



Latin American Journal of Aquatic Research

E-ISSN: 0718-560X

lajar@ucv.cl

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Chile

Román-Reyes, José Cristóbal; Castañeda-Rodríguez, Dulce Olivia; Castillo-Ureta, Hipólito; Bojórquez-Domínguez, René; Rodríguez-Montes de Oca, Gustavo Alejandro
Dinámica poblacional del rotífero *Brachionus ibericus* aislado de estanques para camarón, alimentado con diferentes dietas

Latin American Journal of Aquatic Research, vol. 42, núm. 5, noviembre, 2014, pp. 1159-1168
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Valparaíso, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=175032686019>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

Research Article

Dinámica poblacional del rotífero *Brachionus ibericus* aislado de estanques para camarón, alimentado con diferentes dietas

**José Cristóbal Román-Reyes¹, Dulce Olivia Castañeda-Rodríguez¹, Hipólito Castillo-Ureta²
René Bojórquez-Domínguez¹ & Gustavo Alejandro Rodríguez-Montes de Oca¹**

¹Laboratorio de Reproducción y Cultivo de Peces, Facultad de Ciencias del Mar

Universidad Autónoma de Sinaloa, Paseo Claussen s/n, C.P. 82000, Mazatlán, Sinaloa, México

²Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Blvd. Universitarios y Av. De las Américas s/n
Ciudad Universitaria, C.P. 80010, Culiacán Rosales, Sinaloa, México

RESUMEN. La producción de microalgas vivas para cultivar rotíferos constituye uno de los mayores costos de operación en la larvicultura de peces, por lo que se están desarrollando sustitutos comerciales de microalgas para la alimentación y producción de rotíferos. Se desconoce el efecto que tienen las formulaciones comerciales sobre la dinámica poblacional de rotíferos nativos del norte de México y en este estudio se evaluó el efecto de cuatro dietas comerciales (Spirulina, RotiMac®, Nanno 3600®, RotiGrow-Plus®) y la microalga viva *Nannochloropsis* sp., sobre el crecimiento poblacional y fecundidad del rotífero *Brachionus ibericus* (GenBank KJ949043), aislado de una granja de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Se realizaron cinco réplicas por tratamiento alimenticio utilizando recipientes con volumen de 12 L de agua, con temperatura de $29 \pm 1^\circ\text{C}$ y salinidad de 35 ± 1 , respectivamente. Los resultados mostraron que durante los períodos experimentales, las dietas probadas resultaron adecuadas para alimentar a *B. ibericus*, con tasas de crecimiento, tiempos de duplicación, densidades máximas y fecundidades que fluctuaron entre 0.20 a 0.27 rotíferos día⁻¹, 2.60 a 3.42 días, 215 a 344 rotíferos mL⁻¹ y de 0.16 a 0.39 huevos hembra⁻¹, respectivamente. Las diferencias entre tratamientos fueron significativas ($P < 0.05$); los menores tiempos de duplicación y las mayores tasas de crecimiento, fecundidad y densidad poblacional fueron obtenidas con RotiGrow-Plus®, pero el tiempo de duplicación y la tasa de crecimiento con RotiGrow-Plus® no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05$) a las obtenidas con Nanno 3600®.

Palabras clave: *Brachionus ibericus*, *Nannochloropsis*, rotíferos, dinámica poblacional, dietas comerciales.

Population dynamics of rotifer *Brachionus ibericus* isolated from shrimp ponds, fed with different diets

ABSTRACT. The production of live microalgae to cultivate rotifers is one of the largest operating costs in fish hatcheries. Commercial substitutes of microalgae are being developed to feed and produce rotifers. The effect of commercial formulations on the population dynamics of native rotifers of northwestern Mexico is unknown, so in this study the effect of four commercial diets (Spirulina, RotiMac®, Nanno 3600®, RotiGrow-Plus®) was evaluated as well as the live macroalgae *Nannochloropsis* sp., on the population growth and fecundity of the rotifer *Brachionus ibericus* (GenBank KJ949043), isolated from a white shrimp farm (*Litopenaeus vannamei*). Five replicates per dietary treatment were performed using 12 L containers with temperature of $29 \pm 1^\circ\text{C}$ and salinity of 35 ± 1 respectively. The results showed that during the experimental period, the diets tested were suitable to feed *B. ibericus*, with mean growth rates, duplication times, maximum densities and fecundities that ranged from 0.20 to 0.27 rotifers day⁻¹, 2.60 to 3.42 days, 0.16 to 0.39 eggs per female and 215.4 to 357.0 rotifers mL⁻¹, respectively. Differences between treatments were significant ($P < 0.05$); lower doubling times and higher growth rates, fecundities and population densities were obtained with RotiGrow-Plus®; however, duplication times and growth rates observed in rotifers fed RotiGrow-Plus® were not significantly different ($P > 0.05$) to values observed with Nanno 3600®.

Keywords: *Brachionus ibericus*, *Nannochloropsis*, rotifers, population dynamics, commercial diets.

INTRODUCCIÓN

Los rotíferos del género *Brachionus* constituyen el alimento vivo imprescindible para la primera alimentación larvaria de muchas especies marinas, principalmente larvas de peces y han sido ampliamente estudiados debido a su importancia para el escalamiento acuícola comercial y como herramienta en numerosos campos de investigación (Kostopoulou *et al.*, 2012). Su utilización en la acuicultura mexicana ha permitido el éxito del cultivo larvario de muchos peces de interés para la acuicultura y se espera que en el futuro inmediato contribuyan de manera significativa en la diversificación acuícola en el noroeste de México.

Durante su cultivo, los rotíferos requieren grandes cantidades de microalgas vivas para su alimentación, pero los altos costos asociados a su producción, riesgo de contaminación y variaciones temporales en su valor alimenticio constituyen problemas inherentes para cualquier operación acuícola y limitan la producción de rotíferos (Lavens & Sorgeloos, 1996). Para contrarrestar estos problemas, existe la tendencia de sustituir microalgas vivas con dietas comerciales en diferentes presentaciones, ya sea como complemento o como principal fuente de alimento (Seychelles *et al.*, 2009). Recientemente han aparecido en el mercado varias dietas comerciales a base de microalgas concentradas, pastas congeladas de microalgas, microalgas secas en polvo o liofilizadas que se están utilizando para bioenriquecer rotíferos con altos niveles de HUFA's (ácidos grasos poli-insaturados) o como dieta única para cultivo intensivo para reducir los costos de producción en los criaderos e incrementar los niveles de producción en la larvicultura de peces marinos (Önal *et al.*, 2010).

