

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIFERENTES DIETAS CON LA
ESTABILIZACIÓN DEL pH PARA INCREMENTAR LA DENSIDAD
POBLACIONAL EN EL CULTIVO DEL ROTÍFERO MARINO *Brachionus*
*Plicatilis***

**ELIANA MARCELA SANTACRUZ ORDOÑEZ
MAURICIO ALFONSO CASANOVA VALLEJO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO-COLOMBIA
2017**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIFERENTES DIETAS CON LA
ESTABILIZACIÓN DEL pH PARA INCREMENTAR LA DENSIDAD
POBLACIONAL EN EL CULTIVO DEL ROTÍFERO MARINO *Brachionus*
*Plicatilis***

**ELIANA MARCELA SANTACRUZ ORDOÑEZ
MAURICIO ALFONSO CASANOVA VALLEJO**

**Informe final de trabajo de Grado presentado como requisito parcial para
optar al título de Ingeniero en Producción Acuícola**

**Director
GUSTAVO TORRES VALENCIA
Profesional en Acuicultura**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO-COLOMBIA
2017**

“Las ideas y conclusiones aportadas en esta tesis de grado son responsabilidad exclusiva de su autor”.

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de octubre de 1966, emanado del Honorable consejo directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

GUSTAVO TORRES VALENCIA
Director

ARIEL EMIRO GÓMEZ CERÓN
Jurado delegado

GLORIA LUCIA CÁRDENAS CALVACHI
Jurado

San Juan de Pasto, Junio del 2017.

AGRADECIMIENTOS

GUSTAVO VALENCIA	ADOLFO TORRES	Profesional en Acuicultura presidente de esta investigación y profesor adjunto al programa de Ingeniería en Producción Acuícola.
HAROLD GUTIÉRREZ	JULIÁN PÉREZ	Zoot, MSc Coordinador de la Estación Acuícola de Bahía Málaga.
WILMER RENÉ SANGUINO ORTIZ		Ingeniero en Producción Acuícola. Director Departamento de Recursos Hidrobiológicos.
MARCO FIGUEROA	ANTONIO IMUÉS	Asesor de trabajos de grado. Profesor Universidad de Nariño.
ARIEL EMIRO GÓMEZ CERÓN		Biólogo, Esp. Profesor del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.
GLORIA CALVACHI	LUCÍA CÁRDENAS	Ingeniera química, M.sc., Ingeniería Ambiental, Docente hora catedra de la Universidad de Nariño Jurado
LUÍS PORTILLA	ALFONSO SOLARTE	Zootecnista. Esp. Secretario Académico de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.
PIEDAD MEJÍA SANTACRUZ		Secretaria del Departamento de Recursos Hidrobiológicos de la Universidad de Nariño

ÓSCAR MEJÍA SANTACRUZ

Economista.
Auxiliar biblioteca General Luís
Santander.

A los demás profesores y funcionarios de la Universidad de Nariño.
Especial agradecimiento a los operarios de la Estación Acuícola Bahía Málaga y a todas las personas que de una u otra forma contribuyeron al desarrollo exitoso de este proyecto.

DEDICATORIA

Dedicado a:

Dios por guiar cada momento de mi vida y permitirme llegar hasta este punto y por darme salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor, siendo mi fortaleza para superar mis dificultades.

A mis padres ÁLVARO SANTACRUZ y MARITZA ORDOÑEZ quienes son las personas que más quiero en la vida, gracias por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi hermana NAZIRA SANTACRUZ quien ha sido mi amiga, mi confidente, mi apoyo en los momentos más difíciles y sobre todo un ejemplo a seguir.

A mi hijo JUAN SEBASTIÁN ENRÍQUEZ la personita más importante de mi vida por ser el motivo por el que lucho día a día.

A mis amigos y compañeros con quienes compartí anécdotas, vivencias y muchos momentos agradables durante el periodo de estudios de mi carrera.

ELIANA MARCELA SANTACRUZ ORDOÑEZ

DEDICATORIA

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mis hermanos y hermanas por su apoyo incondicional que siempre me brindaron día a día durante el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

Gracias también a mis compañeros, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida y convivir dentro del salón de clase.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

MAURICIO ALFONSO CASANOVA VALLEJO

RESUMEN

La producción de rotíferos es de gran importancia para la alimentación inicial de larvas de peces marinos; puesto que cumplen con los requisitos como presa, necesarios para las larvas de boca pequeña y alto requerimiento nutricional. En este sentido, una buena disponibilidad de rotíferos es crucial para la larvicultura, prefiriéndose los cultivos de rotíferos a altas densidades, debido a que esta garantiza la biomasa necesaria en sistemas de producción a escala piloto y comercial. Dentro de los aspectos que más afectan el cultivo de los rotíferos, y que limitan el crecimiento poblacional a altas densidades, se destacan la dieta utilizada y la producción de amonio en dicho procedimiento.

Debido a lo anteriormente mencionado se planteó un experimento utilizando el rotífero *Brachionus plicatilis*, en el cual se evaluó el efecto de la alimentación de rotíferos con diferentes dietas y la interacción del pH sobre el crecimiento poblacional, tasa de crecimiento simple y fertilidad. Se realizaron seis tratamientos con tres réplicas por tratamiento utilizando recipientes de vidrio de tres litros de capacidad, a una temperatura promedio de $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,35^{\circ}\text{C}$ salinidad de $26,4 \pm 0,99$ ppt, una densidad inicial promedio de 200 rotíferos/ml con aireación constante y fotoperiodo natural. Se encontró que durante el periodo de estudio las dietas probadas resultaron adecuadas para alimentar el cultivo de *B. plicatilis*.

Los mejores resultados, con densidades de $1471 \pm 72,4$ rotíferos/ml se obtuvieron con **T6** en el que se suministró *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura con ajuste de pH seguida de **T2** *T. suecica* floculada con ajuste de pH ($869 \pm 65,4$ rot/ml), **T5** *T. suecica* + Protein plus + levadura, ($855 \pm 65,4$ rot/ml), **T1** *T. suecica* floculada ($612 \pm 65,4$ rot/ml), **T4** Protein plus + levadura, con control de pH. ($574 \pm 34,2$ rot/ml) y **T3** Protein plus + levadura, sin control de pH ($423 \pm 17,1$ rot/ml) con tasas de crecimiento, **T6** $0,019 \pm 0,00048$, **T2** $0,014 \pm 0,00039$, **T5** $0,014 \pm 0,001$, **T1** $0,010 \pm 0,00019$, **T4** $0,0098 \pm 0,0006$ y **T3** $0,0061 \pm 0,0003$ respectivamente estadísticamente diferentes ($P > 0,05$). En cuanto a la fertilidad los valores más bajos se registraron con Protein plus+ levadura, tanto para el tratamiento sin ajuste de pH como para el tratamiento con ajuste de pH ($0,15 \pm 0,059$ y $0,17 \pm 0,069$ para T3 y T4), y *T. suecica* Floculada ($0,3 \pm 0,07$) los cuales no presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) mientras que el valor promedio significativamente mayor se obtuvo cuando se suministró *T. suecica* Floculada + Protein plus+ levadura sin ajuste y con ajuste de pH ($0,3 \pm 0,15$ y $0,39 \pm 0,16$ T5 y T6) estadísticamente diferentes ($P > 0,05$).

Con este trabajo se mejoró los protocolos de producción intensiva de rotíferos, los cuales repercutirán en una producción de alimento vivo más estable y confiable para la larvicultura de peces marinos.

ABSTRACT

The production of rotifers is very important for the initial feeding of marine fish larvae, since they meet the requirements as prey, necessary for larvae of small mouth and high nutritional requirement. In this sense, a good availability of rotifers is crucial for larviculture, with rotifers being preferred at high densities, because it guarantees the necessary biomass in pilot and commercial production systems. Among the aspects that most affect the cultivation of rotifers, which limit population growth at high densities, the diet used in this procedure and ammonium production are highlighted.

Due to the above mentioned, an experiment was carried out using the rotifer *Brachionus plicatilis*, in which the effect of feeding rotifers with different diets and the interaction of pH on population growth, simple growth rate and fertility were evaluated. Six treatments were carried out with three replicates per treatment using three-liter glass containers, at an average temperature of $26^{\circ}\text{C} \pm 1,35^{\circ}\text{C}$, salinity of 26.4 ± 0.99 ppt, an initial average density of 200 rotifers/ml with constant aeration and natural photoperiod. It was found that during the study period the tested diets were adequate to feed the *B. plicatilis* culture.

The best results, with densities of 1471 ± 72.4 rotifers/ml were obtained with **T6** in which *T. flocculata suecica* + Protein plus + yeast was added with pH adjustment followed by **T2** *T. flocculata suecica* with pH adjustment (869 ± 65.4 rot/ml), **T5** *T. suecica* + Protein plus + yeast, (855 ± 65.4 rot/ml), **T1** *T.* (612 ± 65.4 rot/ml), **T4** Protein plus + yeast, with pH control. (574 ± 34.2 rot/ml) and **T3** Protein plus + yeast, without pH control (423 ± 17.1 rot/ml) with growth rates, **T6** $0,019 \pm 0,00048$, **T2** $0,014 \pm 0,00039$, **T5** $0,014 \pm 0,001$, **T1** $0,010 \pm 0,00019$, **T4** $0,0098 \pm 0,0006$ y **T3** $0,0061 \pm 0,0003$ respectively statistically different ($P > 0.05$). As regards fertility, the lowest values were recorded with Protein plus + yeast, both for the treatment without pH adjustment and for treatment with pH adjustment (0.15 ± 0.059 and 0.17 ± 0.069 for T3 and T4), and *T. flocculata suecica* (0.3 ± 0.07), which did not present statistical differences ($P < 0.05$), while the significantly higher average value was obtained when *T. flocculata suecica* + Protein plus + yeast was supplied without adjustment and with adjustment of pH (0.3 ± 0.15 and 0.39 ± 0.16 T5 and T6) statistically different ($P > 0.05$).

With this work the protocols of intensive production of rotifers were improved, which will affect a more stable and reliable production of live food for marine fish larviculture.

CONTENIDO

	pag
RESUMEN.....	165
INTRODUCCIÓN.....	167
1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	19
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
1.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3. MARCO TEÓRICO.....	23
3.2 BIOLOGÍA DE ROTÍFEROS.....	23
3.2.1 Taxonomía del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i>	25
3.3 REPRODUCCIÓN DE ROTÍFEROS.....	25
3.4 CULTIVO DE ROTÍFEROS.....	27
3.4.1 Factores que intervienen en el cultivo y su influencia.....	27
3.4.2 Importancia del cultivo de <i>Brachionus plicatilis</i>	29
3.4.3 Sistemas de cultivo para rotíferos.....	29
3.4.4 Alimentación de rotíferos.....	30
3.4.5 Cosecha de rotíferos.....	31
3.4.6 pH.....	32
3.4.7 Costos del cultivo de rotíferos.....	32
4. DISEÑO METODOLÓGICO.....	34
4.1. LOCALIZACIÓN.....	34

	pag
4.2 INSTALACIONES, EQUIPOS, MATERIALES E INSUMOS	34
4.2.1 Instalaciones	34
4.2.2. Equipos.	35
4.2.4. Insumos: se emplearan los siguientes insumos:.....	35
4.3. PLAN DE MANEJO.....	35
4.3.1. Recolección de datos.....	35
4.3.2. Obtención de agua marina.....	35
4.3.3. Material biológico.	35
4.3.4. Adecuación de instalaciones:.....	35
4.3.5. Producción de alimento vivo:	36
4.3.5.1. Microalgas.....	36
4.3.5.2. Producción de rotíferos	37
4.3.5.3. Floculación de la microalga.....	38
4.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIFERENTES DIETAS CON LA ESTABILIZACIÓN DEL pH.....	39
4.4.1. Monitoreo de rotíferos.	42
4.4.2. Monitoreo de parámetros fisicoquímicos.....	42
4.4.3. Ajuste de pH.	43
4.4.4. Alimentación.	43
4.5. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	44
4.5.1. Tratamientos.	44
4.5.2. Variables evaluadas.....	45
4.5.2.1. Tasa de crecimiento simple	45

	pag
4.5.2.2. Índice de fertilidad.....	45
4.5.2.3. Análisis parcial de costos.....	45
5. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	46
5.1. CRECIMIENTO POBLACIONAL.....	46
5.2. TASA DE CRECIMIENTO SIMPLE	47
5.3. FERTILIDAD.....	48
5.4. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS.....	49
5.4.1. Temperatura.....	49
5.4.2. Salinidad.....	50
5.4.3. pH.....	50
6. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	54
6.1. CRECIMIENTO POBLACIONAL.....	54
6.2. TASA DE CRECIMIENTO SIMPLE	57
6.3. FERTILIDAD.....	58
6.4. PH.....	58
6.3. ANÁLISIS PARCIAL DE COSTOS	58
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	642
BIBLIOGRAFÍA.....	64
ANEXOS.....	70

LISTA DE FIGURAS

	pag
Figura 1. Esquema de la anatomía externa e interna de un rotífero.	24
Figura 2. Ciclo reproductivo de los rotíferos.	26
Figura 3. <i>B. Plicatilis</i>	27
Figura 4. Mapa ubicación de la estación acuícola Bahía Málaga Buenaventura (Valle).	34
Figura 5. Adecuación de laboratorios e instalaciones de la estación acuícola Bahía Málaga utilizadas en el desarrollo de la investigación.	36
Figura 6. Cultivo de microalgas en los laboratorios en la estación acuícola Bahía Málaga.	37
Figura 7. Cultivo de rotíferos para el mantenimiento de cepas en los laboratorios en la estación acuícola Bahía Málaga.	37
Figura 8. Cultivo de rotíferos exteriores en la estación acuícola Bahía Málaga.	38
Figura 9. Cultivo masivo de microalgas exteriores utilizado para la floculación del alga <i>Tetraselmis suecica</i>	39
Figura 10. Concentrado de microalgas resultado de la floculación.	39
Figura 11. Lectura para el conteo de rotíferos en la cámara de Sedgewick Rafter	40
Figura 12. Tratamientos evaluados en el experimento.	41
Figura 13. Monitoreo y conteo del cultivo de rotíferos.	42
Figura 14. Monitoreo y ajuste de pH.	43
Figura 15. Variación del Crecimiento poblacional en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH.	47
Figura 16. Valores promedio del coeficiente tasa de crecimiento simple para el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH.	48

Figura 17. Variación del comportamiento de la fertilidad durante el periodo de estudio en el cultivo del rotífero (<i>B. plicatilis</i>) alimentado con diferentes dietas y ajuste del pH.....	49
Figura 18. Variaciones en el comportamiento del pH durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.....	50
Figura 19. Relación entre Costos parciales de la producción de un millón de rotíferos y la densidad poblacional en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.....	52
Figura 20. Variaciones en el costos de producción utilizando los diferentes tratamientos evaluados en esta investigación durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>).....	53

LISTA DE CUADROS

	pag
Cuadro 1. Clasificación taxonómica para rotíferos del género <i>Brachionus</i>	25
Cuadro 2. Parámetros de cultivo de rotíferos del género <i>Brachionus</i>	28
Cuadro 3. Factores y niveles de los tratamientos.	44
Cuadro 4. Costos parciales de la producción de un millón de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) utilizando los diferentes tratamientos.	51

ANEXOS

	pag
Anexo A. Resultados promedio de las densidades poblacionales del cultivo de rotíferos <i>B. plicatilis</i> durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH.....	70
Anexo B. Tasa de crecimiento simple del cultivo de rotíferos <i>B. plicatilis</i> durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH	70
Anexo C. Resultados del comportamiento de la fertilidad del rotíferos <i>B. plicatilis</i> durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH	70
Anexo D. Variaciones en el comportamiento de la temperatura durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.....	72
Anexo E. Variaciones en el comportamiento de la salinidad durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.....	73
Anexo F. Variaciones en el comportamiento del pH durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.....	74
Anexo G. Costos variables en cultivos a gran escala de rotíferos (<i>B. plicatilis</i>) utilizando los diferentes tratamientos realizados en el estudio.	75
Anexo H. Resultados promedio de las densidades poblacionales del cultivo de rotíferos <i>B. plicatilis</i> durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas para cada una de las unidades experimentales.	76
Anexo I Pruebas estadísticas para la variable Tasa de crecimiento simple.....	77
Anexo J Pruebas estadísticas para la variable Fertilidad.....	83
Anexo K. Pruebas estadísticas para la variable Temperatura	89
Anexo L. Pruebas estadísticas para la variable Salinidad	95

GLOSARIO

ROTÍFERO: proviene del latín rota (rueda) y ferre (llevar) en referencia a su aparato succionador; organismos zooplanctónicos de fácil producción e importantes en la primera alimentación de larvas de peces.

ALIMENTO VIVO: grupo de organismos que componen el plancton (fitoplancton y zooplancton), el cual constituye la unidad básica de producción del material orgánico en los ecosistemas acuáticos

Brachionus plicatilis: es un rotífero eurihalino (tolera una amplia gama de salinidad) en la Familia Brachionidae, y es posiblemente el único rotífero comercialmente importante, siendo cultivado en la industria acuícola como alimento para larvas de peces.

MICROALGAS: las microalgas son microorganismos fotoautótrofos, por tanto, capaces de transformar la luz solar en energía química mediante la fotosíntesis oxigénica y además capaces de asimilar carbono en forma de dióxido de carbono.

pH: es una unidad de medida que sirve para establecer el nivel de acidez o alcalinidad de una sustancia. Se expresa como el logaritmo negativo de base de 10 en la actividad de iones de hidrógeno.

DIETA: cantidad de alimento que se le proporciona a un organismo en un periodo determinado de tiempo, sin importar si cubre o no sus necesidades de nutrición.

FLOCULACIÓN: es un proceso químico mediante el cual, con la adición de sustancias denominadas floculantes, se aglutinan las sustancias coloidales presentes en el agua, facilitando de esta forma su decantación y posterior filtrado.

INTRODUCCIÓN

Para Pascual, E. y Yúfera, M. “Las larvas de peces marinos son, habitualmente, organismos muy delicados cuya supervivencia depende de una adecuada combinación de numerosos factores, entre los que la alimentación suele ser el más limitante en condiciones naturales”¹.

Bajo este contexto, el rotífero, es ahora un alimento indispensable para la producción de larvas de peces en todo el mundo, su disponibilidad en grandes cantidades como alimento vivo ha contribuido a una producción exitosa de más de 60 especies de peces marinos y 18 especies de crustáceos. Kinne, Theilacker y Dorsey² afirman que las bajas habilidades de caza de las larvas de peces que recién nacen de los huevos, requieren que los rotíferos estén disponibles a densidades relativamente altas para asegurar un número adecuado de encuentros exitosos con las larvas

De esta forma Según Støttrup y McEVOY³ y Dhont⁴, los rotíferos del género *Brachionus* constituyen el alimento vivo de suma importancia para la primera alimentación larvaria de muchas especies marinas de interés acuícola, debido al tamaño, velocidad de natación y capacidad para permanecer suspendido en la columna de agua; razones por las que han sido ampliamente estudiados por su importancia para el escalonamiento acuícola comercial.

Sin embargo, el principal desafío para los científicos ha sido desarrollar una técnica de producción de rotíferos estable, sostenible, favorable al medio ambiente y de alta densidad; con el fin de satisfacer la demanda, aumentar el suministro de rotíferos, alimentar un mayor número de larvas de peces y reducir el uso de espacio para el cultivo de alimentos vivos. En este mismo orden los principales factores de inhibición o limitación para el crecimiento y la propagación de rotíferos de alta densidad son principalmente la falta de concentración de alimento, la escasez de oxígeno disuelto y la toxicidad del amoníaco no disociado acumulado en el medio de cultivo.

