

Crecimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. "Cayman", al evaluar diferentes microalgas como alimento

Population growth of the native rotifer *Brachionus* sp. "Cayman", with different microalgae as food

Rosario Cisneros

Unidad de Investigaciones en Acuicultura,
Instituto del Mar del Perú
Apartado 22, Chucuito, Callao,
rcisneros@imarpe.gob.pe

RESUMEN

Se estudió el crecimiento poblacional de la cepa *Brachionus* sp. "Cayman", cepa Chilca, Perú, en respuesta a diferentes tratamientos con microalgas: *Isochrysis galbana* (T1), *Chaetoceros gracilis* (T2), *Nannochloropsis oculata* (T3), *Isochrysis galbana* + *Chaetoceros gracilis* + *Nannochloris maculata* (T4), *Isochrysis galbana* + *Nannochloris maculata* + *Nannochloropsis oculata* (T5) y *Nannochloris maculata* (T6). Se evaluó la densidad final de la población (DF), tasa de crecimiento (TC) y productividad (R). Los resultados mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos, encontrándose que T5 presentó mejores resultados en cuanto a DF ($190 \pm 5,51$ indiv.mL⁻¹), TC ($0,40 \pm 0,01$ día⁻¹) y R ($38\ 080 \pm 1,53$ rot.L⁻¹.día⁻¹).

Palabras clave: rotífero, *Brachionus* sp., tasa de crecimiento, productividad, microalgas.

ABSTRACT

We study the population growth of *Brachionus* sp. "Cayman" strain Chilca, Peru, in response to different microalgae, : *Isochrysis galbana* (T1), *Chaetoceros gracilis* (T2), *Nannochloropsis oculata* (T3), *Isochrysis galbana* + *Chaetoceros gracilis* + *Nannochloris maculata* (T4), *Isochrysis galbana* + *Nannochloris maculata* + *Nannochloropsis oculata* (T5) y *Nannochloris maculata* (T6). Evaluating the final population density (D), population growth rate (TC) and productivity (R). The results showed statistical differences between treatments, T5 showed the best results in D ($190 \pm 5,51$ indiv.mL⁻¹), TC ($0,40 \pm 0,01$ día⁻¹) and R ($38\ 080 \pm 1,53$ rot.L⁻¹.día⁻¹).

Keywords: rotifer, *Brachionus* sp., growth rate, productivity, microalgae.

INTRODUCCIÓN

El complejo de rotíferos *Brachionus plicatilis* agrupa varias especies cosmopolitas, partenogenéticas cíclicas que aparecen regularmente en lagos salados y lagunas costeras. Es el único rotífero con importancia comercial y aplicada a través de su uso como alimento vivo para larvas de peces y crustáceos (Yoshimatzu *et al.*, 2008; Prol-García *et al.*, 2010; Malekzdeh Viayeh *et al.*, 2010; Haché & Plante, 2011). Debido a su corto tiempo de generación y a su fácil cultivo en laboratorio ha sido objeto de muchas investigaciones básicas en ecología y fisiología. Se han descrito tres especies que muestran diferencias morfológicas y ecológicas, las cuales han sido descritas o redescritas como *B. plicatilis* sensu

stricto (L), *B. rotundiformis* (SM) y *B. ibericus* (SS) (Gómez *et al.*, 2002; Hagiwara *et al.*, 2007; Papakostas *et al.*, 2009). Muchas especies de rotíferos y candidatos a especies son usualmente referidos como linajes/biotipos y han sido introducidas bajo la designación de "cripticas". En las cepas de "hatcheries", estudios moleculares han revelado la presencia de cinco especies cripticas/biotipos llamados *B. plicatilis* s.s., *B. sp.* "Austria", *B. sp.* "Manjacavas", *B. sp.* "Nevada" y *B. sp.* "Cayman" (Ciros-Pérez *et al.*, 2001; Dooms *et al.*, 2007; Vasileiadou *et al.*, 2009).