En la literatura existen numerosos estudios para determinar el efecto de diferentes microalgas vivas y condiciones ambientales sobre las características biológicas y bioquímicas de rotíferos (Jeeja *et al.*, 2011). Los trabajos más recientes que describen las tasas de crecimiento, tiempos de duplicación, densidades máximas y fecundidad de diferentes variedades del complejo de *Brachionus plicatilis* son: Sarma *et al.*, (2005); Hagiwara *et al.* (2007); Yin & Zhao (2008); Viayeh *et al.* (2010) y Jeeja *et al.* (2011). En general, los autores mencionan que las características biológicas varían dependiendo del morfotipo estudiado, por lo que es necesario caracterizar las variedades endémicas para entender su biología y potencial de cultivo.

Se carece de información biológica sobre las especies endémicas del noroeste de México; particularmente, no se tienen estudios sobre el efecto que causan las formulaciones comerciales sobre la dinámica poblacional de rotíferos nativos. Para

entender cómo responden a diferentes condiciones de cultivo y asegurar su disponibilidad y valor nutritivo, es necesario conocer la dinámica poblacional de estos rotíferos, puesto que son relevantes para la transferencia de energía y la producción larvaria de especies acuícolas de la región. En este sentido, la evaluación de cómo las formulaciones comerciales afectan la dinámica poblacional de los rotíferos nativos, puede indicar que el uso de dietas comerciales como sustitutos de microalgas vivas puede ser una alternativa potencialmente efectiva en la reducción de costos de producción, para optimizar la producción de alimento vivo y abastecer de manera continua la demanda de rotíferos en los sistemas de producción de juveniles de peces marinos de importancia comercial, considerados de alto potencial acuícola en la región del noroeste del océano Pacífico mexicano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los organismos experimentales

El rotífero utilizado en esta investigación fue aislado después de la eclosión de huevos en diapausa presentes de forma natural en el sedimento de los estanques de cultivo de camarón blanco *L. vannamei* de una granja local del sur de Sinaloa, México ($23^{\circ}9'10,54''N$, $106^{\circ}18'22,84''W$). Dicho sedimento fue colectado durante el secado de los estanques (enero-febrero de 2012), de donde se seleccionaron 3 kg de sedimento (como reservorio de quistes) proveniente de los primeros 10 cm de profundidad y se depositaron en estanques de 500 L de capacidad, llenados con agua de mar filtrada, esterilizada con filtros UV y fertilizada con urea, ácido fosfórico y salvado de trigo, de acuerdo a las proporciones recomendadas por Dhert *et al.* (1997) y Ludwig *et al.* (1998), para inducir la productividad primaria, en condiciones de temperatura ambiente. Una vez que los rotíferos de diversos géneros que eclosionaron de las muestras de sedimento presentaron la máxima producción, se seleccionaron hembras adultas portadoras de huevos micticos que pasaron por el tamiz de 200 µm y que presentaron la mayor abundancia, para obtener rotíferos con tamaños apropiados (<150-200 µm) considerado un tamaño adecuado para la alimentación de larvas de peces de boca pequeña. Considerando este criterio, se separaron los rotíferos del complejo *Brachionus* de menor tamaño utilizando tubos capilares bajo un estereoscopio para trabajar con cultivos mono-específicos (Jung *et al.*, 1997), con agua de mar filtrada y esterilizada con filtros UV, a $29^{\circ}C$ y alimentados con la microalga *Nannochloropsis* sp. a una concentración de 1×10^6 cél. mL⁻¹. Los rotíferos aislados fueron caracterizados morfológicamente utilizando la metodología descrita

por Fu *et al.* (1991) y Hagiwara *et al.* (1995), correspondiendo preliminarmente al género *Brachionus* (Koste, 1978; Segers, 1995), que registró una longitud y ancho de lórica de $193,8 \pm 19,2$ y $140,9 \pm 12,1$ μm (media \pm DE) respectivamente y posteriormente para identificar la especie utilizada se efectuó un análisis molecular, mediante la secuenciación de un fragmento del gen de citocromo oxidasa I (COI) del ADN mitocondrial. A través del programa BLAST® se procedió a alinear con secuencias del taxón Rotífera, identificando la especie *Brachionus ibericus*. La secuencia fue depositada en la base de datos Genbank® con el código de acceso (KJ949043). La cepa se encuentra disponible en el Laboratorio de Reproducción y Cultivo de Peces de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Mazatlán, Sinaloa, México.

Diseño experimental

Se utilizaron cuatro dietas comerciales (Espirulina, RotiMac®, RotiGrow-Plus® y Nanno 3600®) y una dieta control con microalga viva *Nannochloropsis* sp. Siendo Espirulina (Prilabsa Inc., Mazatlán, México) y RotiMac (Biomarine Aquafauna Inc., Hawthorne, CA, USA) mezclas de microalgas secas para alimentar rotíferos y los productos RotiGrow-Plus y Nanno 3600 (Reed Mariculture Inc., Campbell, California) mezclas de microalgas concentradas con presentación en pasta. Los experimentos de alimentación se realizaron por quintuplicado. En cada experimento se administró la ración diaria de alimentación recomendada por el fabricante, que se realizó manualmente a intervalos de 6 h, durante 12 h. Para el caso de *Nannochloropsis* sp., se suministró dos raciones diarias a una concentración de 3×10^6 cél. mL^{-1} para una densidad de 200 rotíferos mL^{-1} (Aoki *et al.*, 1995; Hino *et al.*, 1997). Antes de iniciar los experimentos, los rotíferos fueron aclimados a los tratamientos experimentales durante al menos cinco días y posteriormente se ajustó la densidad inicial a 10 rotíferos mL^{-1} en cada una de las réplicas de cada tratamiento.

En todos los experimentos, la temperatura se mantuvo constante (29°C), utilizando calentadores termoregulados, y agua marina bombeada de la bahía de Mazatlán (salinidad de 34-36 ups), previamente tratada con un sistema de filtración en serie con cartuchos de 20, 10, 5 y 1 μm y esterilizada con filtros UV.

El cultivo de rotíferos se realizó en garrafones transparentes de 12 L de volumen útil por un total de 13 días. En cada experimento se utilizaron mangueras de aireación para mantener la concentración de oxígeno superior a los 4 mg L^{-1} , mientras que el pH se mantuvo a 8.0 ± 1.0 utilizando gotas de una solución de ácido clorhídrico (HCL) comercial. La temperatura y el

oxígeno disuelto fueron monitoreados diariamente en todos los experimentos, utilizando un medidor óptico de oxígeno disuelto YSI modelo 550A y el pH fue medido con un potenciómetro Hanna HI 98128W modelo pHep.