¹ PASCUAL, E. y YÚFERA, M. Alimentación en el cultivo larvario de peces marinos. (En línea).1987 (Citado 03, Junio, 2017). Disponible en: http://digital.csic.es/bitstream/10261/47151/1/Pascual_y_Yufer_a_1987.pdf

² KINNE O Cultivation of animals, THEILACKER GH, DORSEY K Larval fish diversity, Citados por YOSHIMATSU, T., & HOSSAIN, M. Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. *Aquaculture International*, 22(5), 2014. p.1587-1603.

³ STØTTRUP, J. and McEVOY, L. *Live feeds in marine aquaculture*. Vol. 1st ed. Oxford, Oxford: John Wiley & Sons.: UK: Blackwell Science, 2008.p.37.

⁴ DHONT, J. D. Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In G. Allen (Ed.). En *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Cambridge: Woodhead Publishing. Series in Food Science, Technology and Nutrition; No. 242. 2013. p. 690

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, la alimentación con microalgas constituye, en cualquier instalación acuícola que pretenda producir rotíferos, una técnica fundamental con grandes ventajas frente a la utilización de alimentos secos como la levadura o dietas comerciales. La utilización de microalgas genera menores desechos, reducción de impactos sobre la calidad del agua, actividad antibacteriana que reduce la probabilidad de contaminación del cultivo como lo menciona Yin et al.⁵, y Jeeja et al.⁶.

De la misma forma, para aumentar las densidades de rotíferos proyectando su uso como una alternativa viable para el desarrollo de cultivos de alta densidad, se han desarrollado técnicas para el control del pH en el cultivo de rotíferos de alta densidad, introduciendo sistemas automatizados que monitorean y corrigen las condiciones del cultivo permanentemente. El origen y principio de estas técnicas se basa en la adición controlada de HCl hasta reducir el pH a 7 aproximadamente para promover la ionización del NH_3 a NH_4 , compuesto menos tóxico para los animales acuáticos tal y como lo ha probado Yoshimura⁷.

Teniendo en cuenta los argumentos anteriores, se desarrolló una investigación en las instalaciones de la Estación Acuícola Bahía Málaga, la cual permitió evaluar el efecto de diferentes dietas alimenticias ajustando el pH, para incrementar la densidad poblacional en el cultivo del rotífero marino *Brachionus plicatilis* y obtener información que posibilite el mejoramiento del cultivo de esta especie, de amplia importancia en la acuicultura comercial.

⁵ Ibid., p. 63

⁶ JEEJA, P. K; I. Joseph & R. P. Raj. Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. Indian J. Fish., 58: 2011 p.59-65.

⁷ YOSHIMURAA Op. cit., p. 174

1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El rotífero de la especie *Brachionus plicatilis* ha sido ampliamente utilizado dentro de la acuicultura como primer alimento para larvas de crustáceos y peces, en consecuencia, un suministro continuo, estable y fiable en cuanto a cantidad y calidad de rotíferos es la clave para el óptimo desarrollo de las larvas.

Tanto la producción como las densidades bajas reportadas en los cultivos de *B. plicatilis* que se producen en Colombia pueden ser el resultado de la mala calidad de agua, calidad y cantidad inadecuada de alimento, presencia de enfermedades e información biológica insuficiente⁸.

Los métodos desarrollados para proporcionar un suministro adecuado de rotíferos a una variedad de larvas se basan en estudios extensivos de su biología, alimentación, estrategias de reproducción, genética, fisiología y bioquímica. Esta información básica proporciona las herramientas necesarias tanto para la adaptación de los rotíferos a técnicas de cultivo en masa, así como para las soluciones de los problemas que surgen durante dicho procedimiento.

Debido a las escasas investigaciones en Colombia sobre este microorganismo y sus bajas producciones en el cultivo, estos factores representan las principales limitantes a la hora de desarrollar este proceso de manera eficiente y eficaz, de acuerdo a eso se formula, para efectos de esta investigación, la siguiente pregunta: ¿La dieta y el ajuste en el pH, lograra incrementar la densidad poblacional a niveles intensivos en los cultivos del rotífero marino *Brachionus plicatilis*?

⁸PRIETO, Martha., CASTAÑO, Fabio., SIERRA, Juan., BOTERO, Priscila. y LOGATO, Julián.. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y Mesocosmos..En Revista MVZ Córdoba. Vol. 11 11, nº 1 2006: P. 31

1.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Cano⁹ menciona que uno de los puntos críticos en el ciclo de producción de peces, es sin duda, la fase de larvicultura, puesto que en esta etapa se presentan el mayor índice de mortalidad, requiriendo así alimentos externos apropiados, en muchos casos zooplanctónicos como primer sustento, seleccionados de acuerdo con el tamaño de la boca de la larva.

Es así como Donth¹⁰ lo afirma, durante casi cuatro décadas, los rotíferos se han utilizado como organismos de alimento para larvas de peces marinos cultivados, el suministro continuo, estable y fiable de rotíferos adecuados nutricionalmente es la clave para el buen desarrollo de las larvas. La cantidad necesaria varía de veinte mil a cien mil rotíferos por larva durante el periodo que comprende entre veinte y treinta días de cultivo según la especie, la alta demanda de estos organismos para la fase larval requiere de soluciones, las cuales se fundamentan en el conocimiento, optimización y automatización de los sistemas de cultivo de rotíferos para llevarlos a niveles masivos de producción semi-continua o continúa de manera que suplan los requerimientos de calidad y cantidad. La producción de rotíferos con fines acuícolas se logra optimizar en cultivo conociendo el alimento adecuado que los organismos requieren, buscando una coordinación entre el crecimiento poblacional de los mismos y la utilización de estos alimentos, estandarizando una tasa de dilución o cosecha optima del cultivo que se realiza a intervalos periódicos con la finalidad de lograr una alta producción y el sostenimiento de la misma a largo plazo.

Además Yoshimura¹¹ señala que los principales factores de inhibición o la limitación de la propagación de rotíferos son principalmente la alimentación inadecuada, la escasez de oxígeno disuelto y la toxicidad del amoniaco sin disociar acumulado en el medio de cultivo. Se han desarrollado varios métodos y dispositivos de cultivo para eliminar estos factores inhibidores del medio de cultivo de rotíferos, la deficiencia de la alimentación se resolvió mediante el uso de pasta de microalgas condensada, tales como *Chlorella* de agua dulce, la escasez de oxígeno disuelto también se resolvió mediante el suministro de gas oxígeno de alta pureza en lugar de aire y para la toxicidad del amoniaco existen teorías relacionadas al control del pH de cultivo a un nivel neutro, 7.0, con adición automática de una solución de HCl para promover la ionización del NH_3 a NH_4 , el cual es menos tóxico para los animales acuáticos.

⁹CANO, Amado. *Cultivo de larvas de pargo de la mancha Lutjanus guttatus utilizando rotíferos cultivados y colectados en estanques*. Panamá: s.n.e, 1997. p. 128.

¹⁰DHONT, J. D, Op. cit., p. 690

¹¹YOSHIMURA, K. K. *Factors inhibiting growth of the rotifer Brachionus plicatilis in high density cultivation by feeding condensed Chlorella*. Nippon Suisan Gakkaish. 1994. p.12.

Estos avances tecnológicos no solo podrían permitir que se incremente la producción de rotíferos, sino que disminuirían el espacio necesario y facilitarían el manejo de los cultivos de rotíferos en Colombia. Es por ello que esta investigación se evaluó el potencial del control de la dieta y el pH del cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis*, sobre el incremento de la densidad de rotíferos a niveles intensivos.

2.OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el crecimiento poblacional y la densidad en el cultivo del rotífero marino *Brachionus plicatilis*, con ajuste de pH y manejo de diferentes dietas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de tres dietas con ajuste de pH sobre el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus plicatilis*.
- Determinar el índice de fertilidad del cultivo del rotífero marino *Brachionus plicatilis* alimentados con tres dietas y ajuste de pH
- Analizar la relación costo-beneficio de la aplicación de diferentes dietas y ajuste de pH del cultivo frente a los métodos convencionales de producción de rotíferos.

3. MARCO TEÓRICO.

3.2 BIOLOGÍA DE ROTÍFEROS

Según Dhont¹², citando a Lubzens, los rotíferos, que pertenecen principalmente al género *Brachionus*, se han utilizado como organismo alimento vivo en acuicultura desde la década de 1970 por sus características de desarrollo, facilidad de cultivo y aporte nutricional, tamaño adecuado, puede cultivarse a altas densidades, tienen una alta tasa reproductiva, nadan lentamente y son filtradores, una de las especies seleccionadas para su uso es *Brachionus plicatilis*.

Por otro lado Støttrup,¹³ sostiene que el phylum rotífera se compone de un grupo relativamente pequeño de organismos, no segmentado, pseudo-celomados, invertebrados acuáticos con simetría bilateral. La mayoría de los rotíferos son nadadores libres, pero las formas sedentarias y coloniales también se conocen, alrededor de 2000 especies pueblan lagos de agua dulce y estanques, pero varias especies son conocidas de aguas salobres o marinas y de musgos y líquenes en los hábitats terrestres húmedos. Aunque los rotíferos son un pequeño filo, son extremadamente importantes en el medio ambiente de agua dulce, lo que contribuye hasta un 30% de la biomasa total del plancton.

El nombre de rotífero proviene del latín rota (rueda) y ferre (llevar) en referencia a su aparato succionador, la corona, que recuerda una corona real o una sierra dentada circular; la corona está compuesta de cilios que al moverse crean pequeñas corrientes que atraen las partículas del entorno hacia ella, de la corona pasan a una faringe y de ésta al aparato masticador denominado mástax, donde se trituran las partículas succionadas, para después ser digeridas en el estómago y finalmente los residuos son excretados por la cloaca. La corona también la utilizan para desplazarse por el agua a modo de turbohélice; en el extremo opuesto a la corona se distingue un pie (generalmente un par de pies) con el cual pueden aferrarse al sustrato (Figura 1).

Complementariamente Dhont¹⁴, asevera que en la mayoría de especies los machos son escasos, de forma que la reproducción por partenogénesis es bastante común. Además, existe un marcado dimorfismo sexual porque los machos existentes suelen tener el aparato digestivo atrofiado y su existencia se reduce a la producción de espermatozoides; la vida útil de una hembra suele ser de una a dos semanas.

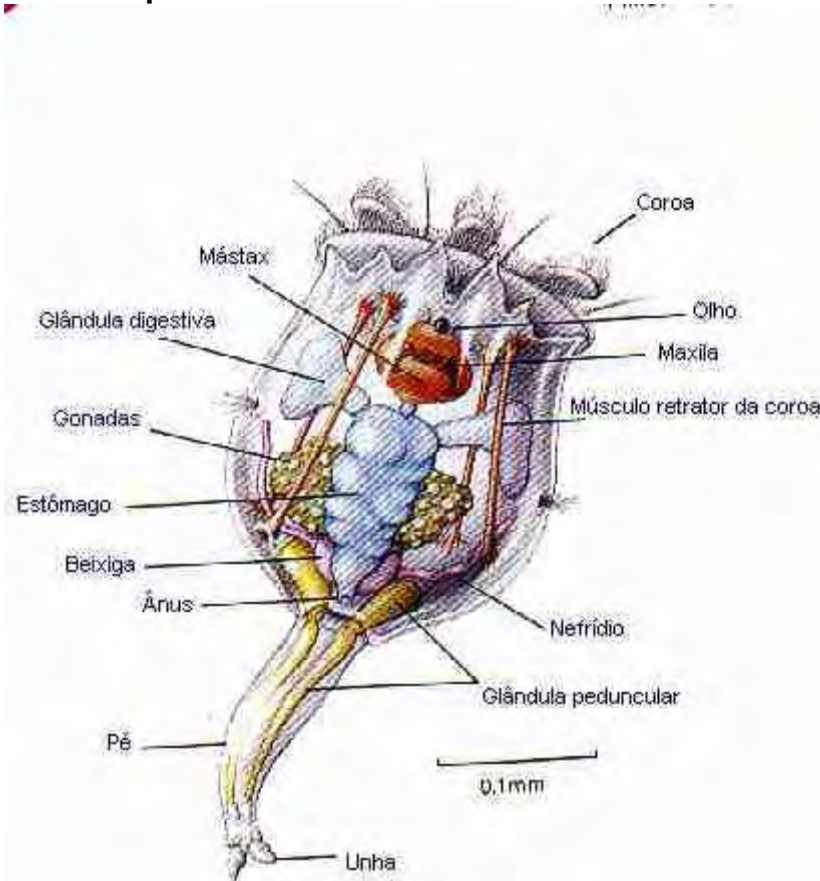
¹²DHONT, J. D, Op. cit., p. 695

¹³STØTTRUP, J. Op. cit., p.21-36.

¹⁴DHONT, J. D, Op. cit., p. 696

Watanabe¹⁵ refiere que en el phylum rotífera se encuentran especies muy importantes objeto de estudio de zoólogos y ecólogos, son organismos enormemente activos considerados depredadores en el mundo del plancton por consumir altas concentraciones de microorganismos, por tener una alta tasa de reproducción y su afloramiento abate rápidamente la concentración de oxígeno en el medio. Es por ello que su localización en los ambientes acuáticos permite indicar la presencia de materia orgánica (medios eutróficos).

Figura 1. Esquema de la anatomía externa e interna de un rotífero.



Ufscar.br. (2017). Sist. [online] Available at: 18 de Marzo de 2017.
<http://www.ufscar.br/~limno/Teor/Sist.html>.

Por otro lado Støttrup¹⁶, afirma: Algunas especies son xerobiontes, es decir sus huevos fertilizados se enquistan y crean formas de resistencia capaces de sobrevivir a los períodos de sequía y desecación en los que el hábitat acuático

¹⁵WATANABE, Nutritional quality of living feeds used in seed production of fish. Proc. 7th Japan-Soviet Joint Symp. 1979. p.126

¹⁶STØTTRUP, J. Op. cit., p.21-36.

desaparece por la variación estacional, al ser rehidratados emergen rápidamente (en menos de dos horas) como organismos con capacidad natatoria, algunas especies producen un derivado del azúcar trehalosa con el que crean una sustancia gelatinosa que ayuda a resistir a la falta de agua ambiental.

3.2.1 Taxonomía del rotífero *Brachionus plicatilis*. De acuerdo a Mueller la clasificación taxonómica para rotíferos del Género *Brachionus* es la siguiente:

Cuadro 1. Clasificación taxonómica para rotíferos del género *Brachionus*

Reino	<i>Animalia</i>
Filo	<i>Rotifera</i>
Clase	<i>Eurotatoria</i>
Subclase	<i>Monogononta</i>
Súper orden	<i>Pseudotrocha</i>
Orden	<i>Ploima</i>
Familia	<i>Brachionidae</i>
Genero	<i>Brachionus</i>
Especie	<i>Brachionus plicatilis</i>

MÜLLER, O. F. Animacula Infusoria fluviatilia et marina, quae detexit, systematice descripsit et ad vivum delineari curativ. sistit opus hoc posthumum quod cum tabulis aenis L. in Lucem tradit vidua ejus nobilissima, cura Othonis Fabricii. Haunia s.f. 1786.p.28

3.3 REPRODUCCIÓN DE ROTÍFEROS.

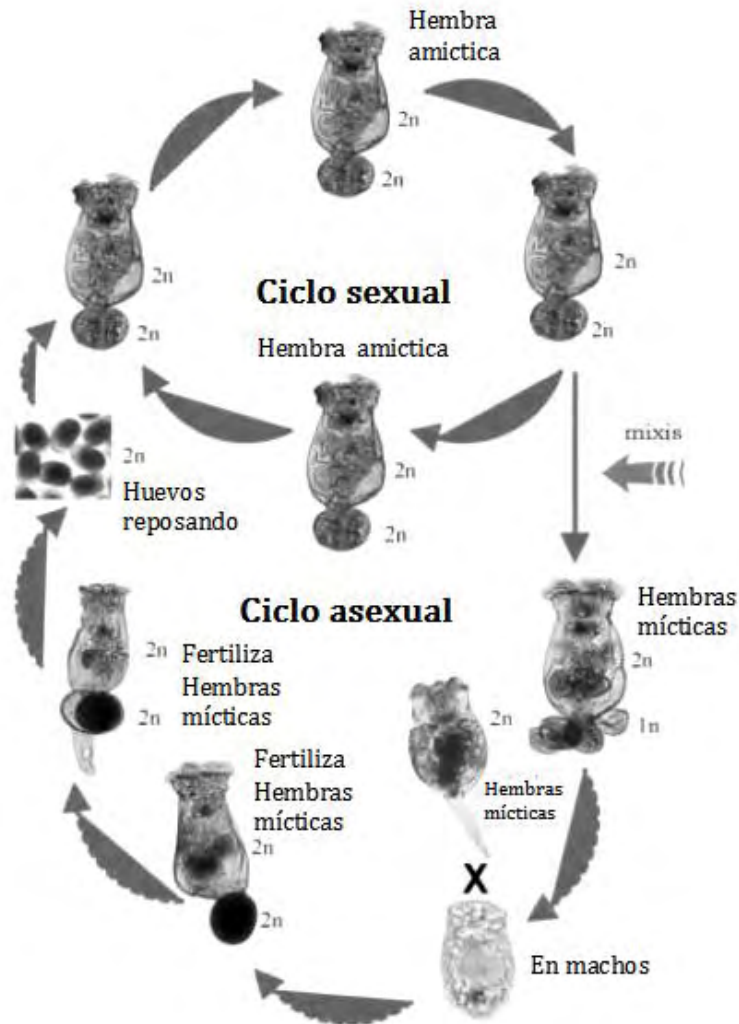
Según Cano ¹⁷ el ciclo de vida de *Brachionus* presenta dos modos de reproducción, durante la partenogénesis las hembras amícticas producen huevos amícticos (diploide, cromosomas 2n) los que se desarrollan nuevamente en hembras amícticas, esta es la manera más rápida de reproducción y por lo tanto la más importante para la producción intensiva de rotíferos, sin embargo el ciclo de vida puede volverse en reproducción sexual más complicada por condiciones ambientales desfavorables. Durante la reproducción sexual las hembras míticas y amícticas son producidas, aunque ambas no son morfológicamente diferentes, las hembras míticas producen huevos haploides (n cromosomas), y las larvas que son incubadas fuera de estos huevos míticos infértiles se desarrollan en diminutos machos haploides (Figura 2).

El mismo autor manifiesta, que los machos son aproximadamente un cuarto del tamaño de la hembra; ellos no poseen tracto digestivo ni vesícula, pero tienen un sobredimensionado testículo maduro lleno de esperma. Los huevos míticos que eclosionarán en machos son significativamente menores en tamaño, mientras que los huevos míticos fertilizados son más grandes y consisten de una capa externa gruesa y débilmente granulada, estos son los huevos latentes y únicamente

¹⁷CANO Op. cit., p 128.

eclosionarán hembras amícticas bajo cambios repentinos en las condiciones ambientales, que pueden ser originados por alteraciones de las circunstancias climatológicas, provocando eventualmente variaciones en la temperatura, salinidad o en las condiciones alimenticias.

Figura 2. Ciclo reproductivo de los rotíferos.



STØTTRUP, J. and McEVOY, L. *Live feeds in marine aquaculture*. Vol. 1st ed. Oxford, Oxford: John Wiley & Sons.: UK: Blackwell Science, 2008.

