

Universidad Ricardo Palma
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Académico Profesional de Biología



Efecto de la temperatura, la salinidad y sus
interacciones sobre el crecimiento
poblacional del rotífero nativo *Brachionus*
sp. Cayman, cepa Chilca, Perú

Tesis para optar el Título Profesional de
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

Renzo Rosales Barrantes

LIMA – PERÚ
2012

*A mi asesora, Rosario Cisneros Burga,
por su constante ayuda.*

RESUMEN

En la acuicultura, uno de los factores limitantes es la obtención y producción de post larvas de peces, crustáceos y moluscos. El alimento vivo (principalmente los rotíferos) es esencial durante el desarrollo larvario de peces.

Con el fin de incrementar la base de datos relacionada con el cultivo en laboratorio del rotífero *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca – Perú, y obtener información para mejorar su rendimiento. El presente trabajo se realizó a fin de estudiar el efecto de la temperatura, la salinidad, así como la interacción de estas dos variables, sobre el crecimiento poblacional de esta cepa nativa.

Se utilizó un diseño factorial cruzado 2 por 3, teniendo 2 temperaturas (25 y 30°C) y 3 salinidades (15, 25 y 35 ups), sumando en total 6 tratamientos experimentales, cada uno con 3 repeticiones, en los cuales se determinó su tasa intrínseca de crecimiento.

Los resultados mostraron que la temperatura ejerce efecto sobre la tasa de crecimiento poblacional de *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca, observándose que a mayor temperatura se incrementa la tasa de crecimiento.

La salinidad también afecta negativamente la tasa de crecimiento, observándose una relación inversa, es decir, que a una menor salinidad se incrementa la tasa de crecimiento.

Se observaron las mayores tasas de crecimiento en los tratamientos experimentales a salinidades de 15 y 25 ups, a una temperatura de 30 °C.

En el presente estudio no se observó un efecto de la interacción de los factores temperatura y salinidad sobre la tasa de tasa de crecimiento de *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca.

ABSTRACT

In aquaculture, one of the limiting factors is the production of post larvae of fishes, crustacean and mollusks. Live feeds (in special rotifers) are essential during the development of fish larvae.

With the aim of increasing the database related to the culture in laboratory of the rotifer *Brachionus* sp. Cayman strain Chilca – Perú, and to gain information in order to increase their production performance. The present work was realized in order to study the effect of temperature, salinity and their interaction in the intrinsic growth rate of this native strain.

For this purpose, a 2 by 3 factorial design was used, having 2 temperatures (25 y 30°C) and 3 salinities (15, 25 y 35 ups) which gave in total 6 experimental treatments, each one with 3 replications, in order to determine their intrinsic growth rate.

The results show that temperature affects the population growth rate of *Brachionus* sp. Cayman strain Chilca, in which at a higher temperature the

growth rate increases.

Salinity also affects negatively the intrinsic growth rate, showing an inverse relation, this is that at a lower salinity the growth rate increases.

The higher growth rates were observed in the experimental treatments at salinities of 15 or 25 ups, at a temperature of 30 °C.

In the present study the interaction of both factors (temperature and salinity) did not show a significative effect over the growth rate of *Brachionus* sp. Cayman strain Chilca.

INDICE

1. Introducción	7
2. Antecedentes	10
2.1 Biología general de los rotíferos	10
2.2 Reproducción	12
2.3 Taxonomía y filogenia del complejo <i>Brachionus plicatilis</i>	15
2.4 Efectos de la temperatura y la salinidad en la fisiología del género <i>Brachionus</i>	16
2.5 Efectos de la temperatura y la salinidad en la tasa de crecimiento intrínseco de <i>Brachionus plicatilis</i>	19
3. Materiales y métodos	23
3.1 Material biológico.....	23
3.1.1 Cepa estudiada	23
3.2 Métodos.....	23
3.2.1 Protocolo experimental	23
3.2.2 Análisis estadístico	28
4. Resultados	29
5. Discusión	35
6. Conclusiones	39
7. Referencia bibliográfica	40

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura hoy en día genera el 46% del suministro total de pescado comestible (FAO, 2010), es por ello que esta actividad representa una solución a la demanda creciente de alimento mundial, teniendo como ventaja la alta tasa de conversión de alimento y la disponibilidad de amplias extensiones de cuerpos de agua.

Esto ha generado que la acuicultura mundial se haya incrementado dramáticamente en los últimos 50 años, desde una producción de menos de un millón de toneladas anuales a comienzos de la década del 50 a 51,7 millones de toneladas en el 2006, creciendo más rápidamente que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal, esperándose que supere a la pesca de captura como fuente de proteína para la alimentación humana (FAO, 2009).

Uno de los factores limitantes en el cultivo de especies acuáticas, es la obtención y producción de alimentos que cubran todos los requerimientos nutritivos y que sean de bajo costo.

El alimento vivo (fitoplancton y zooplancton) es esencial durante el desarrollo larvario de peces, crustáceos y moluscos (Torretera y Tacon, 1989), debido a que las larvas en desarrollo suelen ser muy pequeñas y por lo general su fisiología no está completamente desarrollada. Por ejemplo, el incompleto desarrollo de sus órganos de percepción (ojos y quimiorreceptores) y del aparato digestivo, imposibilita el uso de alimento artificial, el cual no atrae visualmente y no posee las enzimas necesarias para las larvas durante los periodos de alimentación inicial (Lavens y Sorgeloos, 1996).

En los años sesenta, científicos japoneses descubrieron que los rotíferos (en especial *Brachionus plicatilis*), previamente considerados una plaga en los estanques de cultivo, se podían utilizar como primer alimento para las larvas de peces. Estos animales poseen varias ventajas como: tamaño pequeño (< 300 micras), facilidad de cultivarlos, altas tasas de producción, natación lenta y la posibilidad de enriquecerlos nutricionalmente antes de ser administrados a las larvas (Lubzens y Zamora, 2007).

La taxonomía de las especies de *Brachionus* usadas para la acuicultura, por mucho tiempo se guió en caracteres morfológicos, estableciendo dos especies: *Brachionus plicatilis* (morfotipo grande) y *Brachionus rotundiformis* (morfotipo pequeño) (Segers, 1995).

Sin embargo, la taxonomía de estas especies se redefinió después del uso de técnicas moleculares. Como resultado, *B. plicatilis* se dividió en tres nuevas especies: *B. plicatilis sensu stricto*, *B. ibericus*, *B. rotundiformis* y once linajes genéticamente diferentes que podrían representar diferentes especies (Gómez *et al.*, 2002; Suatoni *et al.*, 2006).

Este cambio en la taxonomía de la(s) especie(s) ha originado que se tenga que reevaluar muchos estudios ya realizados, tales como las condiciones óptimas de cultivo.

En el Perú se cuenta con varias cepas de *Brachionus sp.*, siendo utilizada en investigaciones de acuicultura, la oriunda de las salinas de Chilca, la cual fue categorizada molecularmente, como perteneciente al linaje *Brachionus sp. Cayman* (Romero, 2006).

Con el fin de incrementar la base de datos relacionada al cultivo de esta cepa en laboratorio y obtener información para mejorar el rendimiento de esta, el presente trabajo se realizó a fin de estudiar el efecto de la temperatura, la salinidad y el efecto combinado de ambas variables sobre el crecimiento poblacional de esta cepa nativa.