Determinación de la dinámica poblacional de rotíferos (tasa de crecimiento, tiempo de duplicación, densidad máxima y fecundidad)

La densidad de los organismos experimentales se determinó en base al promedio de muestras triplicadas de 1 mL^{-1} , tomadas de la unidad de cultivo con una pipeta y colocadas en una cámara Sedgwick-Rafter para el conteo de zooplancton. Los organismos se fijaron con una solución de Lugol y posteriormente contados con un microscopio estereoscópico. La tasa de crecimiento (r) fue calculada utilizando la ecuación sugerida por Oie *et al.* (1994): $r = (\ln N_t - \ln N_0) \cdot t^{-1}$, donde N_0 es la concentración inicial de organismos experimentales, N_t es la concentración de individuos al tiempo t y t es el periodo de cultivo en días. El tiempo de duplicación de la población se determinó mediante la función $T_d = \ln 2 / r$. La densidad máxima (D_{max}) se estimó utilizando la máxima abundancia obtenida después de un tiempo t de cultivo y para la fecundidad se determinó el número de hembras portadoras y se reportó la proporción de huevos producidos por hembra (fecundidad) como un indicador de la estabilidad de los cultivos.

Determinación del peso seco y el contenido orgánico de rotíferos

Para determinar el peso seco y orgánico de rotíferos se tomaron muestras de 150 mL con una densidad de 200 rotíferos mL^{-1} , los cuales se concentraron en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 47 mm de diámetro, previamente calibrados en una balanza analítica semimicro con precisión de 0,01 mg. Durante la concentración de las muestras, se eliminaron los residuos de sales marinas con una solución acuosa de formiato de amonio al 4%. Posteriormente, las muestras se secaron en períodos sucesivos de 24 h, en una estufa de convección a 60°C , hasta obtener un peso constante en la balanza analítica semi-micro. Finalmente, las muestras se incineraron en una mufla a 450°C durante a lo menos 12 h, verificando nuevamente el peso constante. El valor obtenido representa el contenido inorgánico de las muestras y el contenido de biomasa orgánica se calculó por diferencia entre el peso seco total y peso de las cenizas.

Procesamiento y análisis de los datos

El efecto de los tratamientos sobre la biomasa seca y orgánica, tasa de crecimiento, tiempo de duplicación,

densidad máxima y proporción de huevos por hembra de los rotíferos, fueron contrastados mediante la técnica de análisis de varianza (ANDEVA) de un factor. Previamente, los datos fueron sometidos a las pruebas de normalidad de Lilliefors y homogeneidad de varianzas de Bartlett (Zar, 1999). Dado que las variables de respuesta cumplieron con estas condiciones, se aplicó procedimientos paramétricos (Estadístico F). Cuando los análisis ANDEVA resultaron significativos ($P < 0,05$), se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

RESULTADOS

Características bioquímicas de las dietas experimentales utilizadas como alimento

La Tabla 1 muestra las características bioquímicas proximales (proteínas, carbohidratos y lípidos) de las dietas experimentales, en términos de porcentajes relativos a la biomasa seca (%BS) y el contenido energético en Jouls mg^{-1} de biomasa seca (J mg^{-1} BS). Los valores de la composición proximal de las dietas comerciales fueron las reportadas por los fabricantes, mientras que los de la microalga viva *Nannochloropsis* sp. se obtuvieron de Martínez-Brown (2001). El contenido energético se calculó a partir de la composición proximal utilizando los equivalentes calóricos de Brett & Groves (1977), como se muestra en la Tabla 1, la cual describe el contenido de proteínas de las dietas en orden de importancia descendente, como sigue Espirulina > RotiGrow = Nanno 3600 > RotiMac > *Nannochloropsis* sp., mientras que el contenido de carbohidratos fue, en el mismo orden, RotiMac > RotiGrow = Nanno 3600 > Espirulina > *Nannochloropsis* sp. Los lípidos estuvieron presentes en el siguiente orden descendente RotiGrow = Nanno 3600 > *Nannochloropsis* sp. > RotiMac > Espirulina. El contenido energético de las dietas *Nannochloropsis* sp., RotiGrow, Nanno 3600, Espirulina y RotiMac fueron respectivamente de 25,9; 22,7; 22,7; 21,1 y 19,2 J mg^{-1} BS.

Contenido de biomasa seca (BS) y biomasa orgánica (BO) de los rotíferos alimentados con las dietas experimentales

La Figura 1 muestra los valores promedio (\pm DE) de la biomasa seca (BS) y la biomasa orgánica (BO) de los rotíferos alimentados con las diferentes dietas. El análisis de varianza indicó un efecto significativo de las dietas sobre la biomasa seca de rotíferos (ANDEVA, $F_{0,05,4} = 15,63$, $P < 0,05$). Las comparaciones múltiples de Tukey indicaron que los rotíferos alimentados con RotiMac registraron la menor BS ($0,10 \pm 0,01 \mu\text{g rot}^{-1}$), pero no fue significativamente diferente ($P > 0,05$) de

la registrada con Espirulina ($0,15 \pm 0,03 \mu\text{g rot}^{-1}$). Cuando los rotíferos se alimentaron con Nanno 3600, la BS mostró un incremento importante ($0,21 \pm 0,02 \mu\text{g rot}^{-1}$), pero las comparaciones múltiples indicaron que no fue diferente ($P > 0,05$) a la biomasa seca registrada para los rotíferos alimentados con Espirulina ($0,15 \pm 0,03 \mu\text{g rot}^{-1}$). RotiGrow ($0,19 \pm 0,04 \mu\text{g rot}^{-1}$). La dieta a base de la alga viva *Nannochloropsis* sp. originó la mayor biomasa seca de rotíferos ($0,26 \pm 0,06 \mu\text{g rot}^{-1}$), pero no fue estadísticamente diferente de la registrada en los rotíferos alimentados con Nanno 3600 (comparaciones múltiples de Tukey, $P > 0,05$).