3.4 CULTIVO DE ROTÍFEROS

Según Watanabe¹⁸, en la producción artificial de larvas de peces marinos y estuarinos, los rotíferos son el primer alimento que generalmente se suministra, así mismo su cultivo es un elemento crítico e indispensable en la cría de la mayoría de las especies de peces por lo que ha sido un factor clave en el desarrollo de la producción masiva de juveniles a partir de 1965, año en que se confirmó su valor como alimento en la cría de *P. auratus* y se ha utilizado con éxito desde entonces en decenas de especies.

En consecuencia, actualmente se reconocen varias especies y cepas de rotíferos, entre las más utilizadas se destacan: *Brachionus rotundiformis*, anteriormente conocido como tipo "S" (100 - 230 μm) y *Brachionus plicatilis*, (Figura 3) conocido como tipo "L" (130 - 340 μm), las cuales difieren en cuanto a la temperatura óptima y tasa de crecimiento, la especie *B. rotundiformis* es utilizada generalmente para las primeras etapas de alimentación de las larvas de muchas especies, y se necesitan densidades dos o tres veces superiores a las que se emplean con la especie *B. plicatilis*.

Figura 3. *B. Plicatilis*



Sort of Rotifer, 2016. Knusun.kangnung.ac.kr [online].

3.4.1 Factores que intervienen en el cultivo y su influencia. Para el cultivo de *B. plicatilis*, se recomienda un intervalo de temperaturas de 18° a 25 °C con un índice de crecimiento 170% como máximo a 25 °C; el intervalo más amplio de pH descrito es cinco a nueve, pero los mejores resultados se obtienen con pH entre 7,0 y 8,5 para la producción de rotíferos.

Tanto para agua dulce y marina los rotíferos, dependen de la salinidad del medio ambiente, el intervalo de salinidad en el cual se obtienen los mejores resultados en los cultivos es de 20 a 25‰, con dilución de agua dulce aumenta el número de

¹⁸WATANABE, Op. cit., p.187.

hembras y la producción de huevos. Según estudios realizados por Watanabe, encontró que en *B. rotundiformis* hay niveles más altos de PUFA (n-3) a salinidades bajas.

El amonio no ionizado (NH₃) es el compuesto nitrogenado más dañino, con una correlación directa entre altas concentraciones de éste y bajas densidades de rotíferos en los cultivos masivos, lo cual afecta la producción de huevos y la actividad natatoria. Se han recomendado las concentraciones de amonio total menores de 10 ppm y las del amonio no ionizado que no excedan de 0,5-1,0 ppm.

Los niveles de oxígeno disuelto de 3,0 a 8,0 ppm son aceptables, aunque el óptimo está entre 5,0 y 7,0 ppm, los rotíferos alimentados con microalgas necesitan menos aireación, porque el alga produce O₂; por lo contrario los rotíferos alimentados con levadura, necesitan una mayor aireación debido a que las bacterias asociadas tienen un alto consumo de oxígeno reduciendo su disponibilidad en el medio de cultivo. Así mismo la aireación debe ser moderada para evitar el desprendimiento de huevos en hembras ovígeras y la formación de espuma en medios con abundante detrito, reteniendo a los rotíferos en la superficie ocasionando la muerte de estos por desecación.

Dhont,¹⁹ menciona que la característica más importante del estado fisiológico de los rotíferos es la relación de huevo, esta es la relación entre el número de huevos en una muestra y el número total de hembras en esa muestra, la proporción de huevos indica en qué etapa del cultivo de rotíferos se encuentra (exponencial o estacionaria) y, más importante, da una estimación del número de rotíferos que es de esperar al día siguiente, la proporción de huevos no debe ser inferior al 10% ya que esto puede indicar un colapso futuro.

Así mismo afirma que los rotíferos deben ser de natación libre, y la tasa de natación debe ser alta, ya que los rotíferos con movimiento lento puede ser una indicación de la inanición y / o mala calidad del agua.

Cuadro 2. Parámetros de cultivo de rotíferos del género *Brachionus*.

Salinidad	Bajo 35 ‰ idealmente
Temperatura	18 a 25 °C
Oxígeno disuelto	100 % saturación (> 2 mg / l)
pH	> 7,0 a 8,5

Recuperado de WATANABE, T. Nutritional quality of living feeds used in seed production of fish. Proc. 7th Japan-Soviet Joint Symp. Tokyo: Aquaculture center. 1979. P.187.

¹⁹DHONT, Op. cit., p.126

El mismo autor manifiesta, que la presencia de los ciliados es nociva, un cultivo con estos organismos puede mantenerse por algunos días en explotación, pero no será de los más productivos y al final irremediablemente se pierde, la concentración de ciliados aumenta si la temperatura es elevada y si el sistema de cultivo es semi-continuo o si se está suministrando levadura. La contaminación por ciliados puede controlarse adicionando al medio de cultivo 20 a 30 ppm de formalina un día antes de inocular los rotíferos.

3.4.2 Importancia del cultivo de *Brachionus plicatilis*. De acuerdo a Yoshimura.

"Las principales ventajas que ofrece el cultivo de *Brachionus plicatilis* son: tolerancia a rangos amplios de temperatura y salinidad y diferentes alternativas para su cultivo, su pequeño tamaño (130–340 μm), lo que permite a las larvas de peces y crustáceos ingerirlos cuando todavía no pueden ingerir nauplios de *Artemia*, su fácil y barata alimentación con diferentes especies de fitoplancton, levaduras y dietas artificiales, su alta velocidad de reproducción bajo condiciones óptimas de cultivo, pudiendo duplicarse la población en menos de 24 horas, lo que permite obtener altas densidades"²⁰

El mismo autor afirma que en cuanto a su contenido nutricional, como ya se mencionó anteriormente *B. plicatilis* ofrece la gran ventaja de incrementar su este contenido en relación a su dieta. Para el buen manejo de la población de rotíferos en cultivo, es recomendable el uso de ecuaciones sencillas, que permitan conocer la concentración adecuada de alimento y la tasa de reproducción y fecundidad, factores que indican el buen desarrollo del cultivo, que controlados permiten el establecimiento de cultivos continuos y densos para su uso como alimento vivo.

3.4.3 Sistemas de cultivo para rotíferos. El mismo autor manifiesta, que los sistemas de cultivo de rotíferos más usados actualmente son el de cosecha total y el semi continuo o de cosecha parcial, pueden encontrarse aplicados con múltiples modificaciones y combinaciones atendiendo a los requerimientos productivos, los tipos de tanques que se empleen, el tipo de alimento de que se disponga, e incluso a las características climatológicas.

Dhont²¹, afirma que en Japón los centros comerciales usan mucho el sistema de cosechas parciales con tanques de grandes dimensiones (40 a 200 m^3), con filtros en algunos casos basándose en el uso masivo de microalgas, mientras que a pequeña escala (1 a 20 m^3) se aplica más el sistema de cosecha total por ser más efectivo, pero más laborioso y consumidor de tiempo. En Cuba los mejores resultados se han logrado con el método de cosecha total que resulta ser muy laborioso, pero más productivo y confiable que el semi-continuo, los cultivos continuos también son aplicados en la cría de rotíferos, pero son los menos usados a pesar de que su productividad es superior (3.000 rot/ml); el sistema es

²⁰YOSHIMURA, Op. cit..p.28

²¹DHONT, Op. cit., p. 126

más seguro en términos de contaminación y el producto es de alta calidad, por trabajar con condiciones estrictas, aunque es el más costoso.

3.4.4 Alimentación de rotíferos. Según Cano²², los rotíferos del género *Brachionus* como filtrador no selectivo, pueden ingerir partículas de alimento de 20-30 µm en la naturaleza consumen microalgas, bacterias, levaduras y protozoarios. Los animales cultivados se alimentan con algas unicelulares, como *Tetraselmis suecica*, *Chlorella* sp que son mayormente utilizada en el cultivo de rotíferos.

Støttrup²³ menciona que el aporte nutricional de los rotíferos en el cultivo de larvas de peces alimentadas con rotíferos producidos a partir de la dieta de levadura o la mezcla 95% levadura y 5% *Chlorella* sp ocurrían altas mortalidades, se identificó la causa como un desbalance nutricional en cuanto a los ácidos grasos esenciales, otras investigaciones aportaron la utilización de una levadura mejorada con ácidos grasos altamente insaturados, esto permite que el zooplancton obtenga la concentración necesaria de ácidos grasos y aminoácidos esenciales para el buen desarrollo de las diferentes especies de invertebrados y peces producidos mediante esta técnica.

El mismo autor, recomienda la introducción de vitaminas, en particular la vitamina B12, la vitamina A y la vitamina E, en la dieta para el incremento de la fecundidad y el crecimiento.

Dietas: Los requerimientos nutricionales pueden ser cubiertos empleando microalgas frescas, secas o congeladas, levaduras de pan, levaduras marinas, dietas artificiales, o combinaciones de microalgas y levaduras Hoff y Snell²⁴

- **Algas.** Las dietas a base de algas abarcan una gran variedad de especies siendo *N. oculata*, introducida en la acuicultura por los japoneses con el nombre vulgar “Chlorella marina” una de las mejores. Otras algas que ofrecen al rotífero un alto valor nutritivo, debido a su contenido de vitaminas y ácidos grasos esenciales son las pertenecientes a los géneros *Chaetoceros*, *Dunaliella*, *Pyramimomonas*, *Isochrysis* y *Tetraselmis*²⁵.

- **Levaduras.** Los altos requerimientos de microalgas que limitaban la producción de rotíferos para los programas de larvicultura en Japón, llevaron a introducir las levaduras como alimento alternativo²⁶. Pese a ser ricas en proteínas, este tipo de

²²CANO Op. cit., p. 128.

²³STØTTRUP, Op. cit., p. 21-36

²⁴HOFF, F. and SNELL, T. Plankton culture manual. 1st ed. Dade City, Fla: Florida Acqua Farms. 2008. p. 58-62

²⁵Ibíd. p. 58

²⁶Ibíd. p. 58

cultivo es inestable presentándose ocasionalmente colapsos súbitos, además de producirse rotíferos de un valor nutricional no adecuado para las larvas de peces y crustáceos como lo menciona Watanabe et al²⁷. Los colapsos son explicados en una pobre digestibilidad de las levaduras, deficiencia de vitamina B12 y deterioro de la calidad del agua por exceso de materia orgánica Hoff y Snell²⁸. Ante ello diversos autores proponen combinar el uso de levaduras con *Tetraselmis* o *Nannochloropsis*, adicionar a los cultivos vitamina B12, o bacterias productoras de esta vitamina Hoff y Snell²⁹, y el posterior enriquecimiento de los rotíferos Dhert et al³⁰.

- **Algamac Protein Plus.** Es un alimento hecho 100% de especies de algas celulares de alto valor proteico para la sustitución parcial o completa de las algas y suplemento para la dieta en el cultivo de rotíferos, sirve como reemplazo de las algas y se usa de forma total o parcial, compuesto por especies heterótrofas y foto-tróficas, vitaminas, atrayentes, y pigmentos³¹.

- **Concentrado de microalgas.** 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 en cultivos intensivos, también se usa para reducir los costos de producción en los criaderos e incrementar los niveles de producción en la larvicultura de peces marinos³².

3.4.5 Cosecha de rotíferos. Según Watanabe³³ cada colector va sumergido dentro de un tanque de mayor diámetro y menor altura, para que permita el reboso del agua, cada 1.000 L de cultivo cosechado debe extraerse el contenido del colector y lavarse con abundante agua para remover metabolitos, detrito, etc., que no deben ser introducidos en el tanque de cría de larvas.

Otra forma de cosecha es utilizando varias bombas sumergibles plásticas 20 a 40 L/min, cuyo bombeo se dirige a colectores de zooplancton que pueden ser tanques plásticos de unos 100 L, con incisiones rectangulares en las paredes y

²⁷ WATANABE Op. cit., p. 124.187

²⁸ HOFF Op. cit., p.21

²⁹ Ibíd. p. 25

³⁰ DHERT, P., ROMBAUT, G., SUANTIKA, G. and Sorgeloos, P. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, 200(1-2), 2001. p.129-146.

³¹ PRO AQUA México | Proveedora de Insumos Acuícolas, S.A. de C.V. (2017). *Algamac Protein Plus (Kg) [Bolsa]*. [online] Available at: <http://www.proaqua.mx/algamac-protein-plus-kg-biomarine/> [Accessed 3 Jun. 2017].

³² ÖNAL, U., Ý. ÇELIK & S. ERGÜN. The performance of a small-scale, high-density, continuous system for culturing the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 34: 2010 187-195.

³³ WATANABE Op. cit., p. 124.187

malla sintética de 40 a 45 μm pegada, aireación en las paredes con manguera de PVC transparente perforada para que los organismos no obstruyan la malla. Otro tipo de colector para rotíferos basado en un doble filtro de malla (una de 250 a 300 μm y otra de 50 μm).

3.4.6 pH. En el medio natural los rotíferos pueden vivir a niveles de pH inferiores a 6.6, el rango óptimo de producción ha sido establecido entre 6.6 y 8.0. En el agua los niveles de amonio no ionizado (NH_3) están en equilibrio con el ionizado (NH_4^+) en una relación $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ que es afectada por la temperatura y el pH del agua. Altos niveles de NH_3 son tóxicos para los rotíferos por lo que en cultivos debe vigilarse que estos no superen 1 ppm de concentración Yoshimuraa³⁴.

Para la toxicidad del amoniaco existen teorías relacionadas al control del pH de cultivo a un nivel neutro, 7.0, con adición automática de una solución de HCl para promover la ionización del NH_3 a NH_4^+ , el cual es menos tóxico, la reducción en la cantidad de amoniaco no disociado puede aumentar las densidades poblacionales del cultivo por lo contrario sin ajuste de pH, los crecimientos de la población de rotífero son bajos y su densidad es muy reducida.

3.4.7 Costos del cultivo de rotíferos. Pese a los escasos estudios sobre la producción de rotíferos Lubzens y Zamora³⁵ mencionan que “a nivel mundial el costo calculado de producción de rotíferos depende de la escala total de producción, con un costo estimado de US\$0.04 por millón de rotíferos en un sistema que produce 4 mil millones por día, y de US\$0.15 en un sistema de producción de mil millones por día”, Suantika³⁶ menciona que el costo de la mano de obra es una de las principales preocupaciones en Europa, América del Norte y Japón, el costo de principal preocupación en los países en desarrollo se debe a la alimentación, sin embargo, la constante necesidad que las industrias de maricultura poseen por aumentar las producciones de rotíferos ha provocado gastos continuos en nuevos espacios de trabajo, personal y alimento.

Así mismo Dhert³⁷ afirma que el costo beneficio de la producción de rotíferos recae en el uso de una fuente de alimento barata, por ello explica que en muchos casos la levadura de panificación sea usada como dieta, sin embargo esta carece de los ácidos grasos requeridos. En este sentido cuando hay disponibilidad de microalgas de buena calidad estas pueden usarse como alimento vivo por su contenido de ácidos grasos, como es el caso de *Chlorella*, *Nannochloropsis*

³⁴YOSHIMURAA, Op. cit., p. 165–172.

³⁵LUBZENS E, ZMORA O. Production and Nutritional value of rotifers. En Live feeds in marine aquaculture. 2003. Støttrup JG, McEvoy LA (Ed); p. 17 – 64

³⁶SUANTIKA, G; DHERT, P; MURHUDAH M; SORGELOOS, P.. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system:104consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. Aquacultural engineering 21 (3) 2000 p.:201-214

³⁷DHERT Op. cit., p. 129-146

occulata e *Isochrysis galbana*, aunque hay que tener en cuenta que los costos de producción son más elevados cuando se utilizan microalgas. Para asegurar el nivel nutricional de los rotíferos, se utilizan emulsiones lipídicas, enriqueciéndolos unas horas antes de suministrarlos como alimento.

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en la Estación Acuícola Bahía Málaga que se encuentra ubicada en la región central de la Costa Pacífica colombiana, Juanchaco-Ladrilleros, jurisdicción del municipio de Buenaventura (Valle del Cauca), y su acceso es por vía marítima. El área de la estación es de 50x75 m². Geográficamente se encuentra en la latitud Norte 3° 56' y 4° 05'N y longitud 77° 21' O. Clima ecuatorial cálido húmedo, temperatura ambiente de 30 °C, precipitación pluviométrica de 2650 mm anuales y humedad relativa entre el 80 y 85%³⁸(Figura 4).

Figura 4. Mapa ubicación de la estación acuícola Bahía Málaga Buenaventura (Valle).



CASTAÑO URIBE, C. and RIEDEL, S. *Golfos y Bahías de Colombia*. 1st ed. Cali: Banco de Occidente Credencial.2002

4.2 INSTALACIONES, EQUIPOS, MATERIALES E INSUMOS

4.2.1 Instalaciones. Cuenta con un área total de 933 m², en infraestructura física de producción e investigación distribuidas de la siguiente forma.

- 30 m² Sala de cultivos masivos de microalgas.
- 20 m² sala de cultivos masivos de rotíferos.
- 120m² sala de producción de Meso cosmos.
- 326 m² laboratorios, oficinas y habitaciones.

³⁸INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO {En línea}. {Consultado junio 2017}. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getdoc/3afe60d1-e0ee-4b3a-97bf-8f13287c4691/Estacion-de-acuicultura-marina-de-Bahia-Malaga.aspx>

La investigación se realizó en los laboratorios de microalgas, en la sala de cultivo de rotíferos y sala de producción de meso cosmos.

4.2.2. Equipos. Microscopio (Nikon Iphaphet-2 YS2), balanza digital, equipo hach, electro bomba sumergible, refractómetro, multiparámetros, cámara Neubauer (*Bright-Line[®] Hemacytometer*), cámara Sedgwick-rafter.

4.2.3. Materiales. Portaobjetos, cubreobjetos, pipetas Pasteur, tamices de 40 µm, 65 µm, 100 µm, 200 µm, beakers, erlenmeyer de 250 ml, 500 ml y 3 litros, piedras difusoras, plomos, escobas, cepillos, pañuelos, poncheras plásticas, baldes de 12 litros, filtro de carcasa de 0,35, 1 y 5 µm.

4.2.4. Insumos. Hipoclorito de calcio, hiposulfito de sodio, formol, levadura y Protein plus algamac®, f/2 de guillar.

4.3. PLAN DE MANEJO

4.3.1. Recolección de datos. La información obtenida se registró a partir del periodo de adecuación de las instalaciones, producción de microalgas y cultivo del rotífero *B. plicatilis* tanto para parámetros fisicoquímicos; volúmenes y concentraciones de la producción de algas y su floculación; densidad inicial, densidad final, número de hembras ovadas y hembras totales para el cultivo de rotíferos en cada tratamiento del estudio.

4.3.2. Obtención de agua marina. El agua de mar que se utilizó para toda la ejecución de este trabajo fue llevada por medio del sistema de bombeo de la EABM, está conformado por una motobomba centrifuga sumergible de 7,5 Hp, que lleva el agua directamente a los reservorios posteriormente el agua se filtra y se extraen las partículas más grandes a través de un filtro de arena de alto rendimiento y pasa a los filtros de felpa, filtros de cartucho de 20, 10, 5 y 1 micra para la producción de microalgas y sala de rotíferos.

4.3.3. Material biológico. Las cepa de microalgas empleada en la investigación fue *Tetraselmis suecica*, obtenida del laboratorio de microalgas de la estación provenientes de la Universidad del Magdalena. Las cepas de rotíferos *Brachionus plicatilis* se obtuvo de los procesos de cultivo masivo y producción realizados en la Estación.