2. ANTECEDENTES

2.1. BIOLOGÍA GENERAL DE LOS ROTÍFEROS

El Phylum Rotifera reúne a un grupo de invertebrados acuáticos pequeños, no segmentados, pseudocelomados y de simetría bilateral. La mayoría son nadadores aunque se han encontrado especies sedentarias y coloniales (Ruttner-Kolisko, 1974; Pontin, 1978; Wallace y Snell, 1991; Nogrady *et al.*, 1993).

Alrededor de 2000 especies habitan lagos dulceacuícolas, existen varias especies en cuerpos de agua salobres y marinos. Aunque los rotíferos son un Phylum pequeño, son extremadamente importantes en los ambientes dulceacuícolas, constituyendo hasta un 30% del total de la biomasa planctónica. Consumen bacterias y/o algas, generan un vínculo entre productores primarios y consumidores secundarios como peces y larvas de insectos (Lubzens y Zamora, 2007).

Los rotíferos tienen diversas características distintivas (Fig. 1). Están caracterizados por una corona anterior, apical y ciliada, que le sirve en la

natación y en la alimentación. La presencia de la corona distingue a los rotíferos de todos los demás metazoos, y los movimientos metacronales de los cilios en el aparato rotacional anterior, da la ilusión de dos ruedas giratorias, lo cual es una de las características que distingue a los organismos pertenecientes a este grupo.

Generalmente tienen forma de saco y se pueden distinguir 4 regiones: una cabeza poseedora de la corona, un cuello de longitud variable, un cuerpo y un pie, poseyendo típicamente 2 dedos (puede variar entre 1 y 4) el cual usualmente se retrae durante la natación.

Poseen un espacio interno lleno de fluido que es conocido como el pseudoceloma, el cual se liga externamente con el integumento e internamente con las células epiteliales de varios órganos (digestivo, protonefridial y reproductivo). No hay sistemas respiratorios ni circulatorios en los rotíferos. El fluido interno del pseudoceloma actúa como un sistema circulatorio, irrigando los órganos internos. Su composición está regulada por los protonefridios y se reabastece por el tracto digestivo.

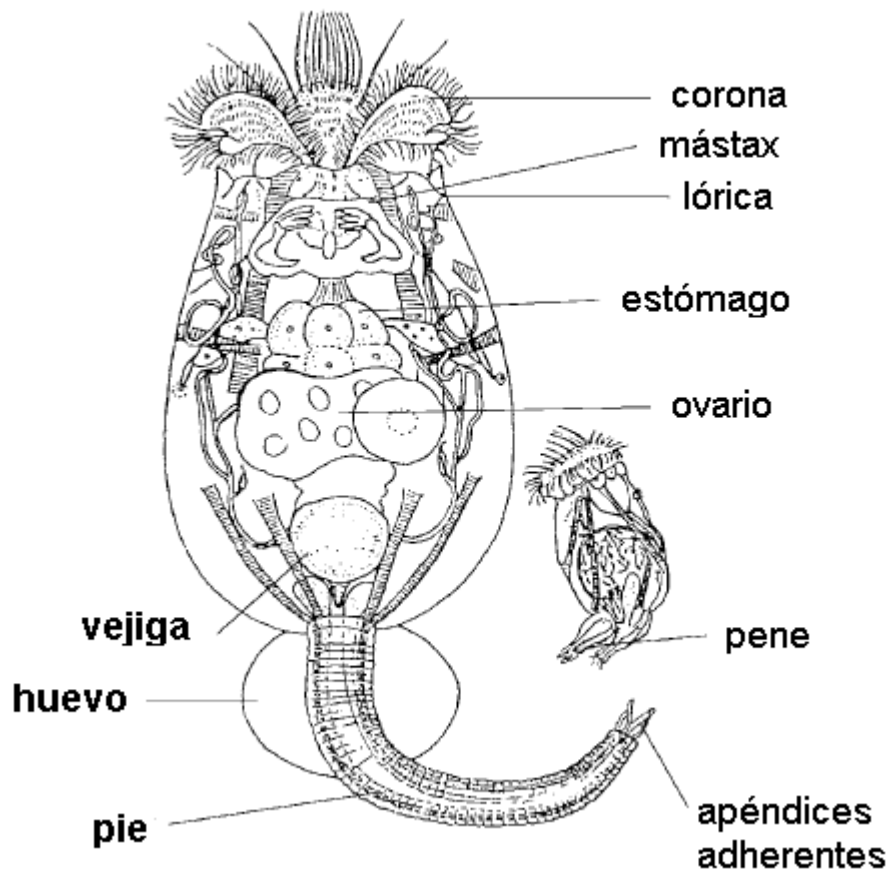


Figura 1: Anatomía de *Brachionus* sp. hembra y macho (Dhert, 1996).

2.2. REPRODUCCIÓN

Casi todos los rotíferos en la naturaleza son hembras. Los machos solo ocurren en periodos muy cortos y en muchas especies nunca se les han observado. Durante condiciones favorables, la población se incrementa a través de partenogénesis diploide, en donde las hembras diploides producen huevos diploides conocidos como huevos amícticos.

Brachionus puede reproducirse ya sea por partenogénesis o a través de reproducción sexual. En general, los rotíferos de este grupo se reproducen por partenogénesis cíclica, lo que significa que la reproducción asexual es prevalente, pero bajo circunstancias específicas la reproducción sexual puede ocurrir.

Las hembras son siempre diploides y los machos cuando aparecen son haploides y con un tamaño mucho más reducido que las hembras. Las hembras pueden ser amícticas o mícticas y morfológicamente son indistinguibles. Las hembras amícticas producen partenogénicamente huevos diploides que se desarrollan por medio de la mitosis en hembras, mientras que las hembras mícticas producen partenogénicamente huevos haploides vía meiosis (Fig. 2).

Si una hembra míctica no se aparea y no es fertilizada, los huevos haploides se desarrollan en machos, pero una hembra míctica fertilizada formará huevos diploides quísticos. Los huevos formados partenogénicamente (diploides o haploides) se desarrollarán inmediatamente en embriones y eclosionarán. Los huevos quísticos eclosionarán bajo las condiciones apropiadas en hembras amícticas luego de un periodo de dormancia.