Una de las preocupaciones recientes sobre la biología de los rotíferos es la diversidad de características del complejo de especies *B. plicatilis* y sus cepas originadas en diferentes regiones geográficas (Gómez *et al.*, 2002). Con este fin, en este trabajo, se estudió el crecimiento

poblacional de *Brachionus* sp. "Cayman", cepa Chilca, Perú, en respuesta a diferentes microalgas como alimento, las que son usadas comúnmente en su cultivo (Kostopoulou & Vadstein, 2007; Yin & Zhao, 2008; Malekzadeh Viayeh *et al.*, 2010), evaluándose la tasa de crecimiento y densidad final de la población.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el laboratorio de alimento vivo del Centro Acuícola Alexander Von Humboldt, Instituto del Mar del Perú. La cepa de rotíferos utilizada pertenece al complejo *Brachionus plicatilis*, biotipo *Brachionus* sp. "Cayman" (Romero, 2008).

Recolecta y aislamiento de la cepa

La cepa fue aislada de muestras de agua recolectadas usando una malla de plancton de 53 mm, en la laguna salina "La Encantada" (12° 32' 34,61" LS y 76° 43' 38,26" LW), Chilca, Lima, entre abril y noviembre de 2008. Se tomó en cuenta el tipo de microalga predominante, así como la temperatura, salinidad y pH, durante el período de colecta (TABLA 1). La cepa aislada fue climatizada gradualmente a salinidad de 35 ups y temperatura de 25 °C (Cisneros, 2011). Se trabajó con estos parámetros debido a que los organismos marinos, tales como microalgas y peces planos, entre otros, que se cultivan en nuestro laboratorio se realizan a 35 ups, además en otros experimentos con la misma cepa de rotífero, Cisneros (2011) observó una buena adaptación de esta a la salinidad mencionada, comprobándose además que una temperatura de 25 °C (temperatura ambiente promedio de la sala de cultivo de rotíferos) proporcionó buen crecimiento poblacional durante la climatización.

Luego se estableció un cultivo clonal en vasos de precipitación de 500 mL, con agua de mar filtrada a 0,22 µm y autoclaveada, manteniéndose en una cámara climática a 25 °C, utilizando la microalga *Nannochloris maculata* como alimento. Las renovaciones del medio de cultivo se realizaron una vez por semana. Se midió la talla de los rotíferos, así como la longitud del huevo partenogenético, tomando como referencia el eje mayor (Ogata *et al.*, 2011), en un microscopio biológico compuesto, a magnificación de 20X (Fig. 1).

Protocolo experimental

El cultivo masivo de *B.* sp. "Cayman", se realizó en recipientes de 10 L, que contenían agua de mar a 35 ups de salinidad. Por ser los recipientes pequeños no se pudo

utilizar termostatos para elevar la temperatura, se consiguió mantenerla en 24,5 °C, al utilizar iluminación permanente para incrementar la temperatura del ambiente. El alimento consistió en diferentes especies de algas (seis tratamientos) durante cuatro días: *Isochrysis galbana* (T1), *Chaetoceros gracilis* (T2), *Nannochloropsis oculata* (T3), *Isochrysis galbana* + *Chaetoceros gracilis* + *Nannochloris maculata* (T4), *Isochrysis galbana* + *Nannochloris maculata* + *Nannochloropsis oculata* (T5) y *Nannochloris maculata* (T6). Las concentraciones algales fueron de 3,7 x 10⁶ cel.mL⁻¹ (T1), 4 x 10⁶ cel.mL⁻¹ (T2), 11 x 10⁶ cel.mL⁻¹ (T3), 3,6 x 10⁶ cel.mL⁻¹ (T4), 11 x 10⁶ cel.mL⁻¹ (T5) y 4 x 10⁶ cel.mL⁻¹ (T6), las mismas que se determinaron mediante conteo en una cámara de Neubauer. El recuento del número de rotíferos se realizó diariamente, utilizando una cámara de Sedgwick-Rafter. La densidad inicial de la población fue de 38 a 40 indiv.mL⁻¹. Se determinó la densidad final (DF) (indiv.mL⁻¹) obtenida con cada tratamiento, así como la tasa de crecimiento poblacional (TC) (día⁻¹), mediante la siguiente fórmula (Suantika *et al.*, 2000; Tinh *et al.*, 2006; Rioboo *et al.*, 2007):

$$TC = (\ln Nt - \ln No)/t$$

La productividad (R) en rot.L⁻¹.día⁻¹ (Verginelli *et al.*, 1994), aplicando:

$$R = Nt - No/t$$

Donde:

No: densidad inicial de rotíferos (indiv.mL⁻¹)

Nt: densidad de rotíferos (indiv.mL⁻¹) al tiempo t

t: período de cultivo (días)

Análisis estadístico

Todos los tratamientos fueron realizados por triplicado. Los datos de productividad (R) fueron transformados a escala logarítmica con el fin de aplicar el análisis estadístico. La normalidad de los datos y homogeneidad de varianzas, se determinaron mediante las pruebas de Shapiro-Wilkins y Levene respectivamente. Para determinar diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó un Análisis de Varianza de una Vía (ANOVA) a TC y R, seguido de la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Todos los análisis se realizaron con el programa SPSS versión 19.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA 1 se muestran los parámetros físico-químicos registrados en "La Encantada" durante los meses de recolecta, observándose menor abundancia entre mayo

y junio (otoño), ausencia entre julio y agosto (invierno), aumentando la abundancia a partir de septiembre (primavera). En este sentido Gómez *et al.* (2002) mencionan que las poblaciones de rotíferos son con frecuencia estacionales y la reproducción sexual es inducida bajo condiciones ambientales adversas, produciéndose huevos sexuales en estado de

latencia, estos huevos son resistentes a la desecación y permanecen en el sedimento hasta que las condiciones favorables vuelvan a aparecer, la estrategia es la de maximizar la supervivencia de las poblaciones silvestres, a través de estos bancos de huevos y reducir el impacto de las variaciones estacionales.

TABLA 1. Parámetros físico-químicos, rotíferos y microalgas registrados en la laguna "La Encantada", Chilca, Lima, durante los meses de recolecta de *Brachionus* sp. "Cayman". Abril-noviembre, 2008

Mes	Temperatura (°C)	Salinidad (ups)	pH	Rotíferos	Microalgas
Abril	27,0	50	7	++++	<i>Skeletonema costatum</i>
Mayo	18,0	58	9	+	<i>Nannochloropsis</i> sp. <i>Nannochloris</i> sp.
Junio	18,0	46	8	+	<i>Nannochloropsis</i> sp.
Julio	19,5	47	8	-	<i>Nannochloris</i> sp. <i>Dunaliella salina</i>
Agosto	20,0	45	10	-	<i>Nannochloropsis</i> sp. <i>Nannochloris</i> sp. <i>Tetraselmis</i> sp.
Septiembre	21,0	46	10	++	<i>Nannochloris</i> sp. <i>Tetraselmis</i> sp.
Octubre	25,5	46	10	++	<i>Nannochloris</i> sp. <i>Nannochloropsis</i> sp.
Noviembre	26,0	46	10	++	<i>Nannochloris</i> sp. <i>Nannochloropsis</i> sp.

(+) Densidad poblacional muy baja
 (++) Densidad poblacional baja
 (+++) Densidad poblacional media
 (++++) Densidad poblacional alta

En la TABLA 2 se observan las medidas promedio de longitud de la lóricas y eje mayor del huevo partenogenético de *B. sp.* "Cayman". Las hembras maduras generalmente llevan de 1 a 4 huevos partenogenéticos (Fig. 1),

ocasionalmente cinco (eje mayor, $84,1 \pm 16,1 \mu\text{m}$; $n = 34$). Así mismo se hace una comparación con parámetros morfológicos de las tres especies del complejo *B. plicatilis*.