4.3.4. Adecuación de instalaciones: Se adecuaron tanto los laboratorios de producción de microalgas cepas e intermedios y el laboratorio de cultivo de rotíferos en interiores en donde se realizó el experimento, estos fueron adecuados realizando labores de limpieza y desinfección de materiales, tanques y recipientes utilizando agua dulce y cloro a una concentración de 5 ppm y posteriormente neutralizados con hiposulfito a la misma concentración del cloro, para luego poder ser utilizados; además se dotaron dichos espacios con los materiales necesarios

para el cultivo, equipos de medición de pH, aireación, unidades experimentales como se observa en la siguiente figura.

Figura 5. Adecuación de laboratorios e instalaciones de la estación acuícola Bahía Málaga utilizadas en el desarrollo de la investigación.



(A) Laboratorio de rotíferos, preparación de las unidades experimentales para el estudio.

4.3.5. Producción de alimento vivo. Para realizar todos los procesos productivos y el desarrollo de esta investigación fue necesario emplear los protocolos de cultivo de microalgas y cultivo de rotíferos de acuerdo de lo establecidos por la EABM, en los cuales se contempló el mantenimiento, producción y cosecha de cada tipo de cultivo de la siguiente forma:

4.3.5.1. Microalgas. Para obtener la población algal se llevó a cabo una producción escalonada de la microalga *Tetraselmis suecica* iniciando con un tubo de ensayo, realizando un inóculo de la cepa que se reemplazó semanalmente con el fin de mantenerlas puras, vivas y constantes, posteriormente pasan a erlenmeyers de 250 ml, 500 ml, 3 litros y cilindros de 90 litros hasta cultivos en exteriores de 10m^3 . Los volúmenes menores o iguales a 3 litros fueron mantenidos en el laboratorio de cepas a una temperatura de $18\text{-}20^\circ\text{C}$, mientras que los que los volúmenes de 90 litros se mantuvieron en el laboratorio de microalgas intermedios a una temperatura de 20°C .

Figura 6. Cultivo de microalgas en los laboratorios en la estación acuícola Bahía Málaga.



(A) Laboratorio de cepas, (B) Laboratorios de cultivos intermedios.

4.3.5.2. Producción de rotíferos. Esta se divide en dos fases.

- **Cepa de rotíferos.** Los rotíferos *Brachionus plicatilis* fueron cultivados por inóculos sucesivos. La cepa se mantuvo en recipientes de vidrio con capacidad de 4 litros y aireación constante a una temperatura de 25°C, con una densidad inicial de 10 rotíferos/ml alimentados una vez al día con 100 ml de microalga *Tetraselmis suecica*. Éstos fueron cosechados, lavados y tratados con formol durante 45 segundos cada 4 días para mantener una cepa pura y constante en el laboratorio.

Figura 7. Cultivo de rotíferos para el mantenimiento de cepas en los laboratorios en la estación acuícola Bahía Málaga.



- **Cultivos en exteriores.** El cultivo en exteriores se llevó a cabo en tanques plásticos de una capacidad de 1500 litros con un volumen inicial de 200 litros a temperatura ambiente y una densidad de siembra de 10 - 20 rot/ml (Fig.8). Todos los cultivos de rotíferos, fueron alimentados con microalga *Tetraselmis suecica*. Cuando los cultivos alcanzaron una densidad superior a los 200rot/ml

aproximadamente, fueron cosechados y enjuagados a través de un tamiz de 40 μm de luz de malla, lavados y tratados con formol durante 45 segundos (Fig.8), para ser resembrados hasta su utilización en esta investigación.

Figura 8. Cultivo de rotíferos en exteriores estación acuícola Bahía Málaga.



(A) Cultivo de rotíferos en tanques de 1500 litros, (B) Cosecha de rotíferos.

4.3.5.3. Floculación de la microalga. Se realizó un cultivo de 10 m³ de *Tetraselmis suecica* en el área de cultivos exteriores de la estación, siguiendo los protocolos establecidos por EABM, los cultivos de microalgas fueron cosechados al inicio de la fase de crecimiento estacionario, cuando se obtuvo una densidad celular de 3×10^5 células/ml. (3 días de cultivo Fig. 9.), para esto se realizó un traslado a un tanque de 2 toneladas en horas de la mañana, el cual se dejó sin aireación durante 8 horas, posteriormente se mide el pH para verificar que este esté cerca de 10, al verificar este se adicionó 1 litro de la solución con el hidróxido de sodio en una concentración de 10 ppm para llegar al pH deseado y se dejó reposar durante 5 horas para obtener el floculo de microalga.

La concentración celular se determinó diariamente utilizando una cámara de Neubauer (*Bright-Line[®] Hemacytometer*) y un microscopio compuesto (Nikon Iphaphet-2 YS2).

Figura 9. Cultivo masivo de microalgas en exteriores utilizado para la floculación del alga *Tetraselmis suecica*.



(A) Cultivo de *Tetraselmis suecica* en tanques de lona de 10m³.

Una vez el alga *Tetraselmis suecica* se floculó fue almacenada en recipientes de vidrio de 4 litros y conservadas a una temperatura de 4 ° C para evitar que esta se descomponga (Fig. 10.).

Figura 10. Concentrado de microalgas resultado de la floculación.



4.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIFERENTES DIETAS CON LA ESTABILIZACIÓN DEL pH:

Para el inicio de esta investigación se utilizó recipientes plásticos con una capacidad 4 litros, cada unidad experimental se inoculó con una densidad inicial de 200 rotíferos/ml; provenientes del cultivo en exteriores, previamente cosechados en un balde de 10 litros provisto de aireación, lavados y tratados con formol durante 45 segundos para su utilización.

Para verificar que cada tratamiento empezara con la misma densidad de rotíferos se realiza un conteo, para esto se tomó 1 ml de muestra de rotíferos cosechados con una pipeta y se sirve sobre la placa de Sedgwick Rafter la cual se fijó en el microscopio para ser observado en el objetivo de 10x o 20x, para el conteo de estos es necesario utilizar un fijador, con una pipeta se le agrega a la placa una gota de lugol, se homogeniza la muestra y una vez cesa la actividad de los organismos, se procede a hacer el conteo de toda la placa leyendo la totalidad de los campos con la ayuda de un contador para obtener el total de rotíferos/ml.

Figura 11. Lectura para el conteo de rotíferos en la cámara de Sedgwick Rafter



CENTRO DE INVESTIGACION DE LA ACUICULTURA DE COLOMBIA. Cultivo masivo de rotíferos *Brachionus* sp (En línea).2005 (Citado 03, Junio, 2017). Disponible en: <http://www.ceniagua.org/assets/PDFS/Cultivo%20Marino%20de%20Rotiferos.pdf>

Una vez verificado este se procedió a calcular cuántos mililitros de rotíferos se deben inocular a las unidades experimentales para obtener un total de 200 rotíferos/ml, posteriormente con agua marina filtrada se procedió a llenar los recipientes hasta llegar a un volumen total de 2 litros.

Figura 12. Tratamientos evaluados en el experimento.



Donde T1 *T. suecica* floculada, sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada, con ajuste de pH. T3 Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4 Protein plus + levadura, con ajuste de pH, T5 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T6 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

En total se realizaron 6 tratamientos cada uno con tres Réplicas como se observa en la figura 12, estos fueron:

- **Tratamiento T1:** Microalga *Tetraselmis suecica* floculada, sin ajuste de pH.
- **Tratamiento T2:** Microalga *Tetraselmis suecica* floculada, con ajuste de pH.
- **Tratamiento T3:** Protein plus[®] + levadura, sin ajuste de pH.
- **Tratamiento T4:** Protein plus[®] + levadura, con ajuste de pH.
- **Tratamiento T5:** La mezcla de microalga *T. suecica* floculada + Protein plus[®] + levadura, sin ajuste de pH
- **Tratamiento T6:** La mezcla de microalga *T. suecica* floculada + Protein plus[®] + levadura, con ajuste de pH.

4.4.1. Monitoreo de rotíferos. Diariamente se realizaron dos conteos de rotíferos para ser promediados en cada unidad experimental de los tratamientos sembrados, para estimar la densidad de la población se tomó 0,1 ml de muestra con la pipeta y se sirvió sobre la placa de Sedgwick Rafter, se adicionaba el volumen faltante haciendo una dilución para facilitar el conteo, posteriormente se fijó el objetivo del microscopio en 10x o 20x y se realizó una observación general de los organismos registrando motilidad, presencia de alimento o algas, y de ciliados. Con una pipeta se agregó a la placa una gota de lugol, se homogeniza y una vez cesa la actividad de los organismos, se procedió a hacer el conteo de toda la placa leyendo la totalidad de los campos, registrando el número total de rotíferos y simultáneamente el de aquellos que presentan huevos con un contador y se promedió las lecturas expresándolas como total de rotíferos/ml.

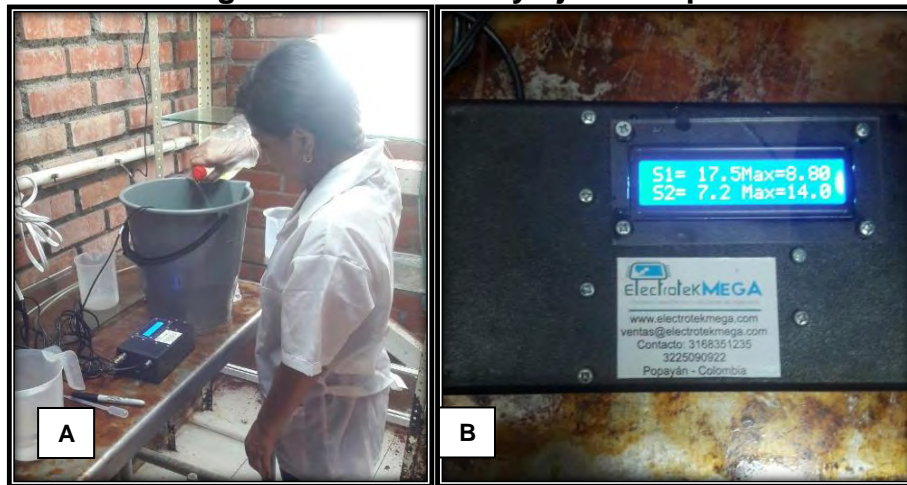
Figura 13. Monitoreo y conteo del cultivo de rotíferos.



4.4.2. Monitoreo de parámetros fisicoquímicos. Se monitoreo y registró diariamente los parámetros de interés tales como temperatura, pH, salinidad. Estos se tomaron 3 veces al día, en horas de la mañana (7:00 a.m.), en horas de la tarde (2:00 p.m.) y en la noche (8:00 p.m.), mediante el uso de un termómetro de vidrio, una Sonda Electrotek Mega para medición de pH (Fig.14 B); y la salinidad empleando un refractómetro marca ATAGO para así poder mantener controladas las condiciones del cultivo.

4.4.3. Ajuste de pH. Una vez se registró el pH se realizó el ajuste adicionando 3 gotas de HCl diluido hasta que el pH alcanzara a un valor cercano a 7 (Fig.14 A) este procedimiento se realizó 3 veces al día con el fin de mantener el pH controlado y ajustado al valor propuesto. (Fig.14). este procedimiento se ejecutó únicamente para los tratamientos T2, T4 y T6.

Figura 14. Monitoreo y ajuste de pH.



(A) Ajuste de pH, (B) Sonda Electrotek Mega para medición de pH

4.4.4. Alimentación. Para la realización del presente trabajo se utilizaron 3 alimentos clasificados en dos categorías: alimentos vivos y alimentos inertes. En la primera categoría se ubica la microalga *T. suecica* floculada y la levadura de cerveza, dentro de la segunda se ubica el alimento formulado Protein plus[®]. La adición del alimento para cada tratamiento se realizó una vez al día en horas de la mañana (9:00 a.m.) suministrando ya sea microalga floculada, Protein plus[®]+ levadura o la mezcla de ambas para los diferentes tratamientos.

Para utilizar el concentrado de *T. suecica* producido mediante la floculación inducida con NaOH se neutralizó el pH y disgrego los flóculos microalgales mediante la adición de agua salada, además antes de utilizarse como alimento en el cultivo de rotíferos, el concentrado se adecuó a la temperatura del cultivo de $26 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$.

En cuanto a la levadura, y el alimento inerte Protein plus[®] se adicionaron de acuerdo a lo establecido por la EABM a razón de 1 gr y 0,1gr por cada millón de rotíferos respectivamente, se pesó, adiciono agua y se mezcló hasta conseguir diluir los alimentos.

4.5. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con sub muestreo y arreglo factorial 2*3 conformado por 6 tratamientos con tres réplicas por tratamiento. Los promedios de las diferentes variables correspondientes a cada réplica (tanques o unidades experimentales) de los diferentes tratamientos que fueron comparados mediante pruebas de análisis de varianza (ANOVA)), ya que cumplían los supuestos de normalidad (Shapiro – Wilk $p>0.05$) y homogeneidad de varianzas (Bartlett, $p>0.05$) e independencia de los errores (Durbin-Watson).

El modelo estadístico empleado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \alpha_j + B_k + (\alpha B)_{jk} + \varepsilon_{ijk} + \eta_s(ijkp)$$

Y_{ij} = Respuesta del tratamiento de alimentación - de la unidad experimental (i, j).

μ = Media general del experimento.

T_j = Efecto del tratamiento de alimentación j – ésimo.

ε_{ijk} = Componente del error aleatorio.

Factor 1: pH

Niveles

0. Sin ajuste de pH

1. Ajuste de pH a 7.0

Factor 2: Dietas

Niveles

0. Alga *Tetraselmis suecica* floculada.

1. Protein plus +levadura.

2. (Alga *Tetraselmis suecica* floculada) + (Protein plus +levadura).

Cuadro 3. Factores y niveles de los tratamientos.

Factor	1	
	Niveles	
2	0	^{T1} 00 ^{T2} 10
	1	^{T3} 01 ^{T4} 11
	2	^{T5} 02 ^{T6} 12

4.5.1. Tratamientos.

- **Tratamiento T1:** Microalga *Tetraselmis suecica* floculada, sin ajuste de pH.
- **Tratamiento T2:** Microalga *Tetraselmis suecica* floculada, con ajuste de pH.
- **Tratamiento T3:** Protein plus + levadura, sin ajuste de pH.
- **Tratamiento T4:** Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

- **Tratamiento T5:** La mezcla de microalga *T. suecica* floculada + Protein plus +levadura, sin ajuste de pH
- **Tratamiento T6:** La mezcla de microalga *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

4.5.2. Variables evaluadas.

4.5.2.1. Tasa de crecimiento simple. El crecimiento de una población, desde un determinado momento en el tiempo “T” es la diferencia entre la población existente al final de dicho periodo de tiempo y la población que había al principio:

$$TCS = \frac{\ln(pf) - \ln(Pi)}{T}$$

Dónde:

Pf población final
Pi población inicial
T tiempo

4.5.2.2. Índice de fertilidad La medición de la fertilidad es importante puesto que permite visualizar el estado fisiológico de la población de rotíferos en un momento dado y es considerada el más importante parámetro poblacional pues permite la constante renovación de cultivos.

$$\frac{N^{\circ} \text{ hembras con huevos}}{N^{\circ} \text{ de hembras totales}}$$

4.5.2.3. Análisis parcial de costos. Es el índice que resulta de dividir los beneficios (flujos efectivos) entre los costos variables, a precios actuales de acuerdo a la siguiente formula.

$$RBC = \frac{B}{C}$$

Dónde:

RBC: Relación beneficio costo.
 B: beneficio.
 C: costo.

5. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.

5.1. CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN DE ROTÍFEROS

El conocimiento previo de los aspectos fundamentales de la biología reproductiva y esencialmente los relacionados con la producción de los rotíferos fueron fundamentales para la replicación masiva.

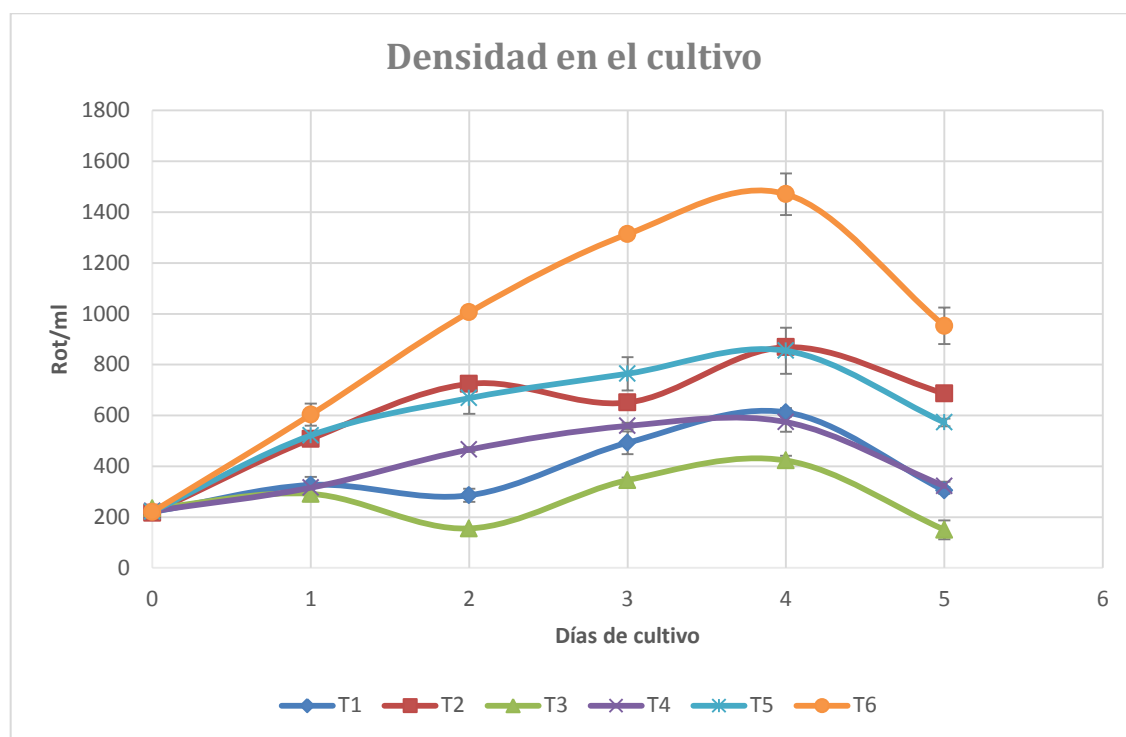
5.1.1. Características del rotífero *Brachionus plicatilis*. Esta especie de rotífero evaluado se caracterizó por ser una especie rústica de gran plasticidad ecológica por soportar amplios intervalos en los parámetros ambientales; con capacidad de admitir diversas alternativas de cultivo; de tamaño pequeño, movimientos suaves, distribución en la columna de agua; ciclo de vida corto, reproducción asexual y sexual, alta velocidad de reproducción, admiten altas densidades de cultivo.

5.2. CRECIMIENTO POBLACIONAL

Para todos los tratamientos se observa un patrón de crecimiento logarítmico continuo hasta el cuarto día de cultivo, en el cual alcanzaron la mayor densidad de rotíferos por unidad de volumen; sin embargo, la densidad disminuyó rápidamente después de haber alcanzado el valor máximo.

La Figura 15 muestra la variación del crecimiento poblacional en el cultivo del rotífero *B. plicatilis* alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH, con resultados que indicaron diferencias entre tratamientos, las comparaciones mostraron que las menores densidades se registraron en los rotíferos alimentados con Protein plus + levadura, sin ajuste de pH ($423 \pm 17,1$ rot/ml) y Protein plus + levadura, con ajuste de pH. ($574 \pm 34,2$ rot/ml), con respecto a los otros tratamientos. Se puede observar también que el mayor crecimiento lo obtuvo el tratamiento T6 donde se suministró la mezcla de microalga *T. suecica* + Protein plus + levadura, acompañado de un ajuste del pH, alcanzando una densidad máxima de $1471 \pm 72,4$ rot/ml. (Ver Anexo A)

Figura 15. Variación del Crecimiento poblacional en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH.