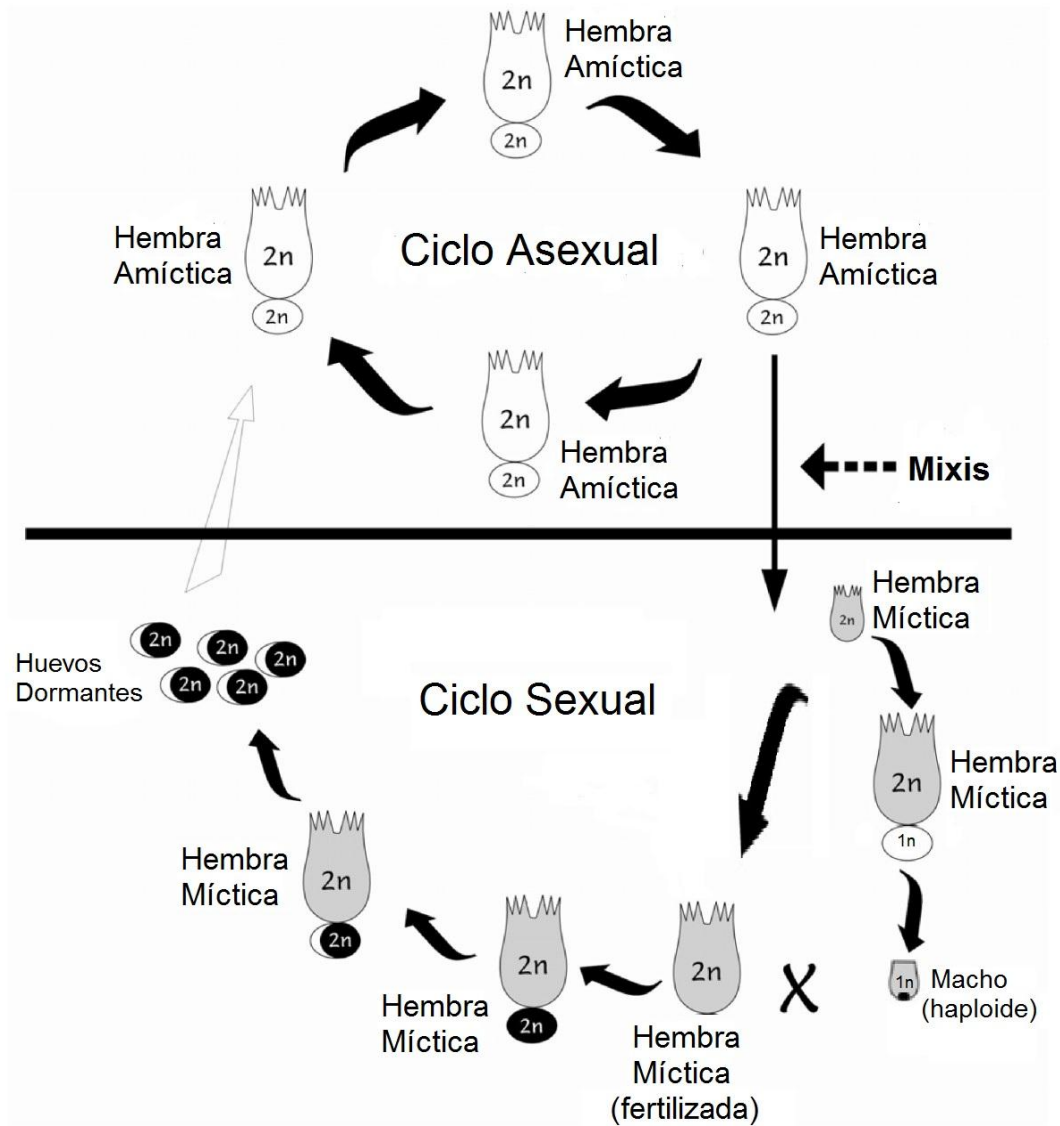


Figura 2: Explicación esquemática de los ciclos reproductivos sexuales y asexuales de *Brachionus plicatilis*. Modificado de Denekamp et al. 2009.

2.3. TAXONOMÍA Y FILOGENIA DEL COMPLEJO *Brachionus plicatilis*

El género *Brachionus* se encuentra clasificado taxonómicamente de la siguiente manera:

Phylum: Rotifera

Superclase: Eurotatoria

Clase: Monogononta

Orden: Ploima

Familia: Brachionidae

La taxonomía de los rotíferos y en especial la especie *Brachionus plicatilis* ha estado en constante revisión.

Primeros estudios en su taxonomía y su cultivo mencionaban la existencia de dos morfotipos (uno grande y uno pequeño) dentro de la especie *B. plicatilis*.

Segers (1995) estudió a estos dos morfotipos y los clasificó en *Brachionus plicatilis* (morfotipo grande) y *Brachionus rotundiformis* (morfotipo pequeño).

Estudios posteriores sugirieron la diferencia genética de estas dos especies (Ciros-Pérez *et al.*, 2001) y además proponen una tercera

especie (*Brachionus ibericus*) como perteneciente al complejo *B. plicatilis*.

Gómez *et al.*, (2002). Estudiaron a varias poblaciones del complejo *B. plicatilis* pertenecientes a lagos de la península ibérica y algunas localidades del resto del mundo usando técnicas moleculares. Ellos encontraron 9 linajes genéticamente divergentes (*B. plicatilis* s.s; Nevada; Austria; Manjavacas; Cayman; Tiscar; Almenara, *B. ibericus* y *B. rotundiformis*) los cuales deberían considerarse especies diferentes.

Suantoni *et al.*, (2006). Hacen un estudio geográficamente más amplio sobre las diferencias filogenéticas y reproductivas de las poblaciones del complejo *B. plicatilis*. Ellos encontraron al menos 14 linajes genéticamente divergentes según el estudio filogenético.

Romero (2008). Analiza filogenéticamente a una cepa procedente de una laguna de Chilca - Perú. Los resultados mostraron que pertenece al linaje *Brachionus* sp. Cayman.

2.4. EFECTOS DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD EN LA FISIOLÓGÍA DEL GÉNERO *Brachionus*

Existe una clara relación entre la temperatura y la duración del desarrollo embrionario en el género *Brachionus*, habiendo un incremento general en la tasa de desarrollo embrionario a medida que se incrementa la

temperatura en el rango desde los 0.6 a 35 °C (Galkovskaya, 1987; Herzig, 1983 y Yúfera, 1987). Por otro lado, la salinidad no afecta la duración del desarrollo embrionario de *Brachionus plicatilis* (Lowe, 2005).

La pendiente de la curva y los valores de velocidad absolutos en la tasa del crecimiento embrionario son dependientes del genotipo. En muchos casos, cuando la temperatura decrece, las especies adaptadas a temperaturas bajas muestran un desarrollo embrionario más veloz que especies adaptadas a temperaturas altas. Siendo lo contrario cuando la temperatura aumenta. (Galkovskaya, 1987).

La tasa de crecimiento somático post-embrionario también es altamente dependiente de la temperatura, teniéndose que a temperaturas más altas el crecimiento es más rápido (Miracle y Serra, 1989). Este crecimiento es casi totalmente restringido al periodo juvenil (definido hasta que se produce el primer huevo), la tasa de crecimiento experimenta un marcado decrecimiento que coincide con el comienzo de la reproducción y de allí en adelante, la materia y la energía son directamente dirigidas hacia la reproducción en vez del crecimiento (Carmona *et al.*, 1989).

La longevidad y la fecundidad también están claramente influenciadas por la temperatura. Kauler y Enesco (2011) 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. Por otro lado, la fecundidad se reduce significativamente por la supresión de la tasa de reproducción.

La temperatura y la salinidad también influyen en la tasa de filtración y la tasa de consumo de oxígeno. K. Ho Kang *et al.*, (2010) encuentran una dependencia funcional de la tasa de filtración (F) en base a la temperatura (T) y la salinidad (S), la cual se expresa en la siguiente fórmula:

$$F = - 1.658 + 0.917T + 0.63S$$

Ellos observaron la mayor tasa de filtración a 30 °C y 35 ups, y la menor tasa de filtración a 15 °C y 20 ups.