Con respecto al promedio de la biomasa orgánica (BO) de los rotíferos alimentados con las diferentes dietas, los análisis estadísticos mostraron un efecto significativo (ANDEVA, $F_{0,05,4} = 40,56$, $P < 0,05$). Los valores menores se registraron en los rotíferos alimentados con RotiMac ($0,07 \pm 0,1 \mu\text{g rot}^{-1}$) y Espirulina ($0,09 \pm 0,02 \mu\text{g rot}^{-1}$) y no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0,05$). Los valores mayores y similares fueron obtenidos con *Nannochloropsis* sp. ($0,20 \pm 0,02 \mu\text{g rot}^{-1}$) y Nanno 3600 ($0,19 \pm 0,01 \mu\text{g rot}^{-1}$), mientras que cuando los rotíferos se alimentaron con RotiGrow se registró una BO intermedia ($0,15 \pm 0,03 \mu\text{g rot}^{-1}$) y fue estadísticamente diferente del resto de los tratamientos (comparaciones múltiples de Tukey, $P < 0,05$).

Tasa de crecimiento poblacional y la fecundidad (proporción de huevos por hembra)

En la Figura 2 se muestran los análisis que denotan las diferencias entre tasas de crecimiento y fecundidad de los rotíferos alimentados con las diferentes dietas durante 13 días de cultivo. El análisis indicó que hubo un efecto significativo de las dietas sobre la tasa de crecimiento de rotíferos (ANDEVA, $F_{0,05,4} = 70,01$, $P < 0,05$). Las comparaciones múltiples señalaron que los rotíferos alimentados con *Nannochloropsis* sp. y RotiMac presentaron las menores tasas de crecimiento ($0,20 \pm 0,01$ y $0,21 \pm 0,01 \text{ rot dia}^{-1}$, respectivamente) y no fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $P > 0,05$), mientras que cuando se alimentaron con Nanno 3600 y RotiGrow se registraron las mayores tasas de crecimiento ($0,27 \pm 0,01$ y $0,26 \pm 0,01 \text{ rot dia}^{-1}$, respectivamente), sin ser estadísticamente diferentes. Se presentó una tasa de crecimiento intermedia cuando los rotíferos se alimentaron con Espirulina ($0,23 \pm 0,02 \text{ rot dia}^{-1}$) y fue diferente al resto de los tratamientos. Los valores promedio de la fecundidad fueron significativamente diferentes cuando se alimentaron con dietas comerciales y *Nannochloropsis* sp. (ANDEVA, $F_{0,05,4} = 54,39$, $P < 0,05$) (Fig. 2). Las comparaciones múltiples indicaron que el valor significativamente menor se registró con Espirulina ($0,16 \pm 0,01$ huevos

Tabla 1. Características bioquímicas en porcentaje de biomasa seca (%BS) y contenido energético ($J \text{ mg}^{-1}$ BS) de las dietas experimentales. *Energía calculada a partir del contenido proximal, utilizando los equivalentes calóricos de Brett & Groves (1977) mediante la ecuación Energía total = $(P*23,86)+(C*17,16)+(L*36,42)$, donde P, C y L son la proporción de proteínas, carbohidratos y lípidos de la muestra, respectivamente.

Dieta	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos	Energía*
Espirulina	65,0	17,5	7,0	21,1
<i>Nannochloropsis</i> sp.	25,3	8,2	15,8	25,9
RotiMac	37,4	35,0	11,7	19,2
RotiGrow	58,6	20,0	14,5	22,7
Nanno 3600	58,6	20,0	14,5	22,7

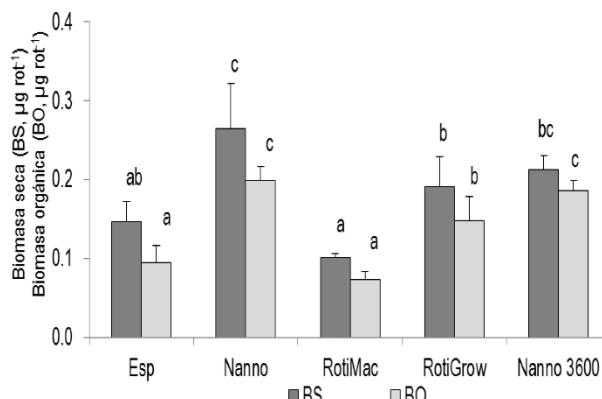


Figura 1. Valores promedio \pm DE de la biomasa seca (BS, $\mu\text{g rot}^{-1}$) y biomasa orgánica (BO, $\mu\text{g rot}^{-1}$) de los rotíferos alimentados con dietas experimentales. Esp: Espirulina y Nanno: *Nannochloropsis* sp. Letras iguales o comunes en la parte superior de las columnas indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

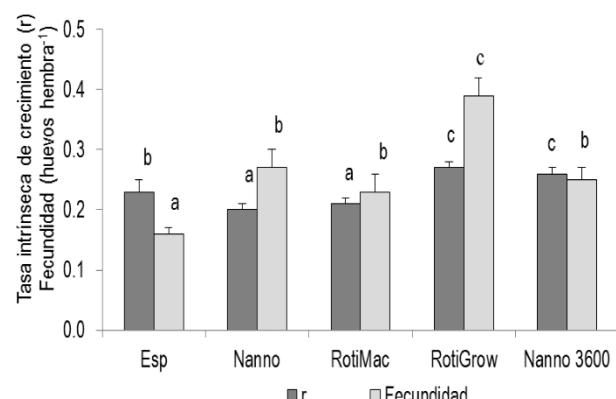


Figura 2. Valores promedios \pm DE de la tasa intrínseca de crecimiento (r) ($\text{rot} \text{ día}^{-1}$) y la fecundidad (huevos hembra $^{-1}$) de rotíferos alimentados con dietas experimentales. Esp: Espirulina y Nanno: *Nannochloropsis* sp. Letras iguales o comunes en la parte superior de las columnas indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

hembra $^{-1}$), mientras que el valor promedio significativamente mayor se obtuvo cuando se suministró RotiGrow ($0,39 \pm 0,03$ huevos hembra $^{-1}$). El resto de los tratamientos no fueron estadísticamente diferentes con valores promedio de $0,23 \pm 0,03$; $0,25 \pm 0,02$ y $0,27 \pm 0,03$ huevos hembra $^{-1}$ para los rotíferos alimentados con RotiMac, Nanno 3600 y *Nannochloropsis* sp., respectivamente.