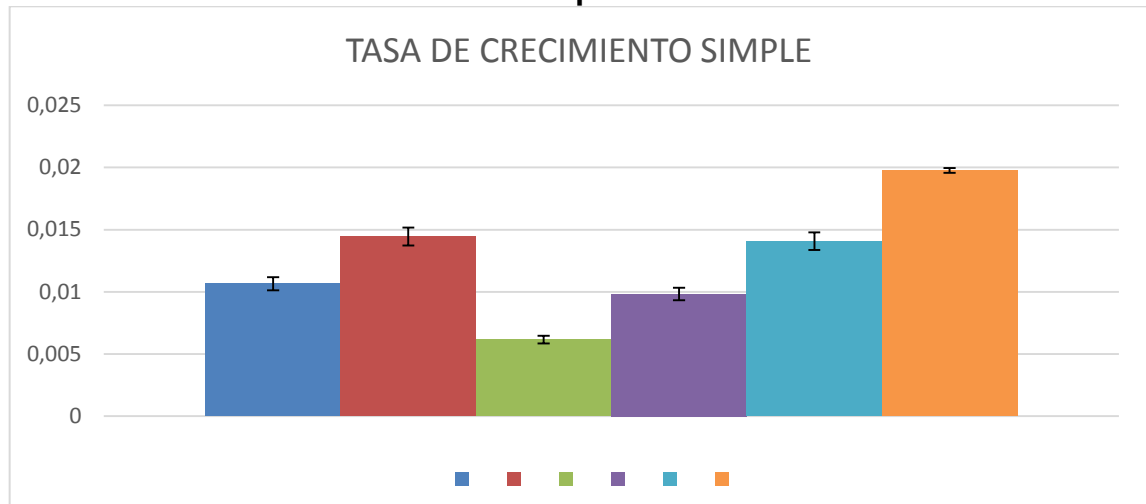


Donde T1 *T. suecica* floculada sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada con ajuste de pH. T3 Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4 Protein plus + levadura, con ajuste de pH, T5 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus +levadura, sin .ajuste de pH, T6 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

5.3. TASA DE CRECIMIENTO SIMPLE

En la Figura 16 se muestran los valores promedio del coeficiente tasa de crecimiento simple para el cultivo de rotíferos alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH durante 5 días de cultivo. El análisis indicó que hubo un efecto significativo de las dietas sobre las tasas de crecimiento de rotíferos resultando estadísticamente diferentes ($P < 0,05$), señalando que el tratamiento alimentado con Protein plus+ levadura, sin ajuste de pH presento la menor tasa de crecimiento simple ($0,0061 \pm 0,0003$ T3), por lo contrario cuando los tratamientos fueron alimentados con *T. suecica* floculada y *T. suecica* floculada + Protein plus+ levadura tanto sin ajuste de pH y con ajuste del pH se obtuvieron las mayores tasas de crecimiento ($0,0144 \pm 0,00039$, $0,0140 \pm 0,0010$, y $0,019 \pm 0,00048$ para T2, T5y T6 respectivamente). Se presentaron tasas de crecimiento simple intermedias en los tratamientos alimentados con *T. suecica* floculada y *T. suecica* floculada + Protein plus+ levadura con ajuste del pH ($0,011 \pm 0,00019$ y $0,0098 \pm 0,0006$ para T1 y T4 respectivamente) sin presentar diferencias estadísticas ($P > 0,05$). (Ver Anexo B)

Figura16. Valores promedio del coeficiente tasa de crecimiento simple para el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH.

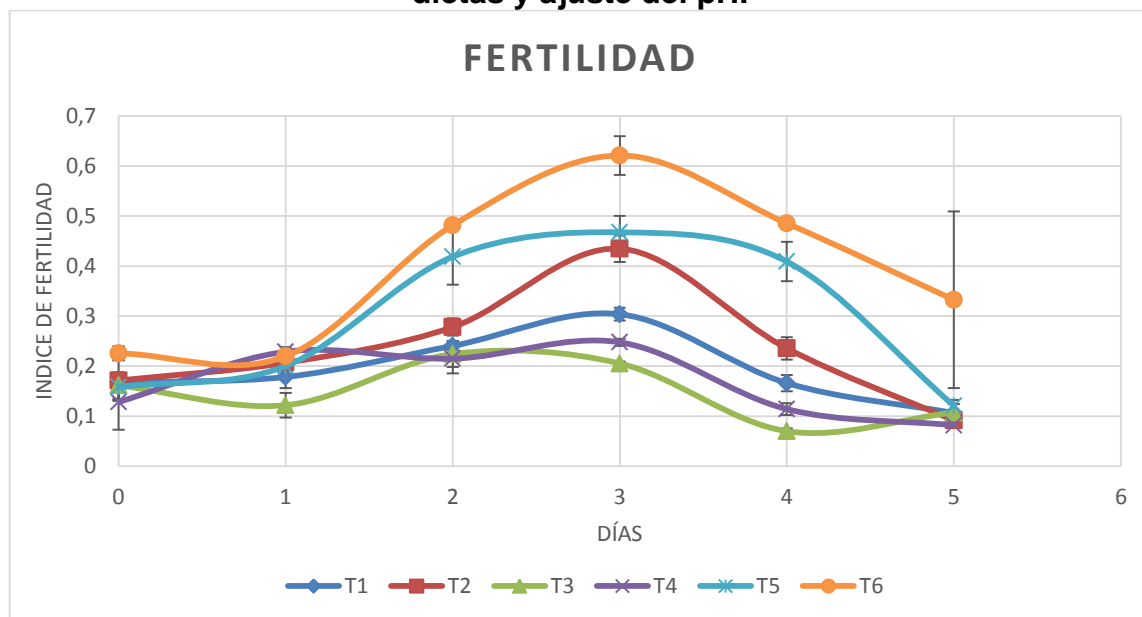


Donde T1 *T. suecica* floculada sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada con ajuste de pH. T3 Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4 Protein plus + levadura, con ajuste de pH, T5 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus +levadura, sin .ajuste de pH, T6 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

5.4. FERTILIDAD

En la figura17, se muestra las fertilidades obtenidas para cada uno de los tratamientos.

Figura 17. Variación del comportamiento de la fertilidad durante el periodo de estudio en el cultivo del rotífero (*B. plicatilis*) alimentado con diferentes dietas y ajuste del pH.



Donde T1 *T. suecica* floculada sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada con ajuste de pH, T3 Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4 Protein plus + levadura, con ajuste de pH, T5 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus +levadura, sin .ajuste de pH, T6 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

Los valores promedio de la fertilidad fueron significativamente diferentes cuando se alimentaron con *T. suecica* floculada (Fig.16.). Las comparaciones indicaron que los valores más bajos se registraron con Protein plus+ levadura, tanto para el tratamiento sin ajuste de pH como para el tratamiento con ajuste de pH ($0,15 \pm 0,059$ y $0,17 \pm 0,069$ para T3 y T4 respectivamente), y *T. suecica* floculada ($0,3 \pm 0,07$) los cuales no presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) mientras que el valor promedio significativamente mayor se obtuvo cuando se suministró *T. suecica* floculada + Protein plus+ levadura sin ajuste y con ajuste de pH ($0,3 \pm 0,15$ y $0,39 \pm 0,16$ para T5 y T6 respectivamente) estadísticamente diferentes ($P > 0,05$). (Ver Anexo C.)

5.4.1. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS.

Parámetros fisicoquímicos en cultivo de rotíferos. El comportamiento de los principales parámetros fisicoquímicos evaluados se mantuvo en los rangos normales para el crecimiento del rotífero *B. plicatilis* durante el transcurso del estudio.

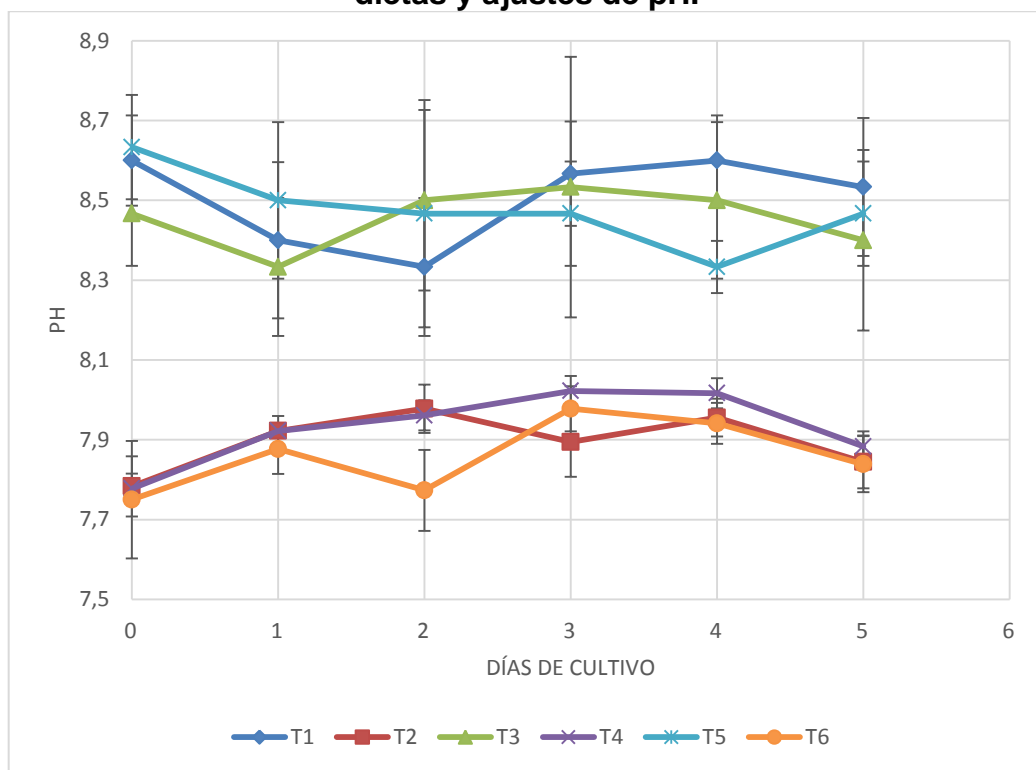
5.4.1. Temperatura. En la figura presente en el Anexo D se observa que la temperatura permaneció estable durante el periodo de estudio para todos los tratamientos sin presentar diferencias estadísticas ($P > 0,05$), manteniéndose en

promedio a $26 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,35^{\circ}\text{C}$, lo cual creó condiciones adecuadas para un mejor crecimiento en el cultivo del rotífero *B. plicatilis*.

5.4.2. Salinidad. Los datos registrados durante el periodo de estudio para todos los tratamientos se encontraron dentro de los rangos óptimos para la producción de *B. Plicatilis* con un promedio $26,4 \pm 0,99$ ppm y no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$). (Anexo E).

5.4.3. pH. Los datos registrados en los tres tratamientos sin ajuste de pH T1, T3 y T5 se mantuvieron estables durante todo el periodo de ensayo, obteniendo un pH promedio de $8,48 \pm 0,09$, en cuanto a los valores para los tratamientos que tuvieron un ajuste de pH se mantuvieron en un rango de pH 7,7 – 7,9 más cercanos a un pH neutro con un promedio $7,9 \pm 0,09$ (Figura. 18.) los valores resultaron estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) entre los grupos con ajuste de pH y sin ajuste de pH. (Anexo F).

Figura 18. Variaciones en el comportamiento del pH durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.



Donde T1 *T. suecica* floculada sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada con ajuste de pH. T3 Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4 Protein plus + levadura, con ajuste de pH, T5 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus +levadura, sin .ajuste de pH, T6 La mezcla de microalga *T. suecica* floculada+ Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

5.5. ANÁLISIS PARCIAL DE COSTOS

Este análisis permitió establecer la viabilidad económica del empleo de cada una de las dietas utilizadas en este ensayo. Como primer paso se definieron los ítems que forman parte de los costos de producción para el cultivo de rotíferos, siendo estos: el consumo eléctrico, alimentos (levadura Protein plus® y microalgas), y mano de obra, en el caso de la producción de microalgas se tomó en cuenta: consumo eléctrico, el medio de cultivo F/2 y mano de obra. Los egresos económicos que se necesitaron realizar en cada etapa del proceso se registraron en una hoja de cálculo y de esta manera se determinó qué porcentaje del costo total de producción de rotíferos correspondía a cada ítem.

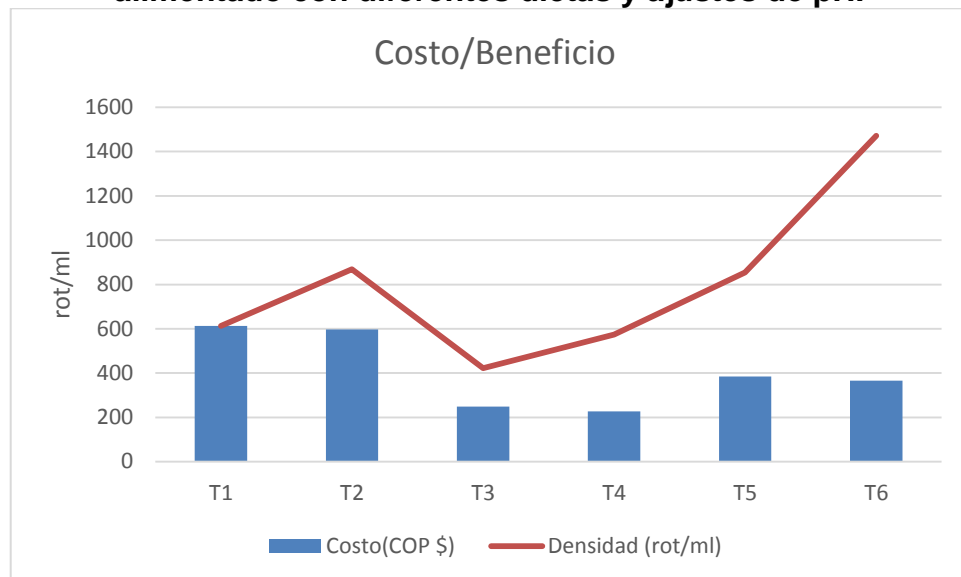
Cuadro 4. Costos parciales de la producción de un millón de rotíferos (*B. plicatilis*) utilizando los diferentes tratamientos.
Costos de los Tratamientos en Pesos Colombianos COP

Ítems	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Energía	19,31	15,45	24,46	19,31	15,45	11,59
Mano de obra	119,05	95,24	150,79	119,05	95,24	71,43
Alga floculada	473,98	473,98	0,00	0,00	236,99	236,99
Protein plus	0,00	0,00	72,00	72,00	36,00	36,00
Levadura	0,00	0,00	2,00	2,00	1,00	1,00
Ajuste pH	0,00	12,26	0,00	15,24	0,00	9,29
Costo	612,34	596,93	249,26	227,60	384,68	366,29

La relación costo/beneficio de la producción de rotíferos recae en el uso de una fuente de alimento económica, además de la relación de esta con el tiempo necesario para obtener una cantidad de rotíferos determinada; los cálculos realizados se basan teniendo en cuenta las instalaciones disponibles por la EABM para la producción de rotíferos.

El análisis realizado muestra los costos parciales de producción de los 6 tratamientos propuestos, los datos obtenidos para cada sistema de producción de rotíferos en la presente investigación se calcularon en base los datos obtenidos durante el periodo de estudio en cada uno de los tratamientos; en el Cuadro 4 se muestran los valores aproximados de los costos para producir un millón de rotíferos por cada tratamiento, para estos se consideró tanto los costos por mano de obra, energía utilizada, alimento suministrado y el proceso de ajuste de pH, teniendo en cuenta el tiempo de cultivo para determinar los costos por comparación. (Ver Anexo G)

Figura 19. Relación entre Costos parciales de la producción de un millón de rotíferos y la densidad poblacional en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.

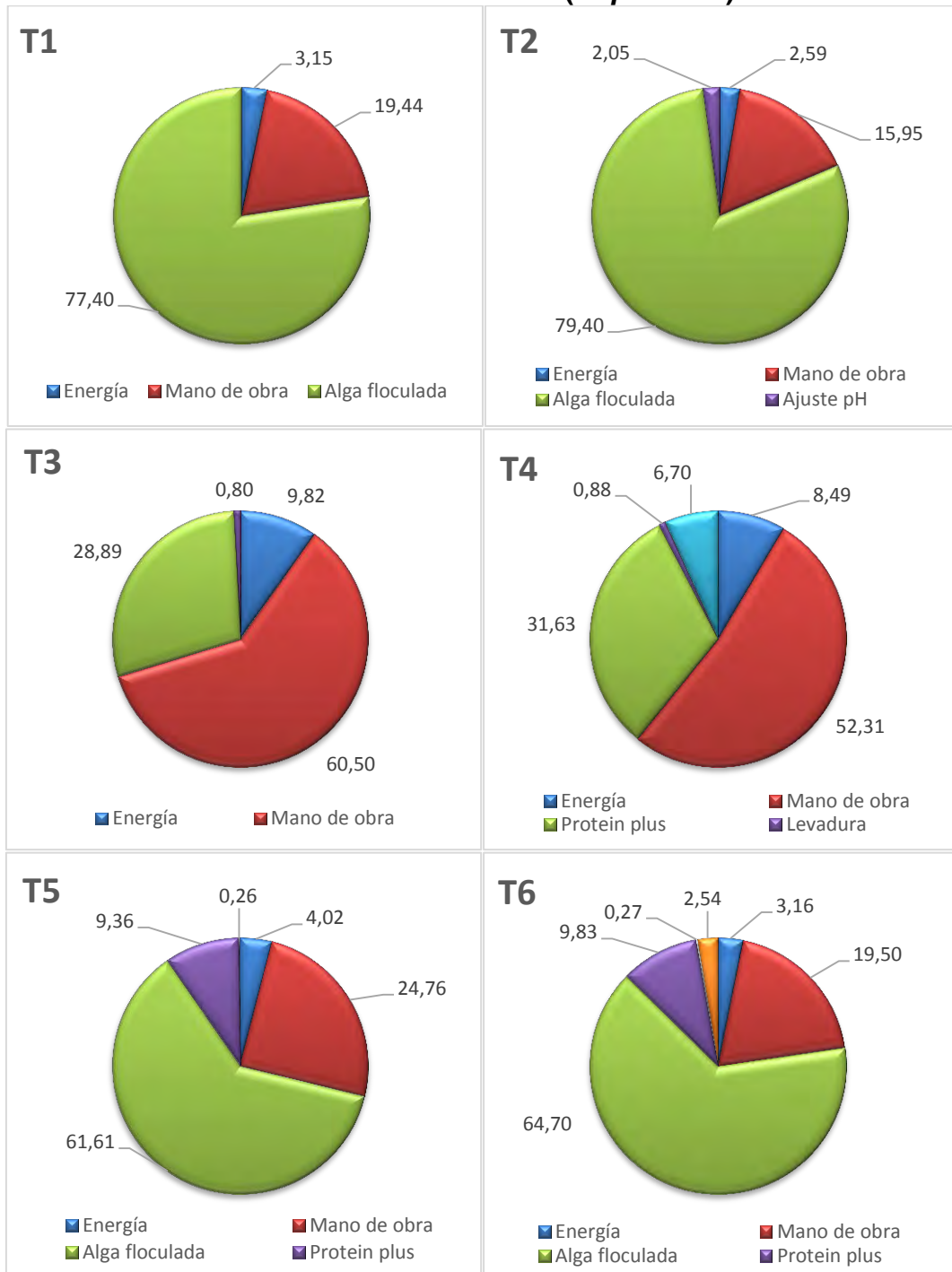


Donde T1: *T. suecica* floculada, sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada, con ajuste de pH. T3: Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4: Protein plus + levadura, con ajuste de pH, T5 *T. suecica* + Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T6 *T. suecica* + Protein plus + levadura, con ajuste de pH.