Además, en lo que se refiere a la tasa consumo de oxígeno (O) también se encontró la siguiente dependencia funcional:

$$O = -3.133 + 0.165T + 0.81S$$

El mayor consumo de oxígeno se observó a 35 °C y 40 ups, y el menor a 15 °C y 20 ups.

Existe evidencia que *Brachionus plicatilis* es un organismo osmoregulador, observándose una mayor actividad de la enzima ATPasa reguladora de sodio y potasio conforme aumenta la salinidad y una

relación inversa entre la salinidad y la tasa de crecimiento y fecundidad (Lowe, 2005). Esto sugiere que esta especie gasta energía para regular su medio interno en vez de utilizarlo en la reproducción.

2.5. EFECTOS DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD EN LA TASA DE CRECIMIENTO INTRINSECO DE *Brachionus plicatilis*

Existe gran cantidad de material bibliográfico sobre los efectos de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de crecimiento intrínseco “*r*”, sin embargo estos estudios se han basado en la taxonomía antigua (según caracteres morfológicos) y por ello, quizá, encontraron que había diferencias en las condiciones óptimas de cultivo entre las cepas de *Brachionus plicatilis* procedentes de distintos lugares. (Pascual y Yúfera, 1983; Lubzens *et al.*, 1989; Miracle y Serra, 1989; Yin y Zhao, 2008).

Pascual y Yúfera (1983), utilizan una especie pequeña de *B. plicatilis* para determinar los efectos separados de la temperatura y la salinidad. En su primer ensayo utilizando diferentes temperaturas a una salinidad constante de 36 ups, encontraron que la temperatura óptima es de 35 °C. En el segundo ensayo probando diferentes salinidades a una temperatura constante de 24 °C, encontraron que la salinidad óptima está en el rango de 2 – 3 ups.

Lubzens *et al.* (1989), hace una revisión de la literatura sobre las diferentes características de *B. plicatilis* en su uso para la acuicultura. Aquí se aprecia que en algunas cepas de *B. plicatilis*, sus tasas de reproducción varían de manera diferente ante el aumento de temperatura.

Dhert (en Lavens y Sorgeloos, 1996) menciona que la temperatura óptima para el morfotipo pequeño es de 28 - 35 °C, mientras que para el morfotipo grande la temperatura es de 18 - 25 °C.

En Miracle y Serra (1989), se estudia el efecto de la temperatura y la salinidad en 3 poblaciones de *Brachionus plicatilis* pertenecientes a lagunas con diferentes condiciones ambientales. Se pueden sacar 3 conclusiones del ensayo:

- La tasa intrínseca de crecimiento r aumenta conforme la temperatura también lo hace.
- Los valores de la tasa intrínseca de crecimiento r dentro de una misma temperatura, muestran una gran variabilidad condicionada a la población y la salinidad.
- El efecto de la salinidad en la tasa intrínseca de crecimiento r está influenciada mayormente por el tipo de población y por una interacción con la temperatura. Existiendo una aparente relación

con las condiciones ambientales de las lagunas de donde proceden.

Lubzens *et al.* (2001), menciona que en general para *B. plicatilis*, la mayor tasa de crecimiento se consigue a una temperatura y salinidad óptima de 20 – 25 °C y 10 – 25 ups respectivamente.

En Yin y Zhao (2008), se estudia los mismos efectos en 6 poblaciones de *B. plicatilis* procedentes de lagos salados y salobres de China.

Se evidencia claramente el efecto de la temperatura y la salinidad en la tasa de crecimiento de estas 6 poblaciones. Todas las poblaciones, como era de esperarse, muestran un incremento en la tasa intrínseca de crecimiento r como resultado del aumento de la temperatura.

Según el análisis estadístico de sus resultados, el genotipo (clon o población) no produce un efecto significativo en la variabilidad de la tasa intrínseca de crecimiento r . Sin embargo las interacciones de temperatura por la salinidad y temperatura por el clon influyen significativamente a la tasa intrínseca de crecimiento r .

Campillo *et al.* (2011) compararon el efecto de la temperatura (20 y 25 °C) y la salinidad (15 y 30 ups) sobre diversos parámetros en la historia de vida entre 6 poblaciones de *B. plicatilis* pertenecientes a diversos lagos

del este de España. En lo referente al efecto sobre la tasa intrínseca de crecimiento, se observó que a mayor temperatura y menor salinidad todas las poblaciones tienen su mayor tasa de crecimiento intrínseco.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1. CEPA ESTUDIADA

Los rotíferos utilizados en el presente estudio pertenecen al cepario del laboratorio de Alimento Vivo del Centro de Investigaciones Acuícolas von Humboldt, Instituto del Mar del Perú. Forman parte del complejo *Brachionus plicatilis*, biotipo *Brachionus* sp. Cayman (Romero, 2008).

3.2. MÉTODOS

3.2.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño factorial cruzado 2 x 3, teniendo 2 temperaturas (25 y 30°C) y 3 salinidades (15, 25 y 35 ups), sumando en total 6 tratamientos experimentales, cada uno con 3 repeticiones (tabla 1 y figura 3).

Tabla 1: Tratamientos experimentales (temperatura y salinidad) usados en el cultivo de *Brachionus* sp. "Cayman", cepa Chilca, Perú.

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Temperatura (°C)	25	25	25	30	30	30
Salinidad (ups)	15	25	35	15	25	35

Los organismos fueron aclimatados por una semana en matraces de 500 ml a las respectivas salinidades y temperaturas del experimento para tener un cultivo inicial. Para la preparación de las diferentes salinidades se mezcló agua de mar filtrada a 0.23 μ y agua destilada hasta conseguir la salinidad deseada. El pH inicial en todos los medios de cultivo se mantuvo en 7, para lograr esto se añadió pequeños volúmenes de HCl (concentrado) a los medios de cultivo. Todos los cultivos estuvieron bajo una iluminación y aireación constante, lo cual se logró utilizando 2 fluorescentes de 40 watts y un compresor de aire de 1hp, respectivamente.

Para eliminar el riesgo de contaminación por protozoarios, la aireación pasaba por un filtro de algodón justo antes de la entrada a los matraces.

La temperatura de los matraces se mantuvo constante a un intervalo de (\pm 1 °C) de la temperatura deseada, para ello se sumergían parcialmente los matraces en dos peceras con calentadores y enfriadores regulados con termostatos (Fig. 4). La verificación de las temperaturas se realizó dos veces al día (día – noche) utilizando un termómetro digital YSI®.

La alimentación de los rotíferos fue realizada con Selco Sparkle® (INVE, Ghent, Belgium) a una ración de 0.35 g por millón de rotíferos cada 12 horas durante el periodo del ensayo.

Al término de la etapa de aclimatación, se sembraron las unidades experimentales a una densidad aproximada de 30 rotíferos/ml obtenidos aleatoriamente de los cultivos pre-experimentales respectivos a cada tratamiento.

Estas unidades experimentales consistían en matraces de 50 ml, con medios de cultivo estériles, los cuales se prepararon y mantuvieron de la misma manera que en la etapa de aclimatación. La duración del ensayo fue de 5 días.

