinidad no afectó el crecimiento de esta cepa. Cuando se utilizaron las dos dietas en base seca (levadura y cianobacteria), se obtuvo valores mayores ($P \leq 0.01$).

LITERATURA CITADA

- Amat, F. 1983. Cultivos auxiliares de zooplancton. Primer curso teórico práctico sobre acuicultura. Facultad Ciencias Biológicas. U. M. Madrid. 16 p.
- Cabrera, T. 1993. *The nutritional value of live feeds and egg quality on the larval growth and survival of flounder (Paralichthys olivaceus*

- Temminck et Schlegel). Ph.D. Dissertation, National Fisheries University of Pusan. 199 p.
- Dhert, P. 1996. Rotifer. Pages 61-131 in: P. Lavens and P. Sorgeloos (eds.) Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO. Belgium.
- Frolov, K., S. Geradze, Pankova and Spektorova. 1991. Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* **97**:181 - 202.
- Fukusko, K. and M. Okauchi. 1982. Strain and size of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Being cultured in Southeast Asian Countries. *Bull. Natl. Res. Inst. Acuacult.* **3**:107 - 109.
- Fu, Y., K. Hirayama and Y. Natsukari. 1991. Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **151**:29 - 41
- Guillard, R. L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Pages 29-60 in: W. L. Smith and H. H. Chanley (eds.) *Culture of Marine Invertebrates*, Plenum Press, New York.
- Hung, M. 1988. Ensayo de cultivo de una cepa del rotífero *Brachionus plicatilis* en Venezuela. *Rev. Lat. Acui.* **40**:85 - 112.
- Lim, Y. S. 1990. Efficiency of enriched rotifer and *Artemia* nauplii for the seeding production of flounder *Paralichthys olivaceus*. M.Sc. Thesis Nat. Fish. Univ. Pusan. 51 p.
- Manrique, R. 1988. Inducción a la puesta, desarrollo embrionario y prolarval de la yuqueta *Diplectrum formosum* (Linnaeus, 1766). Tesis para M.Sc. Universidad de Oriente. Venezuela. 98 p.
- Marín, N., C. Lodeiro y R. Verginelli, R. 1994. Cultivo de microalgas y rotíferos para la alimentación inicial de organismos marinos. Informe CONICIT PC-050. Inst. Oceangr. 83p.
- Mustahal, S., S. Yamasaki H. and Hirata. 1991. Salinity adaptability of live different strain of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi* **57**(11):1997 - 2000.
- Snell, T.W. and E. M. Boyer. 1988. Thresholds for mictic female production in the rotifer, *Brachionus plicatilis* (Müller). *J. Exp. Biol. Ecol.* **124**.
- Watanabe, T. and V. Kiron. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* **124**:223 - 251.