TABLA 2. Comparación de parámetros morfológicos ($\bar{x} \pm DS$) entre *B. sp.* "Cayman" cepa Chilca, Perú y tres especies del complejo *B. plicatilis* sp. (los valores están en micras)

Especie/biotipo	Longitud lórica (n)	Eje mayor huevo partenogenético (n)	Referencia
<i>B. sp.</i> "Cayman"	171 ± 22 (40)	$84,1 \pm 16,1$ (34)	Presente estudio
<i>B. plicatilis</i> (tipo SS)	179 ± 4		Ogata <i>et al.</i> , 2011
<i>B. plicatilis</i> (tipo S)	212 ± 20		Ogata <i>et al.</i> , 2011
<i>B. plicatilis</i> (tipo L)	275 ± 24		Ogata <i>et al.</i> , 2011

De acuerdo con lo observado, la cepa estudiada en este trabajo presenta características similares a *B. ibericus* en cuanto a su morfología (descrita por Gómez *et al.*, 2002) y preferencia de parámetros abióticos. Ciro-Pérez *et al.* (2001) describen que *B. ibericus* tiene una ocurrencia a altas salinidades (8 a 50 ups) y a altas temperaturas (> 15 °C), similar a lo encontrado con nuestra cepa.

En cuanto a características morfológicas, la cepa Chilca presenta cuerpo muy pequeño, redondeado, con pocas espinas pequeñas, la longitud de la lóricas ($171 \pm 22 \mu\text{m}$) es mucho más pequeña que el tipo-S del complejo *B. plicatilis* y un poco menos que el tipo-SS (TABLA 2). Estudios realizados sobre el uso de rotíferos pequeños en larvicultura, fueron reportados por Hagiwara *et al.* (2007) (en Ogata *et al.*, 2011) y Wullur *et al.* (2009); estos estudios fueron realizados con *Brachionus* tipo-SS (longitud de lóricas $176 \pm 4 \mu\text{m}$) y *Proales similis* (longitud total $109 \pm 15 \mu\text{m}$).

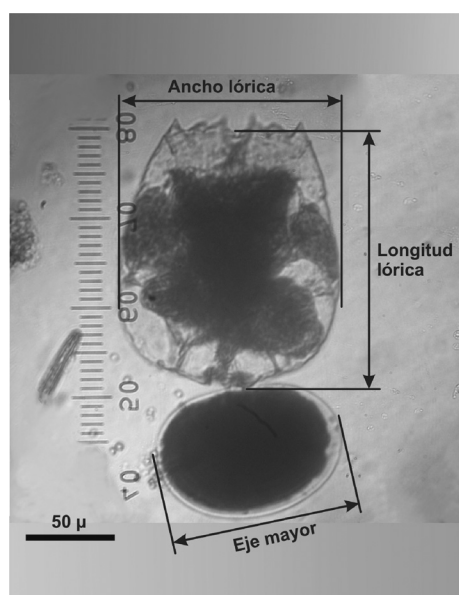


Fig. 1. *Brachionus* sp. "Cayman", aislado de una laguna salina en la localidad de Chilca, Lima, Perú

El tamaño pequeño de la cepa Chilca resulta ventajoso para alimentar larvas con tamaño de boca pequeño, ya que el uso de este tipo de rotíferos como alimento, mejora significativamente el rendimiento y aumenta la tasa de supervivencia de las larvas (Ogata *et al.*, 2011).

Tasa de crecimiento (TC) y productividad (R)

La temperatura mostró tener una gran influencia sobre el crecimiento de la cepa estudiada, habiéndose realizado anteriormente su cultivo masivo entre 25 y 27 °C (Cisneros, 2011). En este sentido se ha demostrado que el aumento de temperatura incrementa la reproducción de los rotíferos, como resultado de una aceleración del metabolismo y

desarrollo, así mismo la temperatura óptima es diferente para las diferentes cepas de rotíferos (Hagiwara *et al.*, 2007; Wullur *et al.*, 2009; Vasileiadou *et al.*, 2009).

La DF de la población al término del experimento fue mayor en T5 ($190 \pm 5,51 \text{ indiv. mL}^{-1}$) (Fig. 2). En relación con TC, este parámetro es considerado como una variable indicador en la dinámica de poblaciones de los rotíferos, así como para evaluar la producción en sistemas de cultivo masivo (Malekzadeh Viayeh *et al.*, 2010).