Como resultado los tratamientos T1 y T2 presentaron los mayores costos de producción con COP\$ 612,34 y COP\$ 596,05 alimentados con *T. suecica* floculada, sin ajuste de pH, y con ajuste de pH respectivamente reflejando beneficios medios en los crecimientos poblacionales 612,3rot/ml y 868,6rot/ml, seguidos por los tratamientos T5 y T6 con costos de producción de COP\$ 384,68 y COP\$ 366,49 con un crecimiento poblacional medio para T5 854,6rot/ml y un alto crecimiento poblacional para T6 1471rot/ml a estos tratamientos se les suministró *T. suecica*+ Protein plus +levadura, sin ajuste de pH, y con ajuste de pH respectivamente, no obstante los menores costos se obtuvieron en los tratamientos 3 y 4 con costos de producción parciales de COP\$ 249,26 y COP\$ 227,6 alimentando con Protein plus + levadura sin ajuste de pH, y con ajuste de pH respectivamente, con los menores crecimientos poblacionales 422,6rot/ml y 574 rot/ml.

Partiendo de los datos anteriores, en la figura 19, se muestra los principales costos que conllevaría la producción de rotíferos bajo los diferentes tratamientos. En el sistema con mayor gasto sería abarcado por la microalga floculada para los tratamientos T1, T2, T5 y T6 77,40%, 79,40%, 61,61%, 64,40% respectivamente y para los tratamientos T3 y T4 correspondería a la mano de obra 60,50% y 52,31% respectivamente.

Figura 20. Variaciones en el costos de producción utilizando los diferentes tratamientos evaluados en esta investigación durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*).



Donde T1 *T. suecica* floculada sin ajuste de pH, T2 *T. suecica* floculada con ajuste de pH. T3: Protein plus + levadura, sin ajuste de pH, T4 Protein plus + levadura con ajuste de pH, T5 *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura, sin .ajuste de pH, T6 *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura, con ajuste de pH

6. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1. CRECIMIENTO POBLACIONAL

Este estudio demuestra claramente que todos los tratamientos a los cuales se les realizó un ajuste de pH tuvieron un mayor crecimiento poblacional a diferencia de los demás tratamientos a los cuales no se les realizó un ajuste de pH; de la misma forma muestra la incidencia del alga en el crecimiento poblacional de los tratamientos a los cuales se les suministró *T. suecica* floculada, presentando mayores densidades que aquellos tratamientos a los cuales se les suministró Protein plus más levadura.

En los resultados se observa que el uso de microalga floculada (*T. suecica*) aumenta el crecimiento poblacional en el cultivo de rotíferos en comparación con la dieta seca que fue suministrada en este ensayo, estos resultados fueron varias veces mayores a los reportados por Guevara³⁹ (316-326 rotíferos/ ml), en cultivos de rotíferos alimentados con pastas de *Rhodomonas salina*, Kobayashi⁴⁰ (500 rotíferos/ml) y Costa⁴¹ (401 rotíferos/ ml), en los cuales las mayores densidades se obtuvieron al suministrar *Nannochloris* sp y Culture Selco® Plus como alimento respectivamente.

La importancia de la utilización de microalgas para la alimentación de los rotíferos refleja que es el aspecto más significativo e influyente directo en el crecimiento poblacional de los cultivos de rotíferos como lo afirma Yin.⁴² Cabe resaltar que los crecimientos en el cultivo de rotíferos indican que las microalgas como la base de la alimentación y su gran diversidad bioquímica es una fuente de gran valor nutricional para los rotíferos, puesto que como menciona Guedes, las microalgas ofrecen un número de ventajas sobre los alimentos secos debido a que son partículas micro encapsuladas naturales delimitadas por una membrana celular que conserva el contenido nutritivo, además contienen una amplia gama de componentes nutricionales, como los aminoácidos esenciales, los PUFA, esteroides, vitaminas, fitopigmentos⁴³, y según El-Sayed, las microalgas brindan

³⁹GUEVARA, M. L.-V. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotífera). *Rev. Biol. Trop.* 4, 2011. p. 59

⁴⁰KOBAYASHI, Op. cit., p. 649-656

⁴¹COSTA, W., FIGUEIREDO, M., CAVALLI, R. and GÁLVEZ, A. Crescimento populacional de rotíferos *Brachionus plicatilis* Müller, 1786, alimentados com microalgas e dieta formulada. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 2008. p.173-178.

⁴²YIN, Op. cit., p. 12462-69.

⁴³GUEDES, A.C. and MALCATA, F.X. « Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture. In: Muchlisin, Z., Ed., .» *Aquaculture, InTech*, 2012: 61-71

componentes que mejoran la digestión y las funciones inmunes además tienen efectos antibacterianos en el cultivo.⁴⁴

En comparación las dietas secas proporcionan un costo bastante bajo y conveniencia por su fácil manejo, pero presentan deficiencias fundamentales. Los rotíferos se alimentan sólo de micro partículas de un tamaño adecuado para el caso de *B. Plicatilis* desde bacterias de 1.4 μm hasta bacterias de 21 μm , siendo el tamaño óptimo entre 8-16 μm ⁴⁵. Es difícil producir alimentos secos con partículas de tamaños uniformes e incluso cuando estas son uniformes pueden estar sujetas a la formación de grumos cuando se dispersan en el agua durante la alimentación. Sin embargo la deficiencia más crítica de los alimentos secos es quizás la rápida filtración de los nutrientes, solubles en agua; mientras más pequeña sea la partícula, más rápido se filtran los nutrientes hacia el agua causando la descomposición de estos, reduciendo la cantidad de oxígeno disuelto, aumentando los detritos y la concentración de amoníaco y como efecto disminuye el crecimiento poblacional la tasa de fertilidad llevando a un cultivo menos eficiente.

A pesar de las muchas ventajas de las microalgas, su uso se ve obstaculizado por los problemas de cultivo, el almacenamiento y los altos costos. El cultivo de las microalgas puede consumir una parte importante de los recursos de una estación acuícola, además que requiere de un equipamiento especial, mano de obra calificada y una gran asignación de espacio, el cual es improductivo durante las temporadas que no son necesarias.

Como lo mencionan Guedes y Støttrup, los métodos de cultivo en estanques abiertos de bajo costo presentan un alto riesgo de contaminación debido a la imposibilidad de controlar estrictamente las condiciones de cultivo, es muy difícil sincronizar la producción de microalgas con los requerimientos de los alimentos vivos para evitar la escasez de alimento o pérdidas de la sobreproducción, también es difícil dosificar el cultivo de algas con precisión. Cabe resaltar que al cosechar, concentrar, congelar y pulverizar las microalgas, estas pueden deteriorarse rápidamente, además las células secas están sujetas a la desnaturalización de la proteína y cuando se rehidratan la lixiviación de sustancias solubles en agua puede agotar rápidamente su valor nutricional, como sucede en otros alimentos secos⁴⁶.

El uso de microalga floculada se proyecta como la mejor solución a estos problemas, este producto demostró ser un alimento eficaz para los rotíferos. La

⁴⁴EL-SAYED, H., IBRAHIM, H., BELTAGY, E., &KHAIRY, H. Effects of short term feeding of some marine microalgae on the microbial profile associated with *Dicentrarchuslabrax* post larvae. *The Egyptian Journal Of Aquatic Research*, 40(3), 2014. 251-260.

⁴⁵STØTTRUP Op. cit., p. 37

⁴⁶GUEDES Y MALCATA Op. cit., p. 61-71,

floculación proporciona una mayor vida útil a la microalga concentrada y preserva la integridad celular y el valor nutricional; según Guevara⁴⁷, la viabilidad como alimento de los concentrados microalgales, sujetos a procesos de floculación y conservación, es atribuido a que no se modifica su composición bioquímica; sin embargo, de acuerdo con Brown & Robert⁴⁸, esto parece depender de la especie, puesto que se encontró aproximadamente la mitad del porcentaje de carbohidratos totales en los concentrados microalgales comparándolos con la microalga fresca. Sin embargo, en las aplicaciones acuícolas la importancia de la reducción de los carbohidratos es limitada debido a que estos compuestos no revisten mayor interés nutricional para la alimentación de rotíferos. La información sobre la composición bioquímica de los concentrados de *T. suecica* por efecto de floculación para fines acuícolas es escasa en comparación con lo realizado para obtención de biodiesel con diferentes especies de microalgas de acuerdo a lo que menciona Rojo Cebberos⁴⁹. Por lo tanto, existe un margen considerable para el desarrollo de técnicas mejoradas de recolección, preservación y almacenamiento de microalgas como el uso de equipos específicos que aumenten su recolección, la aplicación de antioxidantes y otros aditivos así como el uso protocolos de específicos con respecto a luz, temperatura para su conservación.

Se observó que al utilizar *T. suecica* floculada con densidades de biomasa definidas, las algas se pueden dosificar con mayor precisión y en mayores concentraciones en los cultivos, esto representa una ventaja significativa debido a que la tasa de reproducción, la fertilidad y la supervivencia de los rotíferos en cultivos dependen directamente de la concentración del alga como lo menciona Lajonchere y Molejón⁵⁰; además el alga floculada tiene una mayor vida útil por lo que se puede tener un suministro fiable de algas y el manejo del cultivo se realiza con mayor facilidad reduciendo el tiempo en suministrar alimento. Otras ventajas, para las aplicaciones acuícolas de los concentrados obtenidos por este método es que el alto pH de la floculación alcalina, minimiza la carga bacteriana de la biomasa de microalgas, así como la del agua del proceso. Además, al descartar el agua del proceso se minimiza la carga de compuestos y materia orgánica que afectan los cultivos de rotíferos⁵¹.

⁴⁷GUEVARA Op. cit., p. 59

⁴⁸BROWN, M.R. & ROBERT, R. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 207, 2002. p. 289–309.

⁴⁹ROJO CEBREROS, A., MORALES PLASCENCIA, M., IBARRA CASTRO, L., MARTINEZ BROWN, J., & MEDINA JASSO, M. Floculación de *Nannochloropsis* sp. inducida por hidróxido de sodio: eficiencia de floculación, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. *Latin American Journal Of Aquatic Research*, 44(4), 2016 p. 662-670.

⁵⁰LAJONCHERE, L y MOLEJÓN, O. Op. cit. p. 190.

⁵¹HUO, S., WANG, Z., ZHU, S., CUI, F., ZOU, B., & YOU, W. et al. «Optimization of Alkaline Flocculation for Harvesting of *Scenedesmus quadricauda* #507 and *Chaetoceros muelleri* #862.» *Energies*, 7(9), 2014: 6186-6195.

Cabe resaltar que los concentrados de microalgas son producidos de manera comercial en la actualidad y se han utilizado para la alimentación y producción de rotíferos. Roman et al.⁵², evaluaron el efecto de cuatro dietas comerciales (Espirulina, RotiMac®, Nanno 3600®, RotiGrow-Plus®) y la microalga viva *Nannochloropsis* sp, sobre el crecimiento poblacional y fecundidad del rotífero *B. ibericus*, las dietas probadas resultaron adecuadas con tasas de crecimiento, densidades máximas y fecundidades que fluctuaron entre 0.20 a 0.27 rotíferos día⁻¹, 215 a 344 rotíferos mL⁻¹ y de 0.16 a 0.39, respectivamente. Los resultados indicaron que los concentrados microalgales comerciales (Roti Grow y Nanno 3600) pueden ser utilizados como sustitutos para alimentar y producir la cepa de rotíferos estudiada, con resultados más satisfactorios que con *Nannochloropsis* sp; estos concentrados microalgales no son comercializados en América Latina por lo que la producción de concentrados de *T. suecica* puede ser una alternativa viable para la producción de rotíferos debido a los resultados obtenidos en esta investigación.

6.2. TASA DE CRECIMIENTO SIMPLE

Según Malekzadeh et al.⁵³ la tasa de crecimiento simple es una variable que integra, tiempo de desarrollo y reproducción, por lo tanto no es sorprendente que en esta investigación los tipos de dietas utilizados hayan tenido influencia sobre esta variable poblacional de los rotíferos en cada uno de los tratamientos. Suantika, et al.⁵⁴ mencionan que la tasa de crecimiento 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.

Para este estudio, la tasa de crecimiento fue tomado como un índice resolutivo para evaluar la viabilidad de los diferentes tratamientos realizados en esta investigación, los valores promedio obtenidos fluctuaron entre 0,0061 y 0,019 rotíferos/hora, con las mayores tasas de crecimiento en los rotíferos alimentados con *T. Suecica* + Protein plus +levadura con ajuste del pH (0,019± 0,00044, rotíferos/hora Anexo. B.). Las tasas de crecimiento reportadas para las especies del género *Brachionus*, en diferentes condiciones de cultivo, fluctúan entre 0,2 y 1,0, rotíferos/día (0,0083 y 0,0416 rotíferos/hora)⁵⁵. En el presente estudio, los

⁵² ROMAN REYES, J., CASTANEDA RODRIGUEZ, D., Castillo Ureta, H., BOJORQUEZ DOMINGUEZ, R. and RODRIGUEZ MONTES de Oca, G. Dinamica poblacional del rotifero *Brachionus ibericus* aislado de estanques para camaron, alimentado con diferentes dietas. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(5), 2014 p.1159-1168.

⁵³ MALEKZADEH VIAYEH, R., MOHAMMADI, H., & SHAFIEI, A. Population Growth of Six Iranian *Brachionus* Rotifer Strains in Response to Salinity and Food Type. *International Review Of Hydrobiology*, 95(6), 2010, p. 461-470.

⁵⁴ SUANTIKA, G, P DHERT, E SWEETMAN, E O' BRIEN, y P. SORGELOOS. «Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. .» *Aquaculture* 227, 2003. p. 173-189.

⁵⁵ MIRACLE, M., & SERRA, M. Salinity and temperature influence in rotifer life history

valores de la tasa de crecimiento para *B. plicatilis* se encontraron en los rangos aproximados al intervalo reportado en la literatura. Algunos estudios comparables, fueron los realizados por Kostopoulou⁵⁶ con tasas entre 0,18 y 0,30 rot/día⁻¹. Sarma y Nandini⁵⁷ con dos especies de *Brachionus* con valores entre 0,06 y 0,2 día⁻¹; por Hotos⁵⁸ en rotíferos alimentados con microalgas vivas en salinidades de 30 ups, con valores en el intervalo de 0,43 a 0,61 día⁻¹; por Yin y Zhao⁵⁹ quienes estudiaron el crecimiento de seis variedades de *Brachionus plicatilis*, con valores de TC<1,0 día⁻¹, y finalmente por Cisneros⁶⁰ con rotíferos alimentados con diferentes enriquecedores, que obtuvo valores entre 0,02 y 0,38 día⁻¹. Estos autores mencionan que la alimentación así como el estado de la calidad del agua tiene un efecto notable sobre la tasa de crecimiento de los rotíferos.

6.3. FERTILIDAD

Las diferentes dietas utilizadas así como el ajuste de pH tuvieron impacto sobre este indicador; se observaron diferencias en los valores obtenidos del día 0 al 6 en todos los tratamientos, presentándose la mayor fertilidad para el día 3, y posteriormente en el día 4 se reduce significativamente, esto se debe al aumento de la población que sucede tras cada aumento en la fertilidad, llegado el cuarto día las poblaciones llegan al tope en el cultivo, esto aumenta las cantidades de amoníaco y el oxígeno disuelto se reduce decayendo la calidad del agua convirtiéndose en un ambiente adverso para el cultivo.

Los resultados encontrados en esta investigación superan la fertilidad reportada por Kostopoulou⁶¹, en un experimento realizado con una cepa *B. plicatilis*, alimentados con una dieta comercial fabricada a base de algas (Selco® S.parkles), estos autores encontraron valores de 0.30± 0.01. Para el caso de los rotíferos, la fertilidad está estrechamente relacionada tanto con la calidad y cantidad del alimento como con la temperatura y calidad del agua, las fertilidades obtenidas en el tercer día en el cultivo utilizando *T.suecica* floculada + Protein plus + levadura utilizando un ajuste de pH son consideradas como altas y aptas para iniciar un nuevo cultivo de rotíferos.

characteristics. *Hydrobiologia*, 186-187(1), 81-102.

⁵⁶KOSTOPOULOU Op. cit., 1989. p 91-98

⁵⁷SARMA, S., & NANDINI, S. 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 Hydrochimica Et Hydrobiologica*, 30(2-3), 2002. p.128-140.

⁵⁸HOTOS, G. Growth, filtration and ingestion rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella* sp.) celled algal species. *Aquaculture Research*, 34(10), 2003. p. 793-802.

⁵⁹YIN Op. cit., p. 62-69

⁶⁰CISNEROS, R.. Rendimiento Poblacional Del Rotífero Nativo *Brachionus* sp. "Cayman", Utilizando Diferentes Enriquecedores. *Ecología Aplicada*, 10(1-2), p. 2011 99.

⁶¹KOSTOPOULOU, Op. cit., p.91-98.

6.4. pH

Al realizar el ajuste de pH en los diferentes tratamientos, se presentó un aumento en el crecimiento poblacional, fertilidad y tasa de crecimiento simple. Lo anterior demuestra que al utilizar un método no tecnificado como el que se empleó en este estudio, para la adición de ácido clorhídrico (HCl), tuvo incidencia sobre la disminución de NH_3 , lo que mejoraría la calidad del agua, permitiendo brindar las condiciones superiores para el crecimiento del rotífero *B. plicatilis*. Aunque la regulación del pH en los tratamientos T2, T4 y T6 no fue constante presentaron un aumento del rendimiento del cultivo del 42, 36 y 76 % para cada tratamiento respectivamente en comparación con los demás tratamientos a los cuales no se realizó ajuste de pH.

Las variaciones en el pH producidas por la adición de ácido no representan un inconveniente para el rotífero *B. plicatilis* puesto que el rango óptimo de pH para el cultivo es de 7 -8,5 como lo reporta Watanabe⁶² y debido a la extrema importancia de este parámetro por su relación directa con las concentraciones y la toxicidad de NH_3 , se hace necesario un método para reducir los niveles de NH_3 en el cultivo tal y como lo afirma Yoshimura et al⁶³, los cultivos de rotíferos pueden ser afectados por altos valores de amonio y los niveles crecientes de NH_3 en el medio de cultivo, asociados con el crecimiento de la población de rotíferos, tienen un efecto negativo sobre la tasa de crecimiento de *B. plicatilis*, la adición manual y periódica de ácido clorhídrico para regular el pH a 7,0, mantiene la mayoría del nitrógeno amoniacal total como NH_4^+ no tóxico y este método se ha utilizado para cultivar con éxito rotíferos a densidades de 10.000 a 30.000 individuos, usando un controlador de pH automatizado Yoshimuraa et al⁶⁴.

El desarrollo de un sistema de cultivo de rotífero de alta densidad conlleva una disminución del espacio necesario para la producción de rotíferos en grandes cantidades, por métodos convencionales se necesita cerca de 15 litros de cultivo para producir 3 millones de rotíferos de la especie *B. plicatilis*, un nivel común de producción en las estaciones acuícolas. La reducción con las nuevas densidades es cercana al 73%, produciendo la misma cantidad de rotíferos en tan solo un volumen de dos litros, alimentados con *T. suecica* floculada + Protein plus +levadura y ajuste del pH; además reduce el tiempo de manera significativa en el proceso de cosecha de rotíferos, minimizando las pérdidas de la población de forma considerable y aumentando la disponibilidad de estos para su uso.