Tiempo de duplicación

Cuando los rotíferos fueron alimentados con las diferentes dietas se detectó un efecto significativo sobre el tiempo de duplicación (ANDEVA, $F_{0.05,4} = 54,50$; $P < 0,05$) (Fig. 3). Las dietas con las que se duplicó con mayor rapidez la población fueron RotiGrow ($2,6 \pm 0,04$ h) y Nanno 3600 ($2,7 \pm 0,05$ h) y no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0,05$; comparaciones múltiples de Tukey); mientras que cuando se suministró Espirulina se obtuvo un tiempo de duplicación de ($3,02 \pm 0,23$ h) y fue estadísticamente diferente a todos los

tratamientos ($P < 0,05$; comparaciones múltiples de Tukey). Los tiempos de duplicación de los rotíferos alimentados con *Nannochloropsis* sp. y RotiMac no fueron estadísticamente diferentes; sin embargo, con estas dietas tardaron más tiempo en duplicarse con valores de $3,34 \pm 0,09$ y $3,42 \pm 0,04$ h, respectivamente.

Densidad máxima

La Figura 4 muestra la densidad máxima de los rotíferos alimentados con las diferentes dietas, con resultados que indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos (ANDEVA, $F_{0.05,4} = 53,22$, $P < 0,05$). Las comparaciones múltiples mostraron que las menores densidades se registraron en los rotíferos alimentados con Espirulina ($215 \pm 20,3$ rot mL $^{-1}$) y RotiMac ($217 \pm 7,3$ rot mL $^{-1}$) sin presentar diferencias estadísticas ($P > 0,05$). En el resto de los tratamientos, las densidades máximas resultaron estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) con valores en orden ascendente de $255 \pm 12,9$, $290 \pm 16,4$ y $344 \pm 22,0$ rot mL $^{-1}$ para los rotíferos ali-

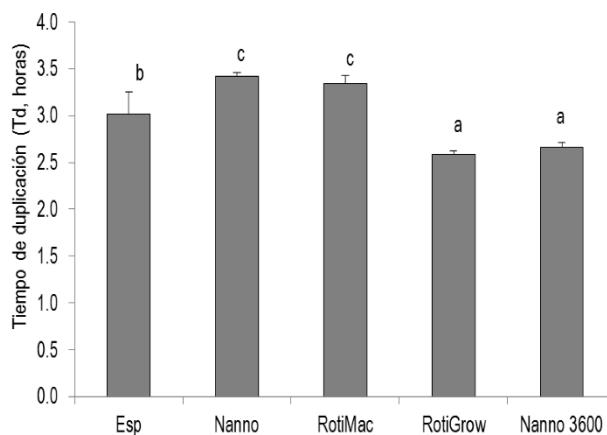


Figura 3. Valores promedios \pm DE del tiempo de duplicación (Td, h) de rotíferos alimentados con dietas experimentales. Esp: Espirulina y Nanno: *Nannochloropsis* sp. Letras iguales o comunes en la parte superior de las columnas indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

mentados con *Nannochloropsis* sp., Nanno 3600 y RotiGrow, respectivamente.

DISCUSIÓN

El valor nutricional de los rotíferos depende de su biomasa seca, contenido calórico y composición química (Lubzens *et al.*, 1989). La biomasa seca de los rotíferos alimentados con dietas monoalgaicas y enriquecidas con productos comerciales contiene aproximadamente 25-63% de proteínas, 6-36% de lípidos y 6-15% de carbohidratos (Cariç *et al.*, 1993; Rueda-Jasso, 1996; Sayegh *et al.*, 2007; Conceição *et al.*, 2009; Demir & Dicken, 2011; Jeeja *et al.*, 2011). Los resultados muestran que la composición proximal de los rotíferos estudiados se encontró en el intervalo descrito en la literatura. La variabilidad observada apoya la conclusión de que las proporciones de estos nutrientes cambian cuando los rotíferos son alimentados con diferentes especies de microalgas o dietas enriquecidas artificialmente (Sayegh *et al.*, 2007); mientras que el contenido energético estuvo comprendido en el intervalo de 16 a 27 J mg⁻¹ de biomasa seca, reportados por Theilacker & McMaster (1971) y Yúfera *et al.* (1997).

Por otra parte, los resultados indicaron que los rotíferos tuvieron la capacidad de aclimatarse y crecer en todas las condiciones experimentales probadas, pero su dinámica poblacional fue dependiente de la dieta utilizada. Lo anterior no es raro, pues muchos trabajos de investigación han demostrado que los rotíferos del género *Brachionus* se alimentan de microalgas vivas, levadura de pan y de cerveza, protozoarios, bacterias y

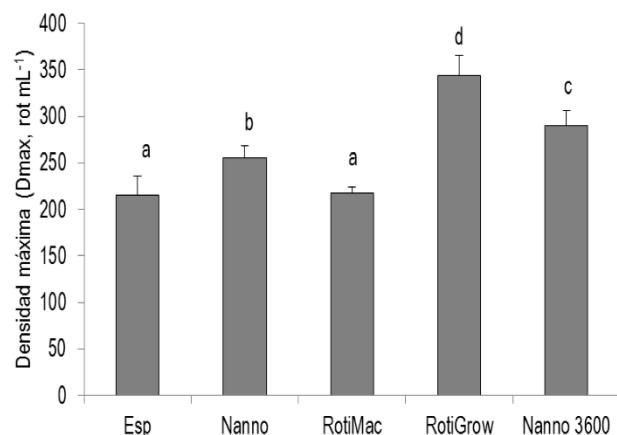


Figura 4. Valores promedios \pm DE de la densidad máxima (Dmax, rot mL⁻¹) de rotíferos alimentados con dietas experimentales. Esp: Espirulina y Nanno: *Nannochloropsis* sp. Letras iguales o comunes en la parte superior de las columnas indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

detritos (Yin *et al.*, 2013), incluso de alimentos artificiales (Jeeja *et al.*, 2011), microalgas en pastas congeladas (Guevara *et al.*, 2011) y liofilizadas (Rueda-Jasso, 1996). Sin embargo, el efecto de la dieta sobre las características de la dinámica poblacional de los rotíferos estudiados, confirma que la dieta es considerada como el criterio más importante que en general, afecta su crecimiento y máxima densidad poblacional (Srivastava *et al.*, 2006).

