

## Experimentos de cultivo intensivo del rotífero *Brachionus rotundiformis*

### Intensive culture experiments of the rotifer *Brachionus rotundiformis*

Juan Luis Sánchez Téllez y Luis Sergio Alvarez-Lajonchere

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán, Avenida  
Sábalo Cerritos S/N, Mazatlán, Sinaloa, CP 82010, Apartado Postal 711, México,  
Calle 41 No. 886, Nuevo Vedado, Plaza, La Habana, CP 10600, Cuba, E-mail: alajonchere@gmail.com

#### RESUMEN

Se realizó un estudio sobre técnicas intensivas de cultivo por lotes en ciclos de cuatro días de rotíferos chicos, *Brachionus rotundiformis*, para la alimentación de peces marinos, basadas en el uso de alimentos artificiales y oxígeno puro. Los mejores resultados, con densidades de  $1\ 380 \pm 12$  rotíferos/mL se obtuvieron con suministro de oxígeno puro y aire, flujo de agua abierto, uso de fibra sintética tipo esponja para la colecta de materia orgánica, uso de bombas dosificadoras para el suministro continuo del alimento y el uso de Culture Selco Plus® como alimento artificial. Los parámetros ambientales fueron estables y en intervalos aceptables. Los mejores tratamientos presentaron 10-15 ppm de oxígeno disuelto, 8,0-8,5 de pH,  $< 0,2$  ppm de  $\text{NH}_3$ , 0,25-0,45 de tasa de crecimiento, fecundidad  $\geq 0,35$  y porcentajes de hembras con huevos de 20 a 35 %.

**Palabras clave:** *Brachionus rotundiformis*, cultivo por lotes, rotíferos, alimentos artificiales, oxígeno puro.

#### ABSTRACT

An intensive 4-day batch culture study of small rotifers, *Brachionus rotundiformis*, to feed marine fish larvae was carried out, using artificial feeds and pure oxygen. Best results, with densities of  $1\ 380 \pm 12$  rotifers/mL, were obtained with pure oxygen and air supplies, open water flow, sponge type synthetic fiber for organic matter collection, metering pumps for feed supply and Culture Selco Plus® as artificial feed. Environmental parameters were stable and acceptable intervals. Best treatments presented 10-15 ppm dissolved oxygen, 8,0-8,5 pH,  $< 0,2$  ppm  $\text{NH}_3$ , 0,25-0,45 growth rate, fecundity  $\geq 0,35$ , and 20-35 %, percentage of female with eggs 20-35 %.

**Keywords:** *Brachionus rotundiformis*, batch culture, rotifers, artificial feeds, pure oxygen.

## INTRODUCCIÓN

La producción del alimento vivo de calidad, en las cantidades y momentos específicos requeridos, constituye uno de los factores más importantes para la producción de juveniles de peces marinos y la estabilización de dichas tecnologías (Fulk & Main, 1991; Alvarez-Lajonchere & Hernández Molejón, 2001). Hasta el presente, para la cría de larvas de peces marinos es esencial disponer de una producción segura y estable de rotíferos para utilizarlos como primer alimento masivo de las larvas (Lubzens, 1987; Fukusho, 1989; Fulk & Main, 1991; Dhert *et al.*, 2001; Lubzens & Zmora, 2003), por lo cual el desarrollo y aplicación de dichas tecnologías de cultivo es un requisito indispensable que debe garan-

tizarse para los trabajos con peces marinos, sobre todo a escala piloto y comercial (Candrea *et al.*, 1996). En los laboratorios de producción de juveniles de peces marinos tropicales se utilizan los rotíferos chicos "tipo S", *Brachionus rotundiformis*, como fuente de alimento en la primera alimentación larvaria (Su *et al.*, 1994; Leu *et al.*, 2003; Schipp *et al.*, 2007).