⁶²WATANABE, Op. cit., p.126

⁶³YOSHIMURAA, Op. cit., p. 165–172

⁶⁴YOSHIMURAA, Ibid. p. 172.

6.5. ANÁLISIS PARCIAL DE COSTOS

El rendimiento económico de una estación acuícola depende en gran medida de la disponibilidad de alimento vivo de calidad, mundialmente en el 2002 la producción de rotíferos sobre pasó la demanda de *Artemia* sp, así por ejemplo en Japón se utilizó hasta 20 billones de rotíferos diarios en la producción de peces marinos y crustáceos. Este incremento ha provocado que los laboratorios hayan tenido que contratar más personal e intensificar la producción, resultando un aumento en los costos como lo afirma Suantika et al.⁶⁵, es por ello que resulta importante experimentar y poner en práctica sistemas más eficientes de producción de rotíferos.

Como aspecto importante, se debe mencionar que estos cálculos se realizaron teniendo en cuenta las instalaciones disponibles por la EABM para la producción de rotíferos, este es otro motivo para hacer los sistemas más eficientes y estables, para así depender de la menor cantidad posible de unidades de cultivo, los tratamientos resultaron viables económicamente, sin embargo el tratamiento T6 puede resultar una buena opción como método de producción, debido a que obtuvo el mayor beneficio productivo con respecto al costo, alcanzando densidades superiores en relación a los otros tratamientos, razón por la cual su uso representaría mayores producciones en la cantidad de rotíferos y podría traer consigo beneficios en la rentabilidad de las estaciones acuícolas.

Los datos obtenidos en los sistemas de producción de rotíferos utilizando los tratamientos planteados en la presente investigación señalan que los tratamientos que utilizan microalga presentan un mayor costo en comparación con los tratamientos a los cuales se les suministro alimento seco, la diferencia en la utilización del tratamiento T6 como mejor sistema de producción radica en la reducción de la cantidad de microalga floculada utilizada (50%) además de esto los ciclos para obtener grandes cantidades de rotíferos serían más cortos, lo que conlleva a ejecutar más cultivos en un mismo periodo de tiempo obteniendo mayores cantidades de rotíferos disponibles para la utilización en la alimentación de larvas de peces provocando aumento en la rentabilidad de las estaciones acuícolas marinas, la obtención de grandes cantidades de rotíferos permite una mayor eficiencia y flexibilidad en el cultivo, además de la reducción en el costo operacional, proporcionando ventajas significativas sobre los métodos tradicionales de cultivo en una situación comercial. La fiabilidad del cultivo también se mejoró mucho al eliminar el manejo frecuente del cultivo requerido para los métodos de cultivo típicos, lo que puede añadir estrés e incrementar las posibilidades de fracaso debido a error humano. En el anexo F se puede observar el desprendimiento detallado de los costos para los tratamientos.

⁶⁵SUANTIKA, Op. cit., p. 173-189

Suantika et al.⁶⁶, en su estudio de factibilidad económica para sistemas de recirculación en rotíferos menciona costos de €0,40 y €0,05 (1.217,77\$COP y 152,22 \$COP) por millón de rotíferos, los costos encontrados en esta investigación se encuentran ubicados por debajo del rango superior 227,6\$-612,34\$. La mayor reducción del costo se debió a una disminución del 70% en la mano de obra, comparándolo con el método de producción anteriormente utilizado por la estación, esto es consistente con lo desarrollado por Suantika et al.⁶⁷, que redujo la mano de obra en un 65% en comparación.

En cuanto a la utilización del ajuste de pH para los tratamientos no representa un gasto significativo, por lo contrario debido a este se presenta una reducción en los costos de mano de obra como anteriormente se menciona, estos tratamientos T2, T4 y T6 tienen mejores rendimientos en la producción lo que conlleva a una mejor relación beneficio/costo. Este comportamiento se observa también con los otros costos, como consumo eléctrico y mano de obra, estos varían para cada uno de los tratamientos, puesto que el tiempo utilizado para producir la misma cantidad de rotíferos es mayor cuanto menor es la densidad poblacional.

Con respecto a la producción de microalgas, el mayor costo de producción correspondió a los insumos utilizados y la mano de obra, puesto que las microalgas requieren de reactivos específicos para su crecimiento y estos presentan un alto costo en el mercado, también requiere de personal calificado porque las microalgas demandan una serie de pasos manuales para su producción. El segundo mayor gasto correspondió al consumo eléctrico, pues las microalgas depende de una variedad de equipos eléctricos para su producción, como lo son: iluminación esto para que la microalga sea capaz de realizar sus procesos normales de fotosíntesis; además necesitan un sistema de aire acondicionado que permite mantener los cultivos dentro del rango de temperaturas de acuerdo a los protocolos establecidos por la EABM 18 a 20 °C y finalmente el sistema de esterilización tanto de agua, vidriería y medio de cultivo.

⁶⁶Ibíd. p. 173-189.

⁶⁷Ibíd. p. 173-189.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. CONCLUSIONES

- La evaluación del crecimiento poblacional y densidades en el cultivo del rotífero marino *Brachionus plicatilis* con ajuste de pH y manejo de diferentes dietas, permitió establecer diferencias significativas en cuanto a estos dos factores, obteniendo el mayor rendimiento en los parámetros poblacionales donde se utilizó una dieta a base de *T. suecica* + Protein plus + levadura, con ajuste de pH.
- El uso de una dieta a base de *T. suecica* + Protein plus + levadura, con ajuste de pH representa una gran ventaja en la producción de rotíferos, debido a que se obtienen grandes cantidades de estos en un menor tiempo además de tener mayor estabilidad, una mejor dinámica de la población, manipulación, manejo y control.
- La utilización de concentrados microalgales para la alimentación de rotíferos cultivados en masa es una alternativa prometedora porque, se suministra de forma eficaz, elimina la necesidad del espacio en los cultivos de microalgas, incrementa el crecimiento y densidad poblacional.
- La fertilidad obtenida en el en el cultivo del rotífero *B. plicatilis* utilizando *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura con un ajuste de pH es considerada como alta ($0,39 \pm 0,16$) y apta para el cultivo de rotíferos.
- Le relación beneficio-costos al aplicar las dietas *T. suecica* floculada, Protein plus + levadura y *T. suecica* floculada + Protein plus + levadura, en asociación con el ajuste de pH resultaron viables, siendo el tratamiento T6 la mejor opción como método de cultivo con mayor beneficio productivo con respecto al costo,
- El ajuste de pH en el cultivo mostró una evolución notable en cuanto a las densidades poblacionales obtenidas, además es una técnica eficaz, económica y de fácil manejo e implementación en el cultivo de rotíferos y las variaciones en el pH producidas no representan un inconveniente para el rotífero *B. plicatilis* por lo que se puede utilizar como un elemento constante en la producción de rotíferos.
- El concentrado microalgal obtenido fue adecuado como alimento para rotíferos confirmando que como agente floculante único, el NaOH es conveniente para producir concentrados de *T.suecica*.

7.2. RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis bromatológico del rotífero marino *Brachionus plicatilis* con el fin de determinar su composición nutricional y su contenido de ácidos grasos al ser alimentado con las dietas utilizadas.
- Realizar un estudio que permita evaluar la factibilidad técnica y económica al suministrar las diferentes dietas bajo ajuste de pH en cultivos de rotíferos a mayor escala.
- Evaluar los diferentes concentrados a base de microalgas que se encuentran disponibles en los mercados internacionales como métodos alternativos para la producción de rotíferos.
- Emplear hidróxido de sodio (NaOH) como método simple, práctico y de bajo costo para producir concentrados de *T. suecica* con fines acuícolas debido a que el concentrado microalgal obtenido fue adecuado como alimento para rotíferos.
- Efectuar un análisis bromatológico al concentrado microalgal para determinar la calidad celular del alga *T. suecica*, al emplear el hidróxido de sodio como agente floculante.
- Implementar el uso de *T. suecica* + Protein plus + levadura, con ajuste de pH en cultivos a mayor escala, en la alimentación de *B. plicatilis* con el fin de mejorar los parámetros poblacionales y la obtención de mayores cantidades de rotíferos.
- Usar *T. suecica* + Protein plus + levadura, con ajuste de pH en la alimentación del rotífero marino *B. plicatilis* para aumentar las producciones y obtener mayores beneficios.
-

8. BIBLIOGRAFÍA

ALLAN, G. and BURNELL, G. (n.d.). «Advances in aquaculture hatchery technology.» s.f.

ALVAREZ- LANJONCHERE, L. Y HERNANDEZ Molejón, O.G. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. . *Publicado por World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 2001.*: 424.

ARIAS-LIZÁRRAGA, Dulce María, y MÉNDEZ-GÓMEZ Evaristo. Remoción de sólidos en aguas residuales de l a industria harinera de pescado empleando biopolímeros. *Tecnología y Ciencias del Agua, 2014*: 115-123.

BOTERO-ARANGO, J. Reproducción artificial de peces marinos. *Reproducción de peces en el trópico. Bogotá: Instituto colombiano de Desarrollo Rural INCODER - Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia, 2005.* : p. 203.

BROWN, M.R. & ROBERT, R. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture, 207, 2002.* p. 289–309.

CANO, Amado. *Cultivo de larvas de pargo de la mancha Lutjanus guttatus utilizando rotíferos cultivados y colectados en estanques.* República de Panamá: s.n.e., 1997. p. 128., 1997.

CENTRO DE INVESTIGACION DE LA ACUICULTURA DE COLOMBIA. Cultivo masivo de rotíferos *Brachionus* sp (En línea).2005 (Citado 03, Junio, 2017). Disponible en: <http://www.ceniagua.org/assets/PDFS/Cultivo%20Marino%20de%20Rotiferos.pdf>.

CISNEROS, R.. Rendimiento Poblacional Del Rotífero Nativo *Brachionus* sp. “Cayman”, Utilizando Diferentes Enriquecedores. *Ecología Aplicada, 10(1-2)*, p. 2011 99.

COSTA, W., FIGUEIREDO, M., CAVALLI, R. and GÁLVEZ, A. Crescimento populacional de rotíferos *Brachionus plicatilis* Müller, 1786, alimentados com microalgas e dieta formulada. *Brazilian Journal of Agriculture Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 2008*: 173-178.

DHERT, P., ROMBAUT, G., SUANTIKA, G. and Sorgeloos, P. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture, 200(1-2)*, 2001. p.129-146.

DHONT, J., DIERCKENS, K., STØTTRUP, J., Van Stappen, G., Wille, M., & Sorgeloos, P. Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In G. Allen (Ed.). En *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*, de J., Dierckens, K., Støttrup, J., Van Stappen, G., Wille, M., & Sorgeloos, P Dhont, 690. Cambridge: Woodhead Publishing (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; No. 242), 2013.

EL-SAYED, H., IBRAHIM, H., BELTAGY, E., & KHAIRY, H. Effects of short term feeding of some marine microalgae on the microbial profile associated with *Dicentrarchus labrax* post larvae. *The Egyptian Journal Of Aquatic Research*, 40(3), 2014: 251-260.

FAO (2003), la producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura, . *Deposito de documentos de la FAO, producido por: departamento de pesca. 4 p. disponible en internet: <http://www.fao.org/3/contents/36ec64d7-d6e7-52c3-8d43-dc199945d143/AB>, 2003 : p.4.*

GUEDES, A.C. and MALCATA, F.X. Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture. In: Muchlisin, Z., Ed., . *Aquaculture, InTech*, 2012: 61-71.

GUEVARA, M., L. BASTARDO, R. CORTEZ, B. ARREDONDO-Vega, L. Romero & P. GÓMEZ. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Rev. Biol. Trop.* 4, 2011: 59(4).

HOFF, F. and SNELL, T. Plankton culture manual. 1st ed. Dade City, Fla: Florida Acqua Farms. 2008. p. 58-62

HUO, S., WANG, Z., ZHU, S., CUI, F., Zou, B., & You, W. et al. Optimization of Alkaline Flocculation for Harvesting of *Scenedesmus quadricauda* #507 and *Chaetoceros muelleri* #862. *Energies*, 7(9)., 2014: 6186-6195.

HOTOS, G. Growth, filtration and ingestion rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella* sp.) celled algal species. *Aquaculture Research*, 34(10), 2003. p. 793-802.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO {En línea}. {Consultado junio 2017}. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getdoc/3afe60d1-e0ee-4b3a-97bf-8f13287c4691/Estacion-de-acuicultura-marina-de-Bahia-Malaga.aspx>

JEEJA, P. K., I. Joseph & R. P. Raj.. Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. *Indian J. Fish.*, 2011: 58: 59-65.

GAMBOA Hernando, Juan., y VALVERDE. Aspectos básicos para la reproducción inducida del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*, Steindachner, 1869). *Reproducción de peces en el trópico*, 2005: 231.

KINNE O Cultivation of animals, THEILACKER GH, DORSEY K Larval fish diversity, Citados por YOSHIMATSU, T., & HOSSAIN, M. Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. *Aquaculture International*, 22(5), 2014. p.1587-1603.

KOBAYASHI, T., NAGASE T., HINO A., y. TAKEUCHI T. «Effect of combination feeding of *Nannochloropsis* and freshwater *Chlorella* on the fatty acid composition of rotifer *Brachionus plicatilis* in a continuous culture.» *Fisheries Science* 74:, 2008: 649-656.

KOSTOPOULOU, V., M. J. CARMONA & P. DIVANACH. The rotifer *Brachionus plicatilis*: an emerging bio-tool for numerous applications. *J. Biol. Res.-Thessalon*, 17, 2012: 97-112.

KOSTOPOULOU, V., VASILAKIS, M. and DIVANACH, P. Semi-continuous mass culture of rotifers (*Brachionus plicatilis*) using an automatic feeder. *Aquaculture Research*, 43(1), 2011: pp.91-98.

LAJONCHÈRE, Luís y HERNÁNDEZ, Olga. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: Diseño, Operación y Tecnologías.» *Universidad Autónoma de Tabasco*, 1994.: p. 424.

LUBZENS E, ZMORA O. Production and Nutritional value of rotifers. En Live feeds in marine aquaculture. 2003. Støttrup JG, McEvoy LA (Ed); p. 17 – 64

MALEKZADEH VIAYEH, R., MOHAMMADI, H., & SHAFIEI, A. Population Growth of Six Iranian *Brachionus* Rotifer Strains in Response to Salinity and Food Type. *International Review Of Hydrobiology*, 95(6), 2010, p. 461-470.

MIRACLE, M., & SERRA, M. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 186-187(1), 81-102.

MORENO, Mónica, y. QUIROZ Carlos. Evaluación de dietas a base de copépodos y rotíferos en el crecimiento y sobrevivencia de larvas de Pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus* Steidachner, 1869, en la estación acuícola Bahía Malaga – Ica, Buenaventura, Colombia. Un. s.f.

MÜLLER, O. F. *Animacula Infusoria fluviatilia et marina, quae detexit, systematice descripsit et ad vivum delineari curativ... sistit opus hoc posthumum quod cum tabulis aenis L. in lucem tradit vidua ejus nobilissima, cura Othonis Fabricii. Hauniaae. s.f.*

ÖNAL, U., Ý. ÇELIK & S. ERGÜN. The performance of a small-scale, high-density, continuous system for culturing the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 34: 2010 187-195.

PASCUAL, E. y YÚFERA, M. Alimentación en el cultivo larvario de peces marinos. (En línea).1987 (Citado 03, Junio, 2017). Disponible en: http://digital.csic.es/bitstream/10261/47151/1/Pascual_y_Yufera_1987.pdf

PRIETO, Martha, Fabio CASTAÑO, Juan SIERRA, y Priscila y BOTERO Julián. LOGATO. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y Mesocosmos. *Revista MVZ córdoba. Vol. 11 11, nº 1 2006*: p. 31.

PRO AQUA México | Proveedor de Insumos Acuícolas, S.A. de C.V. (2017). *Algamac Protein Plus (Kg) [Bolsa]*. [online] Available at: <http://www.proaqua.mx/algamac-protein-plus-kg-biomarine/> [Accessed 3 Jun. 2017].

ROJO CEBREROS, A., MORALES PLASCENCIA, M., IBARRA CASTRO, L., MARTINEZ BROWN, J., & MEDINA JASSO, M. Flocculation de *Nannochloropsis* sp. inducida por hidróxido de sodio: eficiencia de flocculation, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. *Latin American Journal Of Aquatic Research* 44(4), 2016: p.662-670.

ROMAN REYES, J., CASTANEDA RODRIGUEZ, D., CASTILLO URETA, H., BOJORQUEZ DOMINGUEZ, R. and RODRIGUEZ MONTES de Oca, G. Dinámica poblacional del rotífero *Brachionus ibericus* aislado de estanques para camarón, alimentado con diferentes dietas. 2014.

ROMBAUT, G., DHERT, Ph., VANDENBERGHE, J., VERSCHUERE, L., SORGELOOS, P. & VERSTRAETE, W. Selection of bacteria enhancing the growth rate of axenically hatched rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 176., 2001: p.195–207.

ROMERO, Teresita, y FERRÁN G. Cristina FLOCULACIÓN DE *Chlorella* sp. CON LA UTILIZACIÓN DE QUITOSANA. *Rev. Invest. Mar.*, 2001: 57-62.

SARMA, S., & NANDINI, S. 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 Hydrochimica Et Hydrobiologica*, 30(2-3), 2002. p.128-140.

SOSA-FRAGOSO, G A. Consideraciones y Necesidades de Producción de Alimento Vivo en la Acuicultura Veracruzana. *Revista de los Acuicultores Veracruzanos.*, Veracruz, 2007, : p 3.

SRIVASTAVA, A., K. HAMRE, J. STOSS, R. CHAKRABARTI & S. K. TONHEIM. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): with emphasis on the water soluble fraction. En *Aquaculture*, 254, 2006.:p. 534-543. .

STØTTRUP, J. and McEvoy, L. *Live feeds in marine aquaculture*. Vol. 1st ed. Oxford, Oxford: John Wiley & Sons.: UK: Blackwell Science, 2008.

SUANTIKA, G, DHERT, P. Sweetman E, E O' Brien, y P. Sorgeloos. Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. .En *Aquaculture* 227, 2003. p.173-189.

SUANTIKA, G; DHERT, P; MURHUDAH M; SORGELOOS, P. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: 104 consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. *Aquacultural engineering* 21 (3) 2000 p.:201-214

UFSCAR.BR. (2017). *Sist.* [online] Available at:. 18 de Marzo de 2017. <http://www.ufscar.br/~limno/Teor/Sist.html>.

VELEZ, Antonio. Producción de alimento vivo para hatchery de peces marino. En *Conferencia Internacional Aqua Sur Chile*, Marzo 2002.

W, WATANABE, E ELLIS, S ELLIS, y J and MANFREDI, C. CHAVES. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. *Journal World aquaculture. Soc. Vol. 29.*, 1998.: p .176-187.

WATANABE, T. Nutritional quality of living feeds used in seed production of fish. Proc. 7th Japan-Soviet Joint Symp. *Aquaculture center.*, 1979. p.187.

WATANABE, T., y C. and FUJITA. KITAJIMA. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: *Japan: Aquaculture center*, 1983.

YIN, X. W., W. W. MIN, H. J. LIN & W. Chen. Population dynamics, protein content, and lipid composition of *Brachionus plicatilis* fed artificial macroalgal detritus and *Nannochloropsis* sp. diets. *Aquaculture. Aquaculture* , 2013: p.380-383: p.62-69. .