Un indicador confiable del estado de salud de los cultivos de rotíferos, es la proporción de huevos por hembra (fecundidad) (Snell *et al.*, 1987). Sarma *et al.* (2005), reportaron que en condiciones sin estrés, la proporción de huevos por hembras puede variar de 0,2-2,5, dependiendo de la especie y el estado de crecimiento de la población. Snell *et al.* (1987) mencionan que si la proporción de huevos por hembra es $<0,13$ las condiciones del cultivo son adversas, con la consecuente disminución de la población. La variabilidad observada durante el periodo de cultivo, mostró que los rotíferos alimentados con RotiGrow registraron la mayor fecundidad promedio (0,39 huevos hembra⁻¹) y los alimentados con Espirulina la menor (0,16 huevos hembra⁻¹), mientras que el resto de las dietas presentaron valores promedio similares entre 0,23 y 0,27 huevos hembra⁻¹. Esto indica que los rotíferos alimentados con Espirulina estuvieron en condiciones menos favorables durante el periodo experimental, que también se reflejó en las bajas tasas de crecimiento, mayor tiempo de duplicación, menor densidad máxima y menor biomasa seca y orgánica, esto último, asociado probablemente con la baja fecundidad, puesto que existe correlación positiva entre

la fecundidad y peso seco de los rotíferos (Yúfera *et al.*, 1993). Rosas *et al.* (1998) también reportaron que las dietas secas pulverizadas de Espirulina indujeron bajas tasas de crecimiento en rotíferos. Jabeur *et al.* (2013) le atribuyen este efecto al tamaño de la microalga, ya que los rotíferos no pueden filtrar partículas $>18\text{ }\mu\text{m}$, por lo que a pesar de la pulverización fina de Espirulina, probablemente tuvo mayor tamaño. Además, aunque la Espirulina pulverizada es muy rica en proteínas y vitaminas, posee cantidades reducidas de los aminoácidos metionina, cisteína y lisina, y carece de suficiente grasa (Babadzhanov *et al.*, 2004; Masha *et al.*, 2013) como para sustentar adecuadamente el crecimiento de rotíferos.

Otra dieta que fue precursora de valores inferiores en la densidad máxima y en la biomasa seca y orgánica de los rotíferos, fue RotiMac que es una dieta enriquecida con emulsiones comerciales, que cuando se utilizó como alimento, se observó ocasionalmente la aparición de colonias bacterianas (con una tonalidad rosa) en el fondo de los recipientes de cultivo. Esto puede explicar el efecto poco favorable de esta dieta enriquecida sobre la dinámica poblacional de rotíferos. Al respecto, Cisneros (2011) menciona que es común utilizar emulsiones para enriquecer rotíferos con proteínas y ácidos grasos, pero durante períodos de enriquecimientos largos con frecuencia se produce la acumulación de grasa, afectando negativamente la calidad sanitaria de los cultivos. En este sentido, Haché & Plante (2011) demostraron que después de un proceso de enriquecimiento de rotíferos con emulsiones comerciales, se incrementó el número de colonias bacterianas.

La tasa de crecimiento poblacional (r) es una variable que integra supervivencia, fecundidad, tiempo de desarrollo y reproducción (Viayeh *et al.*, 2010), por lo tanto no es sorprendente que los tipos de dietas hayan tenido influencia sobre esta variable poblacional de rotíferos. Suantika *et al.* (2003) mencionan que (r) es un buen indicador de la dinámica poblacional de rotíferos, así como para la evaluación de la producción de rotíferos en los sistemas de cultivo; incluso se utiliza para estimar el tiempo de duplicación de la población (Theilacker & McMaster, 1971). En este estudio, (r) fue sensible como un índice central para evaluar la conveniencia relativa de diferentes dietas experimentales, los valores promedio obtenidos fluctuaron entre 0,20 y 0,27, con las mayores tasas de crecimiento en los rotíferos alimentados con Nanno 3600 y RotiGrow. Las tasas de crecimiento (r) reportadas para las especies de *Brachionus*, en diferentes condiciones de cultivo, fluctúan entre 0,2 y 1,0, y en unos pocos casos llegan hasta 2,0 (Miracle & Serra, 1989). En el presente estudio, los valores de (r) para la especie

analizada se encontraron en el límite inferior del intervalo reportado en la literatura, pero la comparación es complicada debido a las diferentes condiciones experimentales en que fueron determinadas y a que algunos valores de (r) son reportados sólo en la fase de crecimiento exponencial. Algunos estudios comparables, fueron los realizados por Theilacker & McMaster (1971) con valores de 0,62 a 0,82 día^{-1} ; Sarma & Nandini (2002) con dos especies de *Brachionus* con valores entre 0,06 y 0,2 día^{-1} ; por Hotos (2003) en rotíferos alimentados con microalgas vivas en salinidades de 30 ups, con valores de (r) en el intervalo de 0,43 a 0,61 día^{-1} ; por Yin & Zhao (2008) quienes estudiaron el crecimiento de seis variedades de *Brachionus plicatilis*, con valores de (r) $<1,0\text{ }\text{día}^{-1}$, y finalmente por Cisneros (2011) con rotíferos alimentados con diferentes enriquecedores, que obtuvo valores entre 0,02 y 0,38 día^{-1} . Yin & Zhao (2008) mencionan que la salinidad tiene un efecto notable sobre la tasa de crecimiento de los rotíferos, y que además el efecto es clon-específico. Con respecto a la especie estudiada, no se tiene información específica sobre el efecto de la salinidad, pero pudo haber sido un factor de variabilidad, sobre la dinámica poblacional, como ha sido reportado para otras especies del género *Brachionus*.

La densidad máxima de la población indica la abundancia que puede ser soportada por las condiciones de cultivo probadas y refleja la reproducción y supervivencia de las especies del zooplancton y resume la historia de aclimatación de la población a condiciones experimentales (Krebs, 1985). En cambio, el tiempo de duplicación, permite predecir la abundancia de rotíferos en cualquier punto de la curva de crecimiento y es un concepto similar al tiempo generacional (tiempo promedio entre el nacimiento de los padres y el de los descendientes) (Gillooly, 2000). En este estudio, el tiempo de duplicación indicó que el tiempo generacional fue más largo para los rotíferos alimentados con RotiMac y *Nannochloropsis* sp., intermedio para los alimentados con Espirulina y muy corto para RotiGrow y Nanno 3600. El tiempo de duplicación de rotíferos alimentados con diferentes dietas, reportadas en la literatura, varía de 1,43 a 5,97 h (James *et al.*, 1983), mientras que en el presente trabajo estuvo entre 2,5 y 3,4 h. Por lo tanto, los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo registrado para distintas cepas del complejo de *B. plicatilis*.