Como parte de los trabajos de desarrollo de las tecnologías de producción de juveniles de peces marinos en la planta piloto del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Mazatlán, México, se incluyó la adaptación de tecnologías de producción intensiva de rotíferos (Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2007). Inicialmente se aplicaron técnicas semiintensivas para el cultivo del rotífero *B. rotundiformis* basadas en el uso de microalgas (*Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis*

*oculata* e *Isochrysis* sp.) para alimentar los rotíferos, alcanzando densidades bajas de 100-150 rotíferos/mL y 50 millones/día, hasta 334 rotíferos/mL (Guzmán, 2005), pero suficientes para realizar los primeros trabajos de cría de larvas del botete diana, *Spherooides annulatus* y del pargo flamenco, *Lutjanus guttatus*. Posteriormente se utilizó Culture Selco® 3000 y se obtuvo rendimientos de hasta 300 rotíferos/mL (Guzmán, 2005). Sin embargo, para satisfacer la necesidad media estimada de la planta de 2,500 millones de rotíferos por día según la capacidad de diseño (Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2007), fue necesario realizar la evaluación de sistemas de cultivo intensivo para obtener cosechas masivas de rotíferos con adecuado valor nutricional y costos bajos, para alimentar larvas de peces marinos. Por tales razones, en el presente estudio se describe el desarrollo de un sistema de cultivo intensivo por lotes en ciclos cortos de cuatro días y uso de oxígeno puro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en la planta piloto del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo en Mazatlán, México. En los experimentos se empleó la cepa del rotífero "tipo S", *Brachionus rotundiformis* con una lóricia media de  $180 \pm 50 \mu\text{m}$  mantenida en dicho laboratorio (Velasco-Blanco *et al.*, 2012). Los experimentos se realizaron con tres réplicas por tratamiento y se aplicó el sistema de cultivo por lotes en ciclos de cuatro días.

Antes de la siembra de cada ciclo, los tanques se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio a 500 ppm, después de lo cual se enjuagaron con agua dulce tratada y se administró tiosulfato de sodio (50 mg por cada mililitro de cloro al 6 %) para neutralizarlo.

Los suministros de agua y aire fueron los de la planta piloto y descritos por Alvarez-Lajonchere *et al.* (2007). El oxígeno puro se obtuvo de botellones regulados por medidores de flujo y por líneas de mangueras flexibles de PVC transparentes de hasta 5 mm de diámetro con difusores en el extremo, suspendidos a unos 20 cm del fondo de los tanques.

Los inóculos de rotíferos fueron preparados en una cadena de producción por lotes de *Nannochloropsis oculata* ( $30 \times 10^6$  cél./mL) y otra para el inóculo de los rotíferos, desde tubos de ensayo de 50 mL hasta tanques de columna translúcidas de fibra de vidrio y acrílico de 80 y 700 L en el interior del laboratorio de alimento vivo, con agua de mar tratada y aireación continua. El día previo a la inoculación de los rotíferos en los tanques de producción, se suministró vitamina B-12 (0,002 mg/mL) a tanques que alcanzaron  $\approx 250$  rotíferos/mL, para aumentar la fecundidad.

La concentración de oxígeno disuelto y la temperatura fueron medidos con un oxímetro portátil YSI® 550AT2. La salinidad se midió con un refractómetro SR6. El pH y el  $\text{NH}_3$  se determinaron con un medidor de iones PLUSDIRECT Meter (La Motte) con sus respectivos electrodos. Los parámetros de calidad de agua se determinaron en las mañanas.

Se aplicaron diversos índices y observaciones para evaluar el estado de los cultivos: a) densidad de rotíferos, basada en un conteo diario de rotíferos vivos a base de una muestra integrada de cinco de 100 mL por tanque, de la cual se tomaron tres submuestras de 1 mL con una pipeta despuntada y se contaron en una cámara Sedgwick Rafter con tres gotas de solución Lugol, excepto los de lóricia vacía y transparente (muertos), bajo un microscopio compuesto Olympus CX31; b) tasa de reproducción de los rotíferos (porcentaje de rotíferos con huevos 24 h después de la siembra inicial); c) índice de fecundidad de los rotíferos (número de huevos promedio por hembra); d) tasa de crecimiento específica de la población:

$$K = [\text{Ln}(Nt) - \text{Ln}(No)] / t - 1$$

Donde:

*K*: tasa de crecimiento específico

*Nt*: concentración del cultivo (número de rotíferos/mL)

*No*: concentración inicial (número de rotíferos/mL)

*t*: tiempo en días del cultivo (días)

Los experimentos se realizaron en tanques de fibra de vidrio cilindro-cónicos blanco mate de 100 L de capacidad. Los tanques para cada tratamiento y réplicas se distribuyeron con una tabla de números aleatorios (diseño completamente aleatorizado).