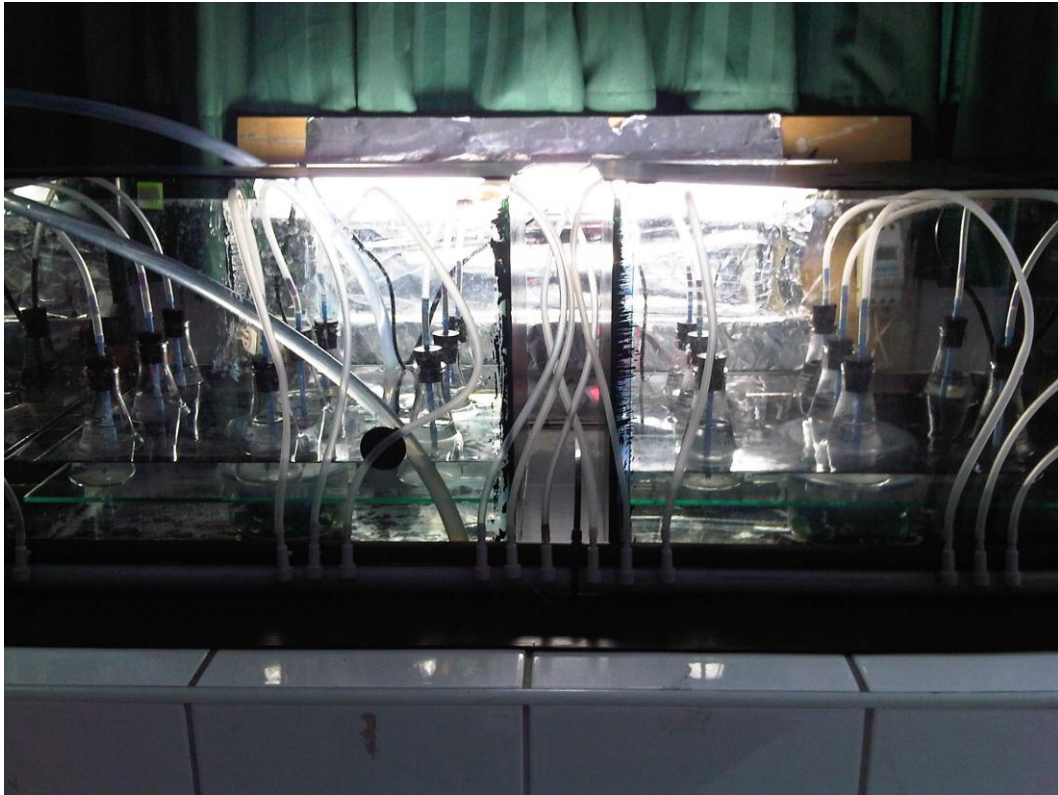


Figura 3: Unidades experimentales utilizadas para el cultivo de Brachionus sp. Cayman a diferentes salinidades y temperaturas.

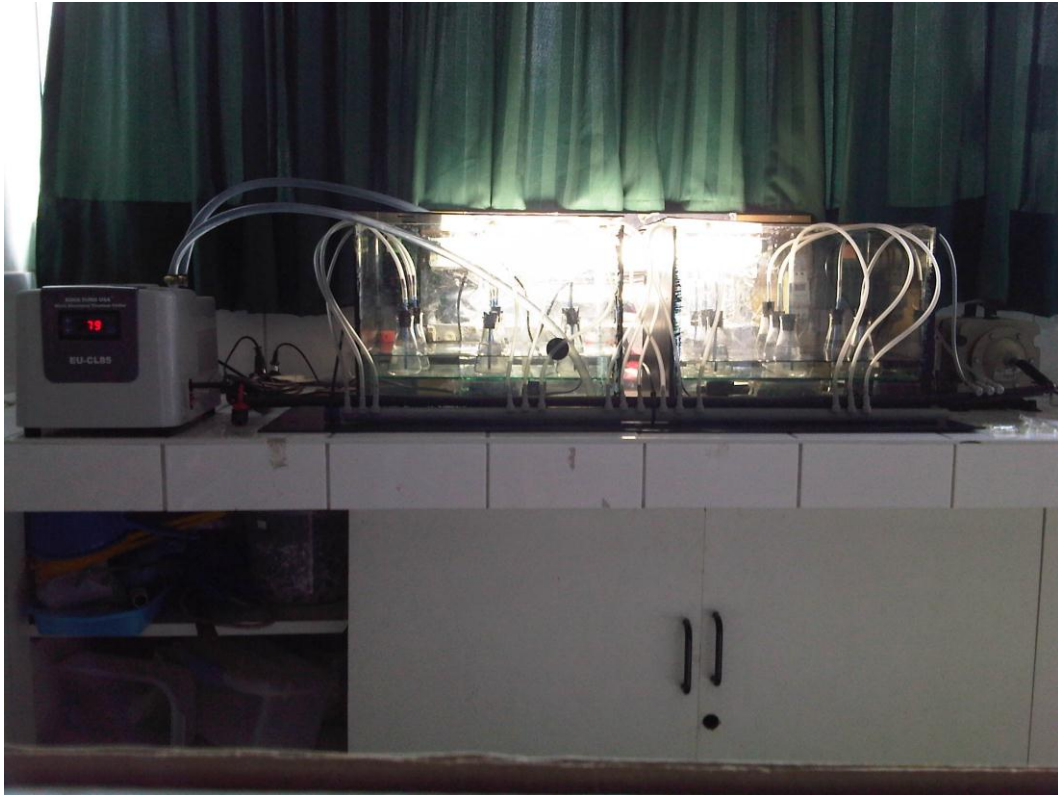


Figura 4: Unidades experimentales en baño maría a 25 y 30 °C.

Diariamente se tomó entre 1 a 3 sub-muestras de 0.5ml (dependiendo de la densidad de los cultivos) a cada unidad experimental y se contaron los rotíferos utilizando un estereoscopio binocular para evaluar su densidad poblacional.

Basándonos en los datos colectados, se calculó la tasa de crecimiento poblacional (r), aplicando la ecuación de crecimiento exponencial (Krebs, 1985; Shin-Hong *et al.*, 2011):

$$r = (\ln N_t - \ln N_0)/t$$

Donde:

N_0 = densidad poblacional inicial

N_t = densidad poblacional después del tiempo t (días)

El valor de r fue obtenido del promedio de los valores tomados durante la fase exponencial de crecimiento poblacional.

3.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se evaluó la distribución normal y la homogeneidad de varianzas usando la prueba de Shapiro-Wilkins y Levene respectivamente.

Para explorar diferencias significativas entre las variables se utilizó un Análisis de Varianza de dos Vías (ANOVA). Para comparar las medias entre los tratamientos de salinidad y temperatura, se utilizó el Test de Tukey y el T-test respectivamente.

4. RESULTADOS

Los resultados del análisis de variancia (ANOVA de dos vías) mostró que hubieron efectos significativos ($P < 0.05$) tanto del factor temperatura como de la salinidad sobre la tasa intrínseca de crecimiento de *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca (tabla 2).

Sin embargo, la interacción de ambos factores (temperatura y salinidad) no presentó un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento, tal como se observa en la tabla 2.

Tabla 2: Resultados del análisis de variancia (ANOVA de dos vías) aplicado a los factores temperatura, salinidad y su interacción.