Las diferencias estructurales y bioquímicas de las dieta también pudieron haber afectado la dinámica poblacional de los rotíferos estudiados. La microalga viva *Nannochloropsis* sp. es utilizada ampliamente en los laboratorios y en los criaderos comerciales para alimentar rotíferos, debido a su adecuada calidad

nutricional (Zou *et al.*, 2000). Sin embargo, demostró ser una dieta inferior que RotiGrow, en términos de tasas de crecimiento, fecundidad, tiempos de duplicación y densidades máximas, induciendo valores de fecundidad y de biomasa seca y orgánica similares a los obtenidos con Nanno 3600. RotiGrow y Nanno 3600 son pastas de *Nannochloropsis* sp. congelada, enriquecida con ácidos grasos altamente insaturados, ácido eicosapentaenoico, ácido araquidónico y vitaminas, con mayor proporción en RotiGrow. Alternativamente, como lo indican los datos de la composición proximal y contenido energético de las dietas; las semejanzas registradas, pudieron deberse al contenido de cantidades similares de lípidos y energía, mientras que las discrepancias se debieron probablemente a las diferencias en el contenido de proteínas, con mayor énfasis en la razón proteínas/lípidos, puesto que Øie & Olsen (1997) reportaron que existe correlación positiva entre la tasa de crecimiento y el contenido de proteínas y la razón proteínas/lípidos de los rotíferos. Adicionalmente, las dietas Espirulina y Rotimac son microalgas secas que tuvieron menores valores en los valores de dinámica poblacional, lo cual es coincidente con los resultados encontrados en otros trabajos, donde reportan que las dietas secas inducen bajas tasas de crecimiento (Mostary *et al.*, 2010).

CONCLUSIONES

Las mayores tasas de crecimiento, fecundidad y densidades máximas, así como los menores tiempos de duplicación de *Brachionus ibericus*, se obtuvieron con la dieta comercial RotiGrow, seguido por Nanno 3600, superando en ocasiones a las obtenidas con *Nannochloropsis* sp. Los resultados indicaron que RotiGrow y Nanno 3600 pueden ser utilizados como sustitutos para alimentar y crecer la cepa de rotíferos estudiada, con resultados más satisfactorios que con *Nannochloropsis* sp.

Finalmente, los estudios de dinámica poblacional son particularmente útiles debido a que los rotíferos pueden tener características cepa-específica en su potencial de crecimiento. En el caso de *B. ibericus*, es relevante debido a que esta especie es nativa de la región y no hay antecedentes de estudios anteriores. La significancia de este experimento es que la cepa de rotíferos analizada constituye una especie nativa potencialmente viable para la producción de biomasa para la alimentación larvaria, debido a su tamaño pequeño con longitud y ancho de lórica de $193,8 \pm 19,2$ y $140,9 \pm 12,1$ μm (media \pm DE), respectivamente; y a que presenta altas tasas de crecimiento en varias condiciones de alimentación.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento otorgado por el Programa de Fomento y Apoyos a proyectos de Investigación (PROFAPI2011/155) de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Se agradece las facilidades de obtención del sedimento al B.A. Jorge Watson de Acuícola San Jorge S.A. de C.V.

REFERENCIAS

- Aoki, S., J. Kanda & A. Hino. 1995. Measurements of the nitrogen budget in therotifer *Brachionus plicatilis* by using ^{15}N . Fish. Sci., 61: 406-410.
- Babadzhanov, A.S., N. Abdusamatova, F.M. Yusupova, N. Faizullaeva, L.G. Mezhlumyan & M. Malikova. 2004. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivation in Uzbekistan. Chem. Nat. Comp., 40: 276-279.
- Brett, J.R. & T.D.D. Groves. 1977. Physiological energetics. In: W.S. Hoar, D.J. Randall & J.R. Brett (eds.). Fish physiology. Academic Press, New York, 8: 279-352.
- Cariç, M., J. Sanko-Njire & B. Skaramuca. 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis*, Muller). Aquaculture, 110: 141-150.
- Cisneros, R. 2011. Rendimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. "Cayman", utilizando diferentes enriquecedores. Ecol. Apl., 10: 99-105.
- Conceição, L.E.C., M. Yúfera, P. Makridis, S. Morais & M.T. Dinis. 2009. Live feeds for early stages of fish rearing. Aquacult. Res., 41: 613-640.
- Demir, O. & G. Diken. 2011. Effects of commercial enrichment products on chemical constituents of rotifer *Brachionus plicatilis* (O.F. Muller, 1786). J. Anim. Veter. Adv., 10: 3328-3333.
- Dhert, P., K. Schoeters, P. Vermeulen, J. Sun, S. Gao, Z. Shang, X. Naihong, H. Van Duffel & P. Sorgeloos. 1997. Production, disinfection and evaluation for aquaculture applications of rotifer resting eggs from Bohai Bay, P.R. of China. Aquacult. Int., 5: 105-112.
- Fu, Y., K. Hirayama & Y. Natsukari. 1991. Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis*. O. F. Muller. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 151: 29-42.
- Gillooly, J.M. 2000. Effect of body size and temperature on generation time in zooplankton. J. Plankton Res., 22: 241-251.
- Guevara, M., L. Bastardo, R. Cortez, B. Arredondo-Vega, L. Romero & P. Gómez. 2011. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). Rev. Biol. Trop., 4: 1503-1515.