Se realizaron cinco experimentos, cada uno con dos tratamientos (a y b), con tres réplicas por tratamiento. Los experimentos y tratamientos fueron: 1a) con oxígeno puro a razón de 0,3 L/min con un difusor AS10 de Sweetwater® para oxígeno y adicionalmente con suministro de aire a razón de 2 L/min por un difusor AS2 de Sweetwater®; 1b) solo con aire; 2a) sistema para colecta de flóculos de materia orgánica con fibra sintética Scotch Brite™ (Super Lustre S.A. de C.V., México, D.F.), colgadas en la columna de agua, que fueron cambiadas y desinfectadas diariamente; 2b) con filtros de tipo "air-lift" con fibra tipo esponja, que fue cambiada por fibra limpia y desinfectada a diario; se probaron dos tipos de alimento artificial con las tasas de alimentación recomendadas por el fabricante, que fueron distribuidas manualmente tres veces por día: 3a) Culture Selco Plus®; 3b) Culture Selco 3000® (INVE Aquaculture Inc., México); método de suministro de alimento artificial, Culture Selco Plus®: 4a) con bombas dosificadoras de diafragma; 4b) manualmente tres veces por día; 5a) sin flujo de agua; 5b) con flujo de agua abierto (un volumen por día) con un filtro de malla de 40 mm en el drenaje para evitar el escape de los rotíferos.

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SigmaStat 3.5 para Windows (SYSTAT Software, Inc., Point Richmond, CA, EE. UU.). Los resultados se presentan con sus valores medios  $\pm$  la desviación estándar de la media para cada una de las variables determinadas. La homogeneidad de las varianzas y distribución normal de los datos fueron analizados siguiendo los procedimientos estadísticos del paquete. Los datos que cumplieron las pruebas paramétricas se analizaron con la prueba *t* de Student. A los porcentajes se les aplicó una transformación de arcoseno antes de su análisis.

## RESULTADOS

El comportamiento de las réplicas en todos los experimentos fue similar en cada uno de los tratamientos con un intervalo del coeficiente de variación máximo de 5 a 7 %. Las mayores densidades de cosecha se alcanzaron con el suministro de oxígeno puro, flujo de agua abierto, la alimentación continua y el uso de Culture Selco Plus®. Los dos métodos de colecta de materia orgánica en suspensión presentaron densidades de cosecha similares (TABLA 1). La tasa de crecimiento, fecundidad y los porcentajes de

hembras con huevos se correspondieron con las densidades finales alcanzadas (TABLA 1).

Los parámetros de calidad de agua en los diversos tratamientos presentaron variaciones acorde con lo esperado y los mejores valores se correspondieron con los mejores tratamientos. Los niveles de oxígeno disuelto y amonio no ionizado fueron los que presentaron mayores efectos respecto a los tratamientos aplicados; los mayores niveles de oxígeno disuelto fueron los obtenidos con flujo abierto, el suministro de oxígeno puro, con la alimentación continua y uso del Culture Selco Plus®, mientras que los niveles más bajos fueron con el tratamiento en que solo se suministró aire (TABLA 1). Los niveles de amonio no ionizado más bajos fueron los ocurridos con el uso de filtros de fibra y los filtros de esponja, el suministro de oxígeno puro, flujo de agua abierto y uso de Culture Selco Plus® con alimentador. El pH, si bien la tendencia general fue a disminuir durante el transcurso de los experimentos y en cada experimento los niveles finales más altos fueron los del mejor tratamiento (TABLA 1), las variaciones fueron pequeñas. Las salinidades presentaron poca variación ( $23,5 \pm 1,5$  ‰) y las temperaturas se mantuvieron en un intervalo de  $24 \pm 1$  a  $31$  °C.