YOSHIMURA, K., KITAJIMA, C., MIYAMOTO, Y., KISHIMOTO, G. *Factors inhibiting growth of the rotifer Brachionus plicatilis in high-density cultivation by feeding condensed Chlorella*. Nippon Suisan Gakkaish, 1994.

YOSHIMURAA Kenji Tanakab., YOSHIMATSU, Takao. A novel culture system for the ultra-high-density production of the rotifer, *Brachionus rotundiformis*—a preliminary report. *Aquaculture* 227, 2003: 165–172.

ZHOU, W., GAO, L., CHENG, W., CHEN, L., WANG, J., WANG, H., ZHANG, W. and Liu, T. Electro-flotation of *Chlorella* sp. assisted with flocculation by chitosan. *Algal Research*, 18,, 2016: p. 7-14.

ANEXOS

Anexo A. Resultados promedio de las densidades poblacionales del cultivo de rotíferos *B. plicatilis* durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH

Días de cultivo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	220	217	234	224	221	221
1	327	508	292	316	522	603
2	286	724	155	466	668	1006
3	493	651	345	559	764	1314
4	612	869	423	574	855	1471
5	305	687	150	322	573	953

Anexo B. Tasa de crecimiento simple del cultivo de rotíferos *B. plicatilis* durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH

Tasa de crecimiento simple						
Días de cultivo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	0,39	0,85	0,22	0,35	0,86	1,01
1	-0,1	0,36	-0,6	0,39	0,25	0,51
2	0,54	-0,1	0,8	0,18	0,13	0,27
3	0,22	0,29	0,2	0,03	0,11	0,11
Promedio	0,26	0,35	0,15	0,24	0,34	0,47

Anexo C. Resultados del comportamiento de la fertilidad del rotíferos *B. plicatilis* durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas y ajustes de pH

Tratamientos

Días de cultivo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	0,16	0,17	0,16	0,15	0,16	0,23
1	0,18	0,14	0,13	0,23	0,20	0,22
2	0,24	0,28	0,23	0,22	0,42	0,48
3	0,30	0,43	0,21	0,32	0,47	0,62
4	0,17	0,24	0,07	0,13	0,41	0,49
5	0,11	0,09	0,11	0,11	0,12	0,33
Promedio	0,19	0,22	0,15	0,19	0,30	0,39

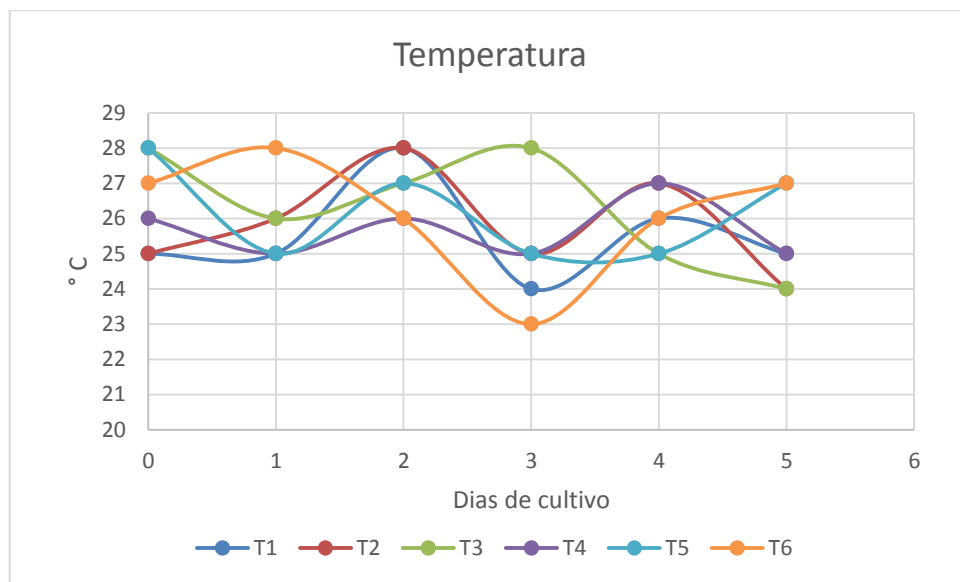
Tratamientos

Día	Replica	T1		T2		T3		T4		T5		T5	
		Hembras	Hembras Ovadas	Hembras	Hembras Ovadas	Hembras	Hembras Ovadas	Hembras	Hembras Ovadas	Hembras	Hembras Ovadas	Hembras	Hembras Ovadas
0	1	180	28	179	35	178	24	176	25	192	32	194	42
	2	180	27	180	31	164	28	184	22	196	26	195	43
	3	171	29	178	24	174	31	173	30	194	34	196	47
1	1	332	54	443	99	281	41	256	57	446,4	93	529	120
	2	326	56	443		282	33	265	61	451	80	525	111
	3	289	58	455	91	271	35	284	64	474	102	590	130
2	1	197	49	675	199	100	25	427	92	600	284	852	412
	2	234	56	660	181	117	26	432	89	616	250	854	413
	3	240	56	653	173	108	22	405	99	563	212	895	427
3	1	384	112	531	227	270	56	502	122	744	361	1110	647
	2	380	116	558	232	282	57	526	129	741	358	1125	710
	3	439	138	510	235	294	61	294	137	682	296	1162	754
4	1	548	82	878	193	344	26	543	63	882	366	1753	843
	2	516	89	865	198	327	22	526	68	854	376	1582	759
	3	544	96	795	205	357	24	538	74	796	296	1814	899
5	1	293	32	764	73	160	15	284	26	601	79	962	153
	2	314	28	695	64	97	13	248	29	577	64	889	335
	3	315	38	680	59	115	11	267	32	574	69	1020	471

Anexo D. Variaciones en el comportamiento de la temperatura durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH.

Temperatura °C

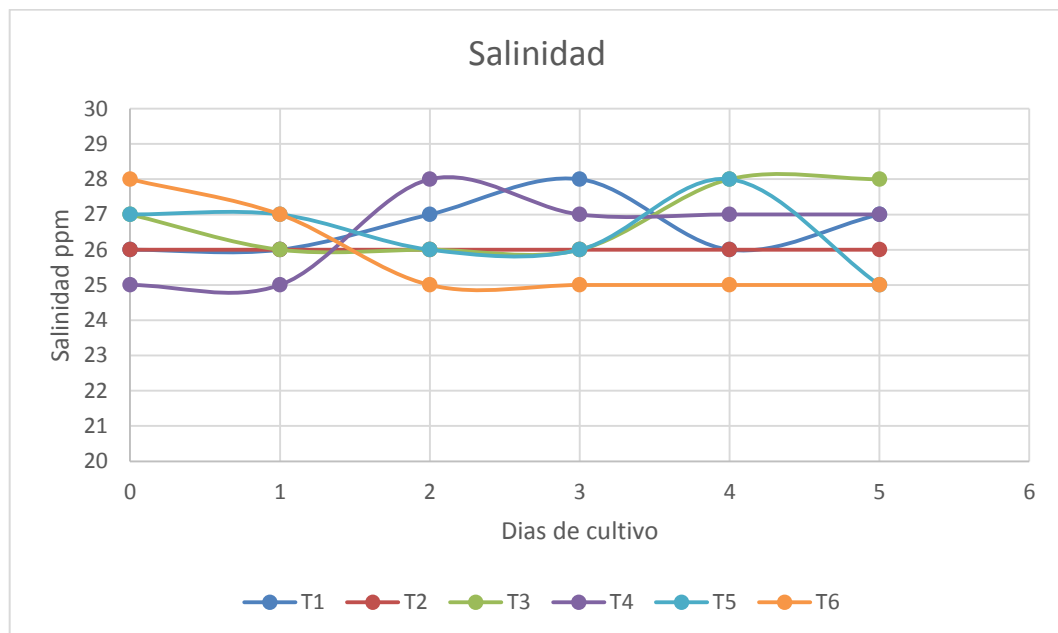
Días	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	25	25	28	26	28	27
1	25	26	26	28	25	28
2	28	28	27	26	27	26
3	24	25	28	25	24	24
4	26	27	25	27	25	26
5	25	24	24	25	27	27



Anexo E. Variaciones en el comportamiento de la salinidad durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH

Temperatura °C

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	26	26	27	25	27	28
1	26	26	26	25	27	27
2	27	26	26	28	26	25
3	28	26	26	27	26	25
4	26	26	28	27	28	25
5	27	26	28	27	25	25



Anexo F. Variaciones en el comportamiento del pH durante el periodo de estudio en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentado con diferentes dietas y ajustes de pH

		Tratamientos					
Dias	replica	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	1	8,6	7,8	8,6	7,9	8,5	7,7
	2	8,7	7,9	8,4	7,9	8,7	7,7
	3	8,5	7,7	8,4	7,6	8,7	7,9
1	1	8,5	7,9	8,3	7,9	8,4	7,9
	2	8,2	7,9	8,5	7,9	8,4	7,9
	3	8,5	7,9	8,2	7,9	8,7	7,8
2	1	8,3	7,9	8,7	7,9	8,7	7,7
	2	8,2	8,0	8,5	8,0	8,2	7,8
	3	8,5	8,0	8,3	8,0	8,5	7,8
3	1	8,7	7,9	8,7	8,1	8,4	8,0
	2	8,5	8,0	8,2	8,0	8,6	7,9
	3	8,5	7,9	8,7	8,1	8,4	8,0
4	1	8,5	8,0	8,7	8,1	8,3	8,0
	2	8,6	7,9	8,4	8,0	8,3	8,0
	3	8,7	8,0	8,4	8,0	8,3	7,9
5	1	8,5	7,9	8,6	7,9	8,4	7,9
	2	8,4	7,8	8,4	7,9	8,4	7,8
	3	8,7	7,9	8,2	7,8	8,6	7,8

Anexo G. Costos variables en cultivos a gran escala de rotíferos (*B. plicatilis*) utilizando los diferentes tratamientos realizados en el estudio.

T	Detalle	Unidad	Valor Unitario en COP\$	Cantidad de Unidades	Valor total por detalle en COP\$	Total por Tratamiento en COP\$	Valor /millón de rotíferos	Porcentaje de cada detalle %	Total %
1	Energía	kW/H	541,0	299,89	162241,57	5143665,23	612,34	3,15	100
	Mano de obra	Horas	8333,4	120,00	1000008,00			19,44	
	Alga floculada	Litros	47624,0	83,60	3981415,65			77,40	
2	Energía	kW/H	541,0	239,91	129793,26	5014216,11	596,93	2,59	100
	Mano de obra	Horas	8333,4	96,00	800006,40			15,95	
	Alga floculada	Litros	47624,0	83,60	3981415,65			79,40	
					103000,80			2,05	
3	Energía	kW/H	541,0	379,86	205505,99	2093782,79	249,26	9,82	100
	Mano de obra	Horas	8333,4	152,00	1266676,80			60,50	
	Protein plus	Kg	72000,0	8,40	604800,00			28,89	
	Levadura	Kg	20000,0	0,84	16800,00			0,80	
4	Energía	kW/H	541,0	299,89	162241,57	1911850,57	227,60	8,49	100
	Mano de obra	Horas	8333,4	120,00	1000008,00			52,31	
	Protein plus	Kg	72000,0	8,40	604800,00			31,63	
	Levadura	Kg	20000,0	0,84	16800,00			0,88	
					128001,00			6,70	
5	Energía	kW/H	541,0	239,91	129793,26	3231307,48	384,68	4,02	100
	Mano de obra	Horas	8333,4	96,00	800006,40			24,76	
	Alga floculada	Litros	47624,0	41,80	1990707,83			61,61	
	Protein plus	Kg	72000,0	4,20	302400,00			9,36	
	Levadura	Kg	20000,0	0,42	8400,00			0,26	
6	Energía	kW/H	541,0	179,94	97344,94	3076858,17	366,29	3,16	100
	Mano de obra	Horas	8333,4	72,00	600004,80			19,50	
	Alga floculada	Litros	47624,0	41,80	1990707,83			64,70	
	Protein plus	Kg	72000,0	4,20	302400,00			9,83	
	Levadura	Kg	20000,0	0,42	8400,00			0,27	
	Ajuste de ph	0	0,0	0,00	78000,60			2,54	

Anexo H. Resultados promedio de las densidades poblacionales del cultivo de rotíferos *B. plicatilis* durante el periodo de estudio alimentados con diferentes dietas para cada una de las unidades experimentales.

Día	T1 R1	T1 R2	T1 R3	T2 R1	T2 R2	T2 R3	T3 R1	T3 R2	T3 R3	T4 R1	T4 R2	T4 R3	T5 R1	T5 R2	T5 R3	T6 R1	T6 R2	T6 R3
0	225	218	218	221	217	214	230	235	238	218	224	229	221	218	225	222	221	220
1	344	342	295	510	507	506	298	313	264	306	304	338	517	514	534	590	573	647
2	259	298	301	730	726	718	151	163	153	462	475	460	680	716	609	1009	995	1014
3	473	467	539	644	667	642	340	340	356	556	572	550	797	799	698	1298	1323	1320
4	622	595	620	861	847	898	417	410	442	594	535	594	906	896	762	1496	1390	1528
5	295	302	318	708	686	667	187	124	141	313	314	344	563	588	567	959	887	1013

Anexo I Pruebas estadísticas para la variable Tasa de crecimiento simple

Estimados de Localización		Estimados de Escala	
Media muestral	0,0052698	Desviación estd. muestral	0,0202593
Mediana muestral	0,007735	DAM/0.6745	0,0162046
Media recortada	0,0062913	Sbi	0,0202901
Media Winsorizada	0,0052409	Sigma Winsorizada	0,0207791
Recorte: 15,0%			

Intervalos de confianza del 95,0% para la media

	Límite Inferior	Límite Superior
Estándar	0,0010266	0,00951301
Winsorizada	5,041E-05	0,0104314

Valores Ordenados

		Valores Estudentizados	Valores Estudentizados	Modificados
Fila	Valor	Sin Supresión	Con Supresión	Valor-Z DAM
40	-0,04995	-2,72566	-2,86431	-3,55979
45	-0,04775	-2,61706	-2,74035	-3,42403
35	-0,03337	-1,90727	-1,95874	-2,53663
5	-0,03108	-1,79423	-1,8381	-2,39531
10	-0,02832	-1,658	-1,69384	-2,22499
...				
26	0,03595	1,51438	1,543	1,74117
71	0,03601	1,51734	1,5461	1,74488
81	0,0397	1,69948	1,73764	1,97259
76	0,04079	1,75328	1,79461	2,03985

Resumen Estadístico para Población

Recuento	90
Desviación estándar	0,0202593
Coef. de variación	384,442%
Mínimo	-0,04995
Máximo	0,04504
Rango	0,09499
Cuartil superior	0,01616
Sesgo estandarizado	-1,7689
Curtosis estandarizada	0,0804928

Pruebas de Normalidad

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Chi-Cuadrado	40,8444	0,00390036
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,954274	0,011401
Valor-Z para asimetría	1,26894	0,20446

Verificación de Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
de Bartlett	1,09875	0,173747

<i>Comparación</i>	<i>Sigma1</i>	<i>Sigma2</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
1 / 2	0,0193974	0,0165596	1,3721	0,5618
1 / 3	0,0193974	0,0287301	0,45584	0,1538
1 / 4	0,0193974	0,0152112	1,62615	0,3739
1 / 5	0,0193974	0,0174305	1,23842	0,6946
1 / 6	0,0193974	0,0204575	0,899047	0,8450
2 / 3	0,0165596	0,0287301	0,33222	0,0479
2 / 4	0,0165596	0,0152112	1,18515	0,7550
2 / 5	0,0165596	0,0174305	0,902569	0,8506
2 / 6	0,0165596	0,0204575	0,655234	0,4389
3 / 4	0,0287301	0,0152112	3,56738	0,0234
3 / 5	0,0287301	0,0174305	2,71678	0,0717
3 / 6	0,0287301	0,0204575	1,97229	0,2162
4 / 5	0,0152112	0,0174305	0,761562	0,6172
4 / 6	0,0152112	0,0204575	0,552868	0,2795
5 / 6	0,0174305	0,0204575	0,725965	0,5570

P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 2, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.

Análisis de Varianza para Población

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,00255655	17	0,000150385	0,32	0,9947
Residuo	0,0339724	72	0,000471839		
Total (Corr.)	0,0365289	89			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	0,00251439	5	0,000502878	1,07	0,3865
Réplica (Tratamiento)	0,000042163	12	0,00000351358	0,01	1,0000
Residuo	0,0339724	72	0,000471839		
Total (corregido)	0,0365289	89			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	(3)+Q1
Réplica (Tratamiento)	(3)+Q2
Residuo	(3)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	72,00	0,000471839	(3)
Réplica (Tratamiento)	72,00	0,000471839	(3)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	0,000471839

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	90	
CME	0,000471839	
MAE	0,015637	
MAPE		
ME	-3,46945E-19	
MPE		

Análisis de Varianza para Población - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor 1	0,000811441	1	0,000811441	2,00	0,1606
B:Factor 2	0,00166857	2	0,000834285	2,06	0,1338
INTERACCIONES					
AB	0,0000343779	2	0,000017189	0,04	0,9585
RESIDUOS	0,0340146	84	0,000404935		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0365289	89			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para Población

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,0365289	89	0,000410438		
Residuo	0,0	0			
Total (Corr.)	0,0365289	89			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	0,00251439	5	0,000502878	143,12	0,0000
Réplica (Tratamiento)	0,000042163	12	0,00000351358		
Día (Réplica Tratamiento)	0,0339724	72	0,000471839	134,29	0,0000
Residuo	0,0	0			
Total (corregido)	0,0365289	89			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	
Réplica (Tratamiento)	
Día (Réplica Tratamiento)	
Residuo	(4)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	12,0 0	0,000003513 58	(2)
Réplica (Tratamiento)			
Día (Réplica Tratamiento)	12,0 0	0,000003513 58	(2)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	0,0

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	90	
CME		
MAE	0,0	
MAPE		
ME	0,0	
MPE		

Comparaciones Múltiples para Población por Tratamiento

Método: 95,0 por ciento LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Recuento</i>	<i>Media MC</i>	<i>Sigma MC</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	15	-0,00382067	0,000483982	X
1	15	0,00270333	0,000483982	X
4	15	0,00304333	0,000483982	X
5	15	0,00791867	0,000483982	X
2	15	0,009598	0,000483982	X
6	15	0,012176	0,000483982	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Límites +/-</i>
1 - 2	*	-0,00689467	0,0014913
1 - 3	*	0,006524	0,0014913
1 - 4		-0,00034	0,0014913
1 - 5	*	-0,00521533	0,0014913
1 - 6	*	-0,00947267	0,0014913
2 - 3	*	0,0134187	0,0014913
2 - 4	*	0,00655467	0,0014913
2 - 5	*	0,00167933	0,0014913
2 - 6	*	-0,002578	0,0014913
3 - 4	*	-0,006864	0,0014913
3 - 5	*	-0,0117393	0,0014913
3 - 6	*	-0,0159967	0,0014913
4 - 5	*	-0,00487533	0,0014913
4 - 6	*	-0,00913267	0,0014913
5 - 6	*	-0,00425733	0,0014913

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

**Anexo J Pruebas estadísticas para la variable Fertilidad.
Estimados de Localización**

Media muestral	0,010449
Mediana muestral	0,00892514
Media recortada	0,00978298
Media Winsorizada	0,0104221

Recorte: 15,0%

Estimados de Escala

Desviación estd. muestral	0,0116548
DAM/0.6745	0,0104124
Sbi	0,0116555
Sigma Winsorizada	0,0113699

Intervalos de confianza del 95,0% para la media

	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
Estándar	0,00726784	0,0136301
Winsorizada	0,00668489	0,0141593

Valores Ordenados

		<i>Valores Estudentizados