- Haché, R. & S. Plante. 2011. The relationship between enrichment, fatty acid profiles and bacterial load in cultured rotifers (*Brachionus plicatilis* L-strain) and *Artemia* (*Artemia salina* strain Franciscana). Aquaculture, 311: 201-208.
- Hagiwara, A., M.M. Jung, T. Sato & K. Hirayama. 1995. Interspecific relations between the marine rotifer *Brachionus plicatilis* and zooplankton species contaminating in the rotifer mass culture tank. Fish. Sci., 61: 623-627.
- Hagiwara, A., K. Suga, A. Akazawa, T. Kotanie & Y. Sakakura. 2007. Development of rotifer strains with useful traits for rearing fish larvae. Aquaculture, 268: 44-52.
- Hino, A., S. Aoki & M. Ushiro. 1997. Nitrogen-flow in the rotifer *Brachionus rotundiformis* and its significance in mass cultures. Hydrobiologia, 358: 77-82.
- Hotos, G.N. 2003. Growth, filtration and ingestion rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella* sp.) celled algal species. Aquacult. Res., 34: 793-802.
- Jabeur, C., A. Merghni & F. Kamoun. 2013. Feeding rotifers *Brachionus plicatilis* with microalgae cultivated in Tunisia. J. Environ. Sci. Tox. Food Technol., 4: 105-112.
- James, C.M., M. Bou-Abbas, A.M. Al-Khars, S. Al-Hinty & A.E. Salman. 1983. Production of the rotifer *Brachionus plicatilis* for aquaculture in Kuwait. Dev. Hydrobiol., 104: 77-84.
- Jeeja, P.K., I. Joseph & R.P. Raj. 2011. Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. Indian J. Fish., 58: 59-65.
- Jung, M.M., A. Hagiwara & K. Hirayama. 1997. Interspecific interactions in the marine rotifer microcosm. Hydrobiologia, 358(1-3): 121-126.
- Koste, W. 1978. Rotatoria. Die radertiere mitteleuropas. Borntraeger, Berlin, 2(673): 234 plates.
- Kostopoulou, V., M.J. Carmona & P. Divanach. 2012. The rotifer *Brachionus plicatilis*: an emerging bio-tool for numerous applications. J. Biol. Res.-Thessalon, 17: 97-112.
- Krebs, C.J. 1985. Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance. Harper & Row, New York, 800 pp.
- Lavens, P. & P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fish. Tech. Pap., 361: 295 pp.
- Lubzens, E., A. Tandler & G. Minkoff. 1989. Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologia, 186/187: 387-400.
- Ludwig, G.M., N.M. Stone & C. Collins. 1998. Fertilization of fish fry ponds. SRAC Publication, Southern Regional Aquaculture Center, Stoneville, Mississippi, 469: 8 pp.
- Martínez-Brown, J.M. 2001. Cultivo de *Nannochloropsis* sp. con tres productos de naturaleza zeolítica, para la alimentación del rotífero *Brachionus plicatilis* Müller. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Sinaloa, Mazatlán, 31 pp.
- Masha, B., J. Moosavi & S. Montajami. 2013. Assessment the effect of *Spirulina platensis* as supplemental feed on growth performance and survival rate in angel fish (*Pterophyllum scalare*). J. Fish. Int., 8: 74-77.
- Miracle, M. & M. Serra. 1989. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. Hydrobiologia, 186/187: 81-102.
- Mostary, S., M.S. Rahman, A.S.M.S. Mandal, K.M.M. Hasan, Z. Rehena & S.M.A. Basar. 2010. Culture of *Brachionus plicatilis* feeding with powdered dried *Chlorella*. Bangladesh Vet. 27: 91-98.
- Øie, G. & Y. Olsen. 1997. Protein and lipids content of the rotifers *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding condition. Hydrobiologia, 358: 251-258.
- Øie, G., K.I. Reitan & Y. Olsen. 1994. Comparison of rotifer culture quality with yeast plus oil and algal-based cultivation diets. Aquacult. Int., 2: 225-238.
- Önal, U., İ. Çelik & S. Ergün. 2010. The performance of a small-scale, high-density, continuous system for culturing the rotifer *Brachionus plicatilis*. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 34: 187-195.
- Rosas, J.C., T. Cabrera & J. Millán. 1998. Efecto de la dieta en el crecimiento poblacional del rotífero, *Brachionus plicatilis* M. 1786 Cepa Us. 50 Proceedings of the Fiftieth-Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute. November, 1997, Mérida, pp. 634-639.
- Rueda-Jasso, R.A. 1996. Efecto nutricional de tres microalgas y una cianobacteria en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* Müller, 1786. Cienc. Mar., 22: 313-328.
- Sarma, S.S.S. & S. Nandini. 2002. Comparative life table demography and population growth of *Brachionus macracanthus* Daday, 1905 and *Platyias quadricornis* Ehrenberg, 1832 (Rotifera, Brachionidae) in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. Acta Hydroch. Hydrob., 30: 128-140.
- Sarma, S.S.S., R.D. Gulati & S. Nandini. 2005. Factors affecting egg-ratio in planktonic rotifers. Hydrobiologia, 546: 361-373.
- Sayegh, F.A.Q., N. Radi & D.J.S. Montagnes. 2007. Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 273: 665-678.
- Segers, H. 1995. The Lecanidae (Monogononta). In: H.J. Dumont & T. Nogrady (eds.). Rotifer 2. Guides to the

- identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world, 6. SPB Academic Publishing, The Hague, 226 pp.
- Seychelles, L.H., C. Audet, R. Temblary, R. Fournier & F. Pernet. 2009. Essential fatty acids enrichment of cultured rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller) using frozen-concentrated microalgae. *Aquacult. Nutr.*, 15: 431-439.
- Snell, T.W., M.J. Childress, E.M. Boyer & F.H. Hoff. 1987. Assessing the status of rotifer cultures. *J. World Aquacult. Soc.*, 18: 270-277.
- Srivastava, A., K. Hamre, J. Stoss, R. Chakrabarti & S.K. Tonheim. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): with emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture*, 254: 534-543.
- Suantika, G., P. Dhert, E. Sweetman, E. O'Brien & P. Sorgeloos. 2003. Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. *Aquaculture*, 227: 173-189.
- Theilacker, G.H. & M.F. McMaster. 1971. Mass cultivation of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Mar. Biol.*, 10: 183-188.
- Viayeh, R.M., H. Mohammadi & A.B. Shafiei. 2010. Population growth of six Iranian *Brachionus* rotifer strains in response to salinity and food type. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 95: 461-470.
- Yin, X.W. & W. Zhao. 2008. Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O.F. Müller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae. *Aquat. Ecol.*, 42: 165-176.
- Yin, X.W., W.W. Min, H.J. Lin & W. Chen. 2013. Population dynamics, protein content, and lipid composition of *Brachionus plicatilis* fed artificial macroalgal detritus and *Nannochloropsis* sp. diets. *Aquaculture*, 380-383: 62-69.
- Yoshinaga, T., A. Hagiwara & K. Tsukamoto. 2001. Why do rotifer populations present a typical sigmoid growth curve? *Hydrobiologia*, 446/447: 99-105.
- Yúfera, M., E. Pascual & J. Guinea. 1993. Factors influencing the biomass of rotifer *Brachionus plicatilis* in culture. *Hydrobiologia*, 255/256: 159-164.
- Yúfera, M., G. Parra & E. Pascual. 1997. Energy content of rotifers (*Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in relation to temperature. *Hydrobiologia*, 358: 83-87.
- Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey, 660 pp.
- Zou, N., Ch. Zhang, Z. Cohen & A. Richmond. 2000. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Eur. J. Phycol.*, 35: 127-133.

Received: 5 December 2013; Accepted: 30 September 2014