Fuente	SC	gl	MC	F	Sig.
Tasa de Crecimiento					
Temperatura	0.026	1	0.026	37.701	0.000
Salinidad	0.027	2	0.013	19.288	0.000
Temperatura x Salinidad	0.003	2	0.001	1.911	0.190
Error	0.008	12	0.001		
Total	2.504	18			

SC, suma de cuadrados; gl, grados de libertad; MC, media cuadrática; F, radio - F; Sig., significancia.

Las tasas de crecimiento intrínseco y densidades finales de *Brachionus* sp. "Cayman" cepa Chilca obtenidas bajo los diferentes tratamientos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Estimados ($M \pm DS$) de la Tasa de crecimiento (r) (día^{-1}) y la densidad final (ind.mL^{-1}), obtenidas bajo los diferentes tratamientos (temperatura y salinidad) en el cultivo de *Brachionus* sp. Cayman, cepa Chilca, Perú.

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6
r	0.35 ± 0.002	0.36 ± 0.021	0.27 ± 0.009	0.45 ± 0.014	0.41 ± 0.022	0.35 ± 0.012
D. final	86 ± 1.0	90 ± 9.6	68.3 ± 3.0	117.7 ± 8.5	103.0 ± 12.1	79.3 ± 5.7

En estos resultados se puede notar que la mayor tasa de crecimiento y densidad final se obtuvo en el tratamiento T4, seguido por el tratamiento T5.

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a 25 °C (tratamientos T1, T2 y T3) y a 30 °C (tratamientos T4, T5 y T6), en los cuales a la temperatura más alta se logran las mayores tasas de crecimiento. Esto se verifica con el análisis estadístico de las medias totales por temperatura (tabla 4) y la prueba T de los efectos de la temperatura entre los tratamientos, el cual indica la diferenciación de dos grupos definidos entre los tratamientos a temperaturas diferentes (tabla 5).

Tabla 4: Medias aritméticas de las tasas de crecimiento en función a la temperatura.

	Temperatura	Media	Desviación estándar	Error estándar
Tasa de crecimiento "r"	25° C	0.33	0.046	0.015
	30° C	0.40	0.050	0.016

Tabla 5: Prueba T de los efectos de la temperatura entre los tratamientos.

		Tasa de Crecimiento
		Igualdad de Varianzas Asumida
Prueba de Levene para la Igualdad de Varianzas	F	.102
	Significancia	.754
Prueba T para la Igualdad de Medias	t	-3.330
	Grados de libertad	16
	Significancia (2 Colas)	.004
	Diferencias de Medias	-.07635
	Diferencia del Error Estándar	.02293

Con respecto a la salinidad, las mayores tasas de crecimiento se observan en los tratamientos a 15 y 25 ups, sin haber diferencias estadísticas entre ambas (tabla 6). Los tratamientos a 35 ups muestran las menores tasas de crecimiento.

Tabla 6: Prueba Post Hoc de Tukey, comparando las diferencias en las tasas de crecimiento entre los diferentes tratamientos en relación a la salinidad.

Tasa Intrínseca de Crecimiento				
Tukey HSD				
(I) Salinidad	(J) Salinidad	Diferencia Media (I-J)	Error Estándar	Sig.
15	25	0.0157	.01523	.571
	35	0.0886	.01523	.000
25	15	-0.0157	.01523	.571
	35	0.0729	.01523	.001
35	15	-0.0886	.01523	.000
	25	-0.0729	.01523	.001

Sig., significancia.

Resumiendo, la mayor tasa de crecimiento en el presente estudio se logró a la temperatura de 30 °C y a salinidades de 15 y 25 UPS (tabla 3 y figura 5).

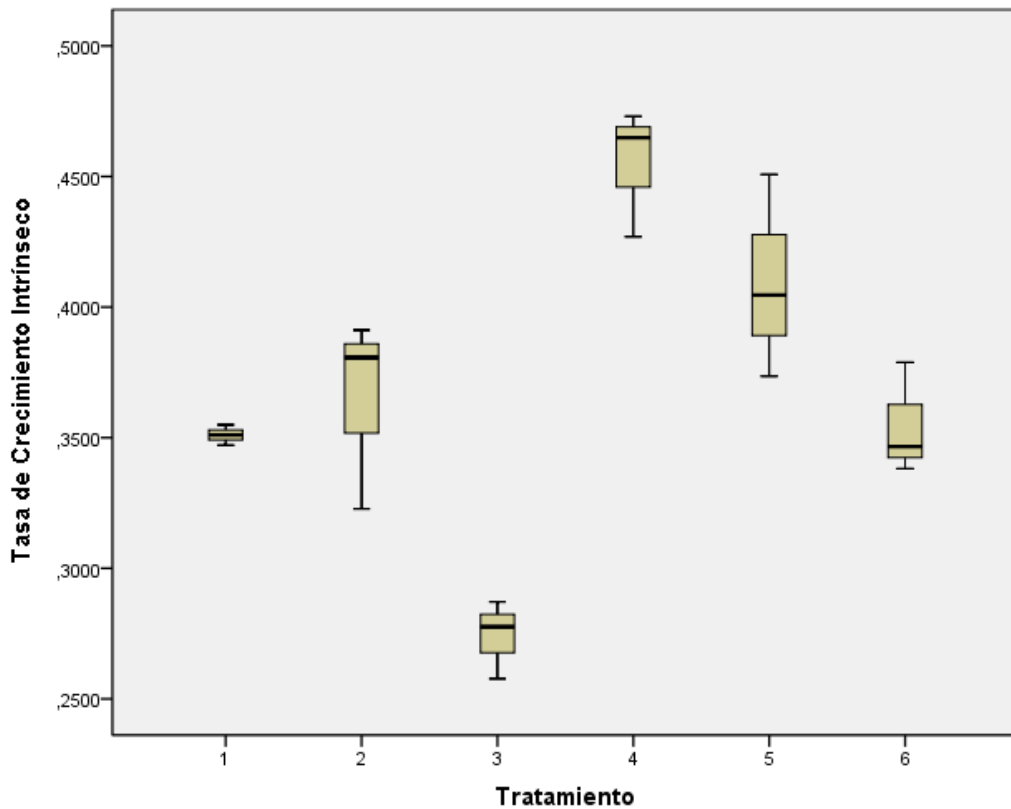


Figura 5: Tasas intrínsecas de crecimiento obtenidas bajo los diferentes tratamientos (temperatura y salinidad) en el cultivo de *Brachionus sp. Cayman*, cepa Chilca, Perú.

En lo referente a la densidad final alcanzada en los diferentes tratamientos, se aprecia la misma tendencia que en la tasa de crecimiento, teniendo la mayor densidad a los 30 °C y a salinidades de 15 y 25 ups (tabla 3 y figura 6).