Tabla 1. Resultados fundamentales de los experimentos a pequeña escala de aplicación de diversos tratamientos para el cultivo del rotífero, *Brachionus rotundiformis*, por métodos intensivos con alimento artificial

Experimento/ tratamiento	Densidad (No./mL)		Oxígeno disuelto (ppm)	NH <sub>3</sub> (ppm)	pH	Tasa de crecim.	Fecundidad <sup>b</sup>	Hembras con huevos <sup>b</sup> (%)
	inicial	final						
1a Con oxígeno	477 $\pm$ 20	1,354 $\pm$ 361 <sup>a</sup>	11-13 <sup>a</sup>	< 0,01 <sup>a</sup>	8,00 $\pm$ 0,37	0,21 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,35 a 0,48 <sup>a</sup>	24 a 35 <sup>a</sup>
1b Sin oxígeno		451 $\pm$ 288	< 5	0,015	8,00 $\pm$ 0,25	0,0-0,12	0,35 a 0,40	24 a 30
2a Filtro de fibra	370 $\pm$ 40	763 $\pm$ 150		0,003 <sup>a</sup>		0,24 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,9 a 0,40 <sup>a</sup>	50 a 35 <sup>a</sup>
			11,3 $\pm$ 3,6		7,95 $\pm$ 0,15			
2b Filtro de esponja		791 $\pm$ 37		0,007		0,21 $\pm$ 0,06	0,4 a 0,10	35 a 10
3a Con alimentador	418 $\pm$ 25	867 $\pm$ 39 <sup>a</sup>	12,7 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	8,25 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	0,18 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	0,25 a 0,20 <sup>a</sup>	25 a 20 <sup>a</sup>
3b Sin alimentador		521 $\pm$ 36	10,0 $\pm$ 1,6	0,38	8,10 $\pm$ 0,2	0,01	0,25 a 0,15	25 a 12
4a Selco Plus®	265 $\pm$ 24	1 082 $\pm$ 89 <sup>a</sup>	12,5 $\pm$ 2,8	0,1 <sup>a</sup>	8,25 $\pm$ 1,5	0,39 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,25 a 0,40 <sup>a</sup>	25 a 35 <sup>a</sup>
4b Selco 3000®		930 $\pm$ 42	12,1 $\pm$ 2,4	$\leq$ 0,2	8,40 $\pm$ 1,0	0,36 $\pm$ 0,02	0,25 a 0,30	25 a 28
5a Con flujo	251 $\pm$ 43	1 380 $\pm$ 12 <sup>a</sup>	15,0 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	8,10 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,43 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,42 a 0,55 <sup>a</sup>	32 a 35 <sup>a</sup>
5b Sin flujo		1 067 $\pm$ 10	12,1 $\pm$ 1,5	0,18	8,60 $\pm$ 0,3	0,30 $\pm$ 0,05	0,42 a 0,35	32 a 25

<sup>a</sup> Diferencia significativa ante una prueba *t* de "Student" ( $p < 0,05$ ); <sup>b</sup> Valores iniciales y finales.

## DISCUSIÓN

Los rotíferos se utilizan universalmente como primer alimento de las larvas de peces marinos (Fukusho, 1989) y sin ellos usualmente es inconcebible la producción semiintensiva o intensiva de juveniles de peces marinos.

La mayoría de las larvas de peces marinos tropicales requieren un primer alimento pequeño, de acuerdo con las pequeñas aberturas de sus bocas (Alvarez-Lajonchere & Hernández Molejón, 2001), por lo cual es importante utilizar una especie y cepa pequeña de rotíferos.

Además del tamaño, la selección debe basarse en las características para su cultivo (Fu *et al.*, 1997), así

como el grado de disminución de la fecundidad a diversos factores ambientales estresantes (Araujo & Hagiwara, 2005), que es un índice de su potencial.

Es posible que la especie utilizada en el presente estudio haya sido correctamente *Brachionus ibericus*, acorde con el reporte de Hagiwara *et al.* (2007); sin embargo, Suatoni *et al.* (2006) confirmaron la necesidad de estudios más profundos por la posibilidad de existencia de 7-14 o más especies diferentes entre los rotíferos del complejo críptico de especies *B. plicatilis*. Por lo anterior, hemos adoptado la posición de utilizar el nombre que en los últimos años se ha asociado a los rotíferos chicos tipo *S*, *Brachionus rotundiformis* hasta tanto no haya un mayor esclarecimiento.