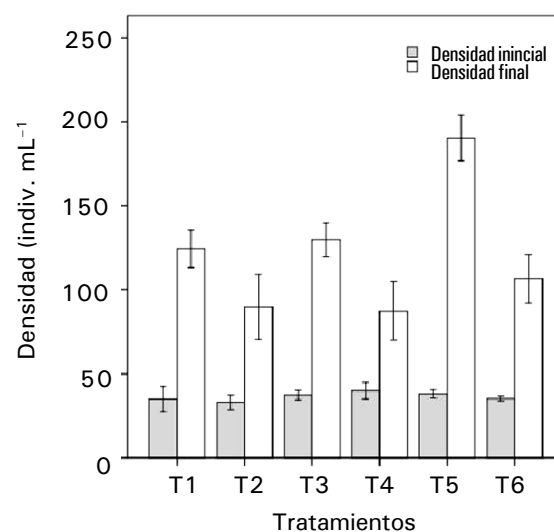


Fig. 2. Densidad inicial y final ($\bar{X} \pm \text{DS}$) (indiv. mL^{-1}) obtenidas en el cultivo del rotífero *Brachionus* sp. "Cayman" cepa Chilca, Perú, utilizando diferentes algas ($p < 0,05$)

Los resultados del ANOVA para TC y R mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($p < 0,05$), T5 presentó mayor TC ($0,40 \pm 0,01 \text{ día}^{-1}$) (TABLA 3), como consecuencia, esta mezcla de algas también proporcionó mejor R ($38\ 080 \pm 1,53 \text{ rot. L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) (Fig. 3).

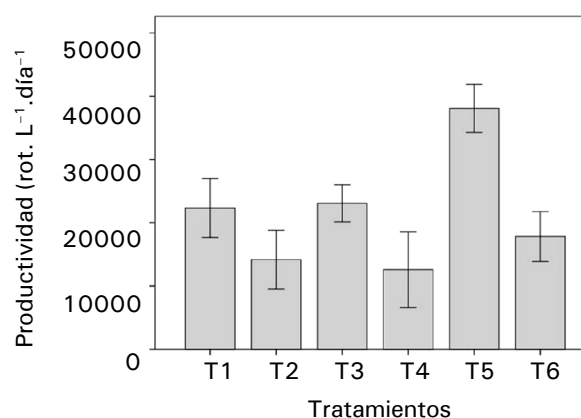


Fig. 3. Productividad ($\bar{X} \pm \text{DS}$) ($\text{rot. L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) obtenida en el cultivo del rotífero *Brachionus* sp. "Cayman" cepa Chilca, Perú utilizando diferentes algas ($p < 0,05$)

En relación con este parámetro, nuestros resultados fueron mayores a los de Abu-Rezq & James (2005), quienes encontraron un R de $12\ 130 \pm 1,89 \text{ rot.L}^{-1}.\text{día}^{-1}$

alimentando rotíferos con *Chlorella* + levadura, adicionando bacterias lácticas, así como $6\ 640 \text{ rot.L}^{-1}.\text{día}^{-1}$ con la misma dieta pero sin bacterias.

TABLA 3. Estimados ($\bar{X} \pm DS$) de la tasa de crecimiento (TC) (día^{-1}) obtenida en el cultivo del rotífero *Brachionus* sp. "Cayman" cepa Chilca, Perú, con diferentes algas

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6
TC	$0,32 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,06$	$0,40 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,02$

En el presente trabajo, T5 proporcionó mejor rendimiento poblacional por su contenido de *Nannochloropsis*, la cual está entre una de las principales algas usadas en la producción en masa de rotíferos, por su alta tasa de crecimiento, su pequeño tamaño y contenido de ácidos grasos altamente insaturados de la serie ω -3 (20:5 ω -3), los cuales son esenciales para el crecimiento en larvas de peces (King *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 2005). Además T5 contenía *Isochrysis galbana*, microalga que presenta niveles altos de 22:6 ω -3, en este sentido King *et al.* (2002), mencionan que rotíferos alimentados con una mezcla de *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis gaditana* por 24 h, presentaron niveles altos de ácidos grasos como el 20:4 ω -6 y 20:5 ω -3. Malekzadeh Viayeh *et al.* (2010) refieren que el alimento es el componente más importante en un cultivo de rotíferos y el tipo de algas usadas afecta directamente su reproducción y consecuentemente la tasa de crecimiento poblacional. Estos mismos autores encontraron valores de TC entre 0,62 y 0,82 día^{-1} en cultivo de *B. plicatilis* con *Nannochloropsis*. Sin embargo, los valores de TC obtenidos en el presente trabajo, están dentro del rango obtenido por otros autores, tales como Cabrera, T. *et al.* (2005), quienes evaluaron los efectos de diferentes microalgas y la salinidad sobre el crecimiento de tres tipos de *B. plicatilis*, encontrando con *Nannochloropsis oculata*, valores de 0,34 a 0,59 día^{-1} para *B. plicatilis*, 0,42 a 0,64 día^{-1} para *B. rotundiformis* y 0,35 a 0,38 día^{-1} para una cepa SS aislada en zonas tropicales, los valores más altos correspondieron a cultivos realizados a salinidad de 32 ups. En este sentido, los valores de TC pueden variar con el tipo de rotífero, parámetros como salinidad y temperatura, así como las condiciones de cultivo y forma de cosecha de la microalga (Ferreira *et al.*, 2008). Así mismo Cabrera, T. *et al.* (2005), refieren que rotíferos originados en aguas costeras, se espera que tengan una TC superior en cultivos con salinidad más alta y nuestros resultados coinciden con otros estudios que han reportado buen crecimiento de rotíferos a temperaturas alrededor de 25 °C y 35 ups de salinidad, particularmente al utilizar *Nannochloropsis* como alimento.

En este sentido Yin & Zhao (2008) en un trabajo realizado con diferentes cepas de *Brachionus plicatilis*, encontraron valores de 0,4 a 0,5 a 18 °C, incrementándose la TC al aumentar la temperatura hasta 18 °C. Así mismo, los valores de TC obtenidos en el presente trabajo están dentro del rango encontrado en otros estudios, con otras microalgas, como el de Cabrera, M. I. (2008), en un experimento de cultivo con *Brachionus rotundiformis*, utilizando *Chlorella*, quien encontró valores de 0,37 a 1,96 día^{-1} , dependiendo de la densidad algal.

Determinar las condiciones óptimas de cultivo y límites para el crecimiento poblacional del alimento vivo utilizado en larvicultura de peces, es un requerimiento para su producción en masa (Wullur *et al.*, 2009), de ahí la importancia de conocer las preferencias de alimento y el rango de factores ambientales tolerados por una especie, por ello sería recomendable realizar más investigaciones con esta cepa, utilizando diferentes parámetros ambientales, con el fin de optimizar las condiciones de cultivo para obtener un máximo de producción.

REFERENCIAS

- Abu-Rezq, T. & James, C. (2005). Application of probiotics in rotifer production systems for marine fish hatcheries. *Marine finfish Aquaculture Network*, July-September.
- Cabrera, M. I. (2008). Tasa de crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rotundiformis* (Rotifera: Brachionidae) en un quimiostato de dos cámaras. *Rev. Biol. Trop.*, 56, 1149-1157.
- Cabrera, T., Bae, J. H., Bai, S. C. & Hur, S. B. (2005). Effects of microalgae and salinity on the growth of three types of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *J. Fish. Sci. Technol.*, 8 (2), 70-75.
- Ciros-Perez, J., Gómez, A. & Serra, M. (2001). On the taxonomy of three sympatric sibling species of the *Brachionus plicatilis* (Rotifera) complex from Spain, with the description of *B. ibericus* n. sp. *Journal of plankton research*, 23 (12), 1311-1328.

- Cisneros, R. (2011). Rendimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. "Cayman", utilizando diferentes enriquecedores. *Ecol. apl.*, 10 (2), 99-105.
- Dooms, S., Papakostas, S., Hoffman, S., Delbare, D., Dierckens, K., Triantafyllidis *et al.* (2007). Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) as a tool for the characterisation of *Brachionus* sp. Strains. *Aquaculture*, 262, 29-40.
- Ferreira, M., Maseda, A., Fabregas, J. & Otero, A. (2008). Enriching rotifers with "premium" microalgae. *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO. *Aquaculture*, 279, 126-130.
- Gómez, A., Serra, M., Carvalho, G. & Lunt, D. H. (2002). Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (rotifera). *Evolution*, 56 (7), 1431-1444.
- Haché, R. & Plante, S. (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., Suga, K., Akazawa, A., Kotani, T. & Sakakura, Y. (2007). Development of rotifer strains with useful traits for rearing fish larvae. *Aquaculture*, 268, 44-52.
- King, J., Xiaoming, L. & Rusch, K. (2002). Nutritional properties of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* fed the fresh water microalgae *Selenastrum capricornutum*. *World Aquaculture Society*, 33, 478-488.
- Kostopoulou, V. & Vadstein, O. (2007). Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, *B. "Nevada"* and *B. "Cayman"* under different food concentrations. *Aquaculture*, 273, 449-458.
- Malekzadeh Viayeh, R., Mohammadi, H. & Banj Shafiei, A. (2010). Population growth of six Iranian *Brachionus* rotifer strains in response to salinity and food type. *Internat. Rev. Hydrobiol.*, 95 (6), 461-470.
- Ogata, Y., Tokue, Y., Yoshikawa, T., Hagiwara, A. & Kurokura, H. (2011). A loation strain of the rotifer *Brachionus angularis* holds promise as a food source for small-mouthed larvae of freshwater fish in aquaculture. *Aquaculture*, 312, 72-76.
- Papakostas, S., Triantafyllidis, A., Kappas, I. & Abatzopoulos, T. J. (2009). Clonal composition of *Brachionus plicatilis* s.s and *B. sp.* Austria Hatchery strains based on microsatellite data. *Aquaculture*, 296, 15-20.
- Prol-García, M. J., Planas, M. & Pintado, J. (2010). Different colonization and residence time of *Listonella anguilarum* and *Vibrio splendidus* in the rotifer *Brachionus plicatilis* determined by real-time PCR and DGGE. *Aquaculture*, 302 (2010), 26-35.
- Rioboo, C., Prado, R., Herrero, C. & Cid, A. (2007). Population growth study of the rotifer *Brachionus* sp. fed with triazine-exposed microalgae. *Aquatic Toxicology*, 83, 247-253.
- Romero, L. (2008). Caracterización morfométrica y aspectos filogenéticos de cepas de rotíferos del grupo *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae) utilizados en la acuicultura peruana. Tesis para optar por el título profesional de Biólogo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Suantika, G., Dhert, P., Rombaut, G., Vandenbergue, J., De Wolf, T. & Sorgeloos, P. (2002). The use of ozone in a high density recirculation system for rotifers. *Aquaculture*, 201, 35-49.
- Tinh, N., Phuoc, N., Dierckens, K., Sorgeloos, P. & Bossier, P. (2006). Gnotobiotically grown rotifer *Brachionus plicatilis* sensu strictu as a tool for evaluation of microbial functions and nutritional value of different food types. *Aquaculture*, 253, 421-432.
- Vasileiadou, K., Papakostas, S., Triantafyllidis, A., Kappas, I. & Abatzopoulos, T. (2009). A multiplex PCR method for rapid identification of *Brachionus* rotifers. *Mar biotechnol.*, 11, 53-61.
- Verginelli, R., Marín, N. & Lodeiros, C. (1994). Cultivo masivo del rotífero *Brachionus plicatilis* con tres dietas de microalgas. *Rev. Lat. Acuí. Lima-Perú*, 43, 68-71.
- Wullur, S., Sakakura, Y. & Hagiwara, A. (2009). The minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: Culture and feeding to small mouth marine fish larvae. *Aquaculture*, 293, 62-67.
- Yin, X. W. & Zhao, W. (2008). Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O.F. Müller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae. *Aquatic ecol.*, 42, 165-176.
- Yoshimatsu, T., Higuchi, T., Hamasaki, Y. & Tanaka, K. (2008). Preliminary Trials on the Effects of Lighting for the Populations Growth of the Rotifer, *Brachionus plicatilis*. *JARQ*, 42, 131-136.