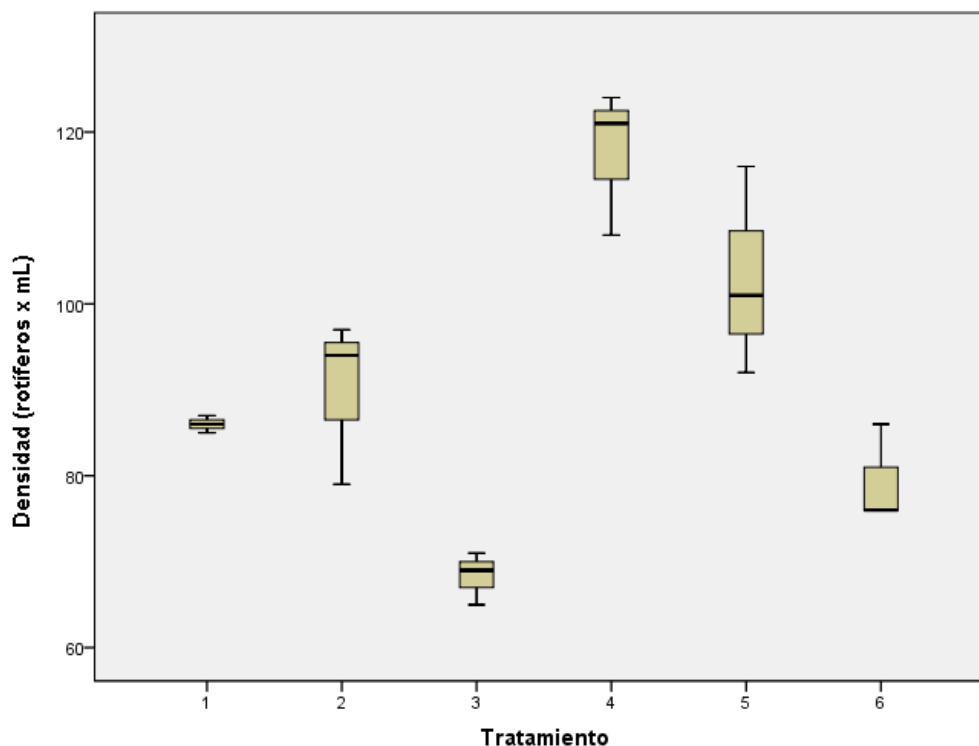


Figura 6: Densidades finales (indiv.mL⁻¹) obtenidas bajo los diferentes tratamientos (temperatura y salinidad) en el cultivo de *Brachionus sp. Cayman*, cepa Chilca, Perú.

Tabla 7: Comparación de las tasas intrínsecas de crecimiento entre especies del complejo *Brachionus plicatilis* en función a la temperatura y la salinidad.

Especie/biotipo	r máx (día-1)	Temperatura y salinidad	Alimento	Referencia
<i>Brachionus sp. Cayman</i> , Perú	0.45 ± 0.01	30 °C y 15 UPS	Selco Sparkle® (INVE, Ghent, Belgium)	Presente trabajo
<i>Brachionus sp. Cayman</i> , Perú	0.38 ± 0.02	25 °C y 35 UPS	<i>Nannochloropsis oculata</i> + Protein Hufa® (Salt Creek Inc., Utah, E.E.U.U)	Cisneros, 2011
<i>Brachionus sp. Cayman</i> , Italia	1.57 ± 0.07	25 °C y 25 UPS	<i>Nannochloropsis oculata</i>	Kostopoulou y Vadstein, 2007
<i>Brachionus plicatilis</i>	0.3	25 °C y 15 UPS	<i>Tetraselmis suecica</i> congelada	Campillo y col., 2011
<i>Brachionus plicatilis s.s.</i>	1.19	30 °C y 15 UPS	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Yin y Zhao, 2008

5. DISCUSIÓN

El efecto individual de la temperatura y la salinidad en los procesos fisiológicos de *Brachionus* explica las diferencias en las tasas de crecimiento entre los tratamientos del presente estudio.

Los resultados obtenidos mostraron que los tratamientos a mayor temperatura experimentaron las mayores tasas de crecimiento. Esto se explica con los siguientes antecedentes:

Al aumentar la temperatura, el desarrollo embrionario y post-embrionario de *Brachionus* se acelera (Galkovskaya, 1987; Herzig, 1983; Yúfera, 1987 y Miracle y Serra, 1989), por ende los individuos del presente estudio, cultivados a la temperatura experimental de 30 °C, pudieron haberse desarrollado más rápido.

Por otro lado, a temperaturas más bajas aumenta el periodo pre-reproductivo (Kauler y Enesco, 2011), originando una posible demora en la reproducción de las poblaciones experimentales cultivadas a 25 °C.

El aumento de la tasa de consumo de oxígeno en *Brachionus plicatilis* al aumentar la temperatura y la salinidad (K. Ho Kang *et al.*, 2010) no tendría un efecto negativo en los tratamientos a mayores temperaturas y salinidades, ya que todos los tratamientos estuvieron bajo una aireación artificial constante que previene el agotamiento del oxígeno en los medios de cultivo.

Al aumentar la salinidad, la tasa de filtración de *Brachionus plicatilis* aumenta (K. Ho Kang *et al.*, 2010). Esto pudo haber disminuido la cantidad de alimento disponible entre comidas para los tratamientos a 35 ups, ocasionando un estrés en estas poblaciones experimentales.

Brachionus plicatilis gasta más energía para regular su medio interno al aumentar la salinidad en vez de utilizarlo en la reproducción (Lowe, 2005). Por ello los cultivos a la salinidad experimental de 35 ups podrían haber tenido un potencial reproductivo menor, teniendo como consecuencia una menor tasa de crecimiento.

Estudios sobre el efecto de la temperatura y la salinidad en diferentes genotipos del complejo *Brachionus plicatilis*, concuerdan parcialmente con el presente estudio:

En Miracle y Serra (1989) y Yin y Zhao (2008), las tasas de crecimiento en todos los tratamientos experimentales aumentan según lo hace la

temperatura, lo cual se observó en los resultados obtenidos.

Al igual que en Campillo *et al.* (2011) se observó que a una mayor temperatura y menor salinidad todas las poblaciones tienen su mayor tasa de crecimiento intrínseco.

Sin embargo, en el presente estudio se obtuvo una temperatura óptima de 30 °C, lo cual difiere de las temperaturas óptimas de 18 a 25 °C y 20 a 25 °C mencionadas para el complejo *B. plicatilis* por Dhert (1996) y Lubzens (2001) respectivamente.

Con respecto a la salinidad, en el presente estudio se obtuvo una salinidad óptima de 15 ó 25 ups, lo cual concuerda parcialmente con la salinidad óptima de 15 ups obtenida por Yin y Zhao (2008).

Por otro lado, en el presente trabajo no se aprecia una interacción de la temperatura con la salinidad. Lo cual puede explicarse debido al genotipo de la cepa y sus adaptaciones. Esto se basa en que el genotipo influye en tal medida que no se puede determinar una salinidad ni temperatura óptima para *B. plicatilis*, al observarse que cada una de las cepas ensayadas tenían una combinación óptima de temperatura y salinidad diferente de las otras (Miracle y Serra 1989).

También puede deberse a la menor cantidad de temperaturas y

salinidades ensayadas. En Yin y Zhao (2008) probaron 8 salinidades y 3 temperaturas.

La menor cantidad de temperaturas y salinidades experimentales se debió al hecho que en el presente estudio se trató de simular las condiciones de cultivo de un centro de producción de larvas. Esto es, utilizando poblaciones de rotíferos en cada una de las unidades experimentales. En cambio en Yin y Zhao (2008) monitorearon a un solo individuo para cada unidad experimental.