En cuanto al método de cultivo por lotes y las técnicas empleadas, son aplicadas como sistemas ya tradicionales para la producción de rotíferos en centros de producción de juveniles de peces marinos (Bentley *et al.*, 2008); no obstante, hay muchas instalaciones en que se utilizan microalgas concentradas como alimento (Fu *et al.*, 1997; Yoshimura *et al.*, 2003; Schipp *et al.*, 2007; Bentley *et al.*, 2008) con buenos resultados por la composición química de estas y el ahorro de instalaciones y fuerza laboral.

Se empleó una salinidad adecuada y el intervalo de la temperatura ambiente fue ligeramente más amplio que el recomendado (Fukusho, 1989). Los niveles de oxígeno disuelto, pH y de amonio fueron satisfactorios (Alvarez-Lajonchere & Hernández Molejón, 2001).

En los cultivos intensivos de rotíferos los niveles de oxígeno disuelto son muy importantes y requieren niveles de 10-15 mg/L para alcanzar altas densidades (Candrea *et al.*, 1996; Yoshimura *et al.*, 2003), condición cumplida en el presente trabajo. Los niveles altos de oxígeno mantienen bajo al amonio, materia orgánica y bacterias (Alvarez-Lajonchère & Hernández Molejón, 2001; Huguenin & Colt, 2002; Suantika *et al.*, 2003).

Mantener bajas las concentraciones de amonio no ionizado es de gran importancia por sus efectos tóxicos para los rotíferos. Se han aplicado diversos métodos para lograr ese objetivo, como el mantener el pH en 7,0 con adición automática de ácido clorhídrico y el uso de sistemas de ultrafiltración (Yoshimura *et al.*, 2003), o el empleo de diversos sistemas de recirculación con diversos componentes integrados para tal fin (biofiltros, fraccionadores de espuma, suministro de ozono, etc.) (Suantika *et al.*, 2000, 2003; Bentley *et al.*, 2008). Más recientemente se ha utilizado el sulfonato de hidroximetano sódico para neutralizar el amonio no ionizado (Riche *et al.*, 2006; Bentley *et al.*, 2008).

En el presente trabajo, las concentraciones de amonio no ionizado fueron varias veces menores a las consideradas como aceptables por Lubzens & Zmora (2003); Stottrup & McEvoy (2003) y ligeramente inferiores a las recomendadas por Yoshimura *et al.* (2003). En estas

condiciones influyó el alto nivel de oxígeno disuelto, el sistema de colecta de materia orgánica en el cultivo e incluso el uso de las bombas dosificadoras para el suministro del alimento, pues, además de mantener una densidad adecuada de alimento en el agua, evitó introducir grandes cantidades del mismo si el suministro hubiese sido en tres o cuatro ocasiones en el día, como era usual, por lo que es el método de distribución adoptado por las tecnologías intensivas recientes (Suantika *et al.*, 2000, 2003; Bentley *et al.*, 2008).

Estas condiciones de calidad de agua adecuadas se reflejaron en índices satisfactorios del estado del cultivo, como la fecundidad y porcentaje de hembras con huevos (Tamaru *et al.*, 1993) y a juzgar por las reportadas con los buenos resultados de cultivo intensivo continuo (Suantika *et al.*, 2003); sin embargo, las tasas de crecimiento detectadas fueron relativamente bajas (< 0,30) en algunos tratamientos y medios en otros (0,30-0,45), comparados con los mejores resultados de cultivos continuos (Suantika *et al.*, 2003).

Las mayores densidades de  $1\ 380 \pm 12$  rotíferos/mL fueron obtenidas con suministro de oxígeno y aire, alimentación continua con Selco Plus®, flujo de agua y filtros de esponja. Estas densidades logradas con el sistema de cultivo por lotes fueron varias veces superiores a las logradas anteriormente en el laboratorio del CIAD Mazatlán (Guzmán, 2005) y centradas en el intervalo comúnmente reportado en tanques de 500-1 000 L en centros comerciales de producción de juveniles de peces marinos (Moretti *et al.*, 1999; Dhert *et al.*, 2001; Schipp *et al.*, 2007).

Se pueden considerar diversas modificaciones a los tratamientos aplicados que deben mejorar los rendimientos y la eficiencia: a) mantener el pH en 7,0 con la adición automática de una solución de ácido clorhídrico para evitar que una proporción importante del amonio se encuentre en la forma no ionizada; b) aumentar el flujo de agua limpia en los tanques de cultivo de rotíferos, tomando en cuenta los buenos resultados con sistemas continuos (Schipp *et al.*, 2007) y los flujos de varios volúmenes diarios en sistemas de recirculación (Suantika *et al.*, 2000, 2003); c) disminuir la salinidad del medio de cultivo a 20 ‰, de acuerdo con la salinidad óptima para crecimiento poblacional de la cepa de rotífero a utilizar, pues típicamente las especies y cepas pequeñas tienen intervalos óptimos entre 10 y 20 ‰ (Su *et al.*, 1994); d) asegurar la temperatura del cultivo a no menos de 30 °C para que se ajuste mejor al intervalo adecuado para la cepa de rotífero a utilizar, ya que son las óptimas para las especies y cepas de rotíferos pequeñas (Fukusho, 1989; Su *et al.*, 1994; Hagiwara *et al.*, 2007); e) incrementar la densidad de siembra de rotíferos; f) probar otros alimentos artificiales disponibles comercialmente, tal como el Ori-culture de Skretting, con buenos resultados preliminares con la cepa del CIAD (Sánchez, 2008).

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (ICMyL de la UNAM), Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) y la Dirección del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), por el apoyo recibido para la realización del presente trabajo. Los autores desean expresar su agradecimiento a los integrantes del Laboratorio de Reproducción del CIAD, por su colaboración.

## REFERENCIAS

- Alvarez-Lajonchere, L. & Hernández-Molejón, O. G. (2001). *Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías*. Baton Rouge, LA: The World Aquaculture Society.
- Alvarez-Lajonchere, L. Reina-Cañez, M. A., Camacho-Hernández, M. A. & Kraul, S. (2007). Design of a pilot-scale tropical marine finfish hatchery for a research center at Mazatlán, Mexico. *Aquacultural Engineering*, *36*, 81-96.
- Aquatic Eco-system Inc. (2012). Master catalog. Florida: Aquatic Eco-system Inc.
- Araujo, A. B. de & Hagiwara, A. (2005). Screening methods for improving rotifer culture quality. *Hydrobiologia*, *546*, 553-558.
- Bentley, C. D., Carroll, P. M., Watanabe, W. O. & Riedel, A. M. (2008). Intensive rotifer production in a pilot-scale continuous culture recirculating system using nonviable microalgae and an ammonia neutralizer. *Journal of the World Aquaculture Society*, *39*, 625-635.
- Candrea, P., Dhert, P., Novelli, A. & Brissi, D. (1996). Potential gains through alimentation/nutrition improvements in the hatchery. En B. Chatain, M. Sargolia, J. Sweetman & P. Sorgeloos (Eds.), *Seabass and Seabream Culture: Problems and Prospects, an International Workshop* (pp. 149-159). Verona, Italia, October 16-18, 1996.
- Dhert, P., Rombaut, G., Suantika, G. & Sorgeloos, P. (2001). Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, *23*, 129-146.
- Fu, Y., Hada, A., Yomashita, T., Yoshida, Y. & Hino, A. (1997). Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, *358*, 141-151.
- Fukusho, K. (1989). Biology and mass production of the rotifer, *Brachionus plicatilis* (2). *International Journal of Aquaculture and Fisheries Technology*, *1*, 292-299.
- Fulks, W. & Main, K. L. (1991). Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a U.S.-Asia Workshop, Honolulu, Hawaii, January 28-31, 1991. Redmond, Argent Chemical Laboratories.
- Guzmán, R. (2005). Cultivo Experimental del Rotífero *Brachionus rotundiformis* Alimentados con una Dieta Comercial. Tesis en opción al título de Biólogo Acuicultor. Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. Manuscrito no publicado, Mazatlán.
- 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.
- Huguenin, J. E. & Colt, J. (2002). *Design and Operating Guide for Aquaculture Seawater Systems* (2ª ed.). Amsterdam: Elsevier.
- Leu, M.-Y., Chen, I.-H. & Fang, L.-S. (2003). Natural spawning and rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*, larvae in captivity. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, *55*, 22-30.
- Lubzens, E. (1987). Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, *147*, 245-255.