Las relativas bajas tasas de crecimiento (0.35 – 0.45) que se observan en este estudio (tabla 7) pueden deberse al genotipo. Otro posible factor es el uso de alimento liofilizado en sustitución al alimento vivo. Ya que en los estudios anteriormente mencionados se utiliza como alimento a microalgas, las cuales tienen la capacidad de seguir reproduciéndose en el medio de cultivo de los rotíferos, ocasionando una mayor prolongación del alimento.

6. CONCLUSIONES

- La temperatura presentó un efecto sobre la tasa de crecimiento de *Brachionus sp.* Cayman cepa Chilca, observándose que a mayor temperatura se incrementó la tasa de crecimiento.
- La salinidad también afecta la tasa de crecimiento de *Brachionus sp.* Cayman cepa Chilca, observándose una relación inversa, es decir, que a una menor salinidad se incrementa la tasa de crecimiento.
- No se observó un efecto de la interacción de los factores temperatura y salinidad sobre la tasa de crecimiento de *Brachionus sp.* Cayman cepa Chilca.
- La temperatura y salinidad óptima encontrada en este trabajo para el cultivo de *Brachionus sp.* Cayman cepa Chilca fueron los 30 °C y 15 ó 25 ups respectivamente.

7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Campillo, S; García-Roger, E.M; Carmona, M.J. y Serra, M. 2011. ***Local adaptation in rotifer populations.*** *Evol. Ecol.* 25: 933 – 947.

Carmona, M.J; Serra M. y Miracle, M.R. 1989. ***Protein patterns in rotifers: the timing of aging.*** *Hydrobiologia* 186/187: 325 – 330.

Círoz-Pérez, J; Gómez A. y 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 rotifero nativo Brachionus sp. "Cayman", utilizando diferentes enriquecedores.*** *Ecología Aplicada* 10(2): 99 – 105.

Denekamp, N.Y; Thorne, M. AS; Clark, M.S; Kube, M; Reinhardt, R. y Lubzens, E. 2009. ***Discovering genes associated with dormancy***

in the monogonont rotifer Brachionus plicatilis. BMC Genomics 10: 108.

Dhert, Ph. 1996. Rotifers: 49-78. *In: Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Technical Paper 361, 295 pp.

FAO. 2009. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2008*. Roma. 196 pp.

FAO. 2010. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010*. Roma. 219 pp.

Galkovskaya, G.A. 1987. *Planktonic rotifers and temperature*. Hydrobiologia 147: 307 – 317.

Gómez, A; Serra, M; Carvalho, G.R. y Lunt, D.H. 2002. *Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of Brachionus plicatilis (Rotifera)*. Evolution 56(7), 1431–1444.

Herzig, A. 1983. *Comparative studies on the relationship between temperature and duration of embryonic development of rotifers*. Hydrobiologia 104: 237 – 246.

Kang, K.H; Seon, S.C; Brzozowska, R. y Lee, J.Y. 2010. ***The effect of environmental factors on filtration and the oxygen consumption rate of the rotifer *Brachionus plicatilis*: a primary exploration of red tide control.*** Oceanological and Hydrobiological Studies 39 (1): 3 – 9.

Kauler, P. y Enesco, H.E. 2011. ***The effect of temperature on life history parameters and cost of reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*.*** J. Freshwater Ecology 26: 399 – 408.

Kostopoulou, V. y Vadstein, O. 2007. ***Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, *B. 'Nevada'* and *B. 'Cayman'* under different food concentrations.*** Aquaculture 273: 449– 458.

Krebs, C. J. 1985. ***Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance, 3rd ed.*** Harper and Row, New York. 800 pp.

Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1996. ***Manual on the production and use of live food for aquaculture.*** FAO Technical Paper 361, 295 pp.

Lowe, C. D; Kemp, S. J; Bates, A. D. y Montagnes, D. J. S. 2005. ***Evidence that the rotifer *Brachionus plicatilis* is not an osmoconformer.*** Marine Biology 146: 923 – 929.

- Lubzens, E.; Tandler, A. y Minkoff, G. 1989. ***Rotifers as food in aquaculture***. Hydrobiologia 186/187: 387 – 400.
- Lubzens, E., Zmora, O. y Barr, Y. 2001. ***Biotechnology and aquaculture of rotifers***. Hydrobiologia, 446/447, 337 – 353.
- Lubzens, E. y Zmora, O. 2007. ***Production and Nutritional Value of Rotifers, in Live Feeds in Marine Aquaculture***. (eds J. G. Støttrup and L. A. McEvoy), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 336 pp.
- Miracle, M.R. y Serra, M. 1989. ***Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics***. Hydrobiologia 186/187: 81 – 102.
- Nogrady, T.; Wallace, R.L. y Snell, T.W.1993. ***Rotifera. Vol. 1. Biology, Ecology and Systematics***. SPB Academic Publishing, The Hague. 142 pp.
- Pascual, E. y Yúfera, M. 1983. ***Crecimiento en cultivo de una cepa de Brachionus plicatilis O.F. Muller en función de la temperatura y la salinidad***. Inv. Pesq. 47 (1): 151 – 159.
- Pontin, R.M. 1978. ***A Key to the Freshwater Planktonic and Semi-planktonic Rotifera of the British Isles***. Freshwater Biological

Association, Scientific Publication No. 38, Cumbria. 178 pp.

Ruttner-Kolisko, A. 1974. ***Planktonic rotifers: biology and taxonomy.***

Die Binnengewässer (Suppl.), 26: 1 – 146.

Romero, L. 2008. ***Caracterización morfométrica y aspectos filogenéticos de cepas de rotíferos del grupo *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae) utilizados en la acuicultura peruana.*** [Tesis de Título] Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 76 pp.

Segers, H. 1995. ***Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae).***

Hydrobiologia 313/314: 121–122.

Shin-Hong, C; Samba, K; Ram, K; Chung-Su, K. y Jiang-Shiou, H. 2011.

Effects of salinity, food level, and the presence of microcrustacean zooplankters on the population dynamics of rotifer *Brachionus rotundiformis*. *Hydrobiologia* 666: 289 - 299.

Suatoni, E; Vicario, S; Rice, S; Snell, T. y Caccone, A. 2006. ***An analysis of species boundaries and biogeographic patterns in a cryptic species complex: the rotifer *Brachionus plicatilis*.*** *Mol.*

Phylogenet. Evol. 41, 86 – 98.

Torrentera, L. y Tacon, A. 1989. ***La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura una diagnosis.*** Documento de campo 12. Programa cooperativo gubernamental. FAO – Italia. 95 pp.

Yúfera, M. 1987. ***Effect of algal diet and temperature on the embryonic development time of the rotifer Brachionus plicatilis in culture.*** Hydrobiologia 147: 319 – 322.

Yin, X. y Zhao, W. 2008. ***Studies on life history characteristics of Brachionus plicatilis O. F. Müller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae.*** Aquat. Ecol. 42(1): 165 - 176.

Wallace, R.L. y Snell.T.W. 1991. ***Rotifera. In: Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*** (Ed. by J.H. Thorpe & A.P. Covich), Academic Press, New York. 187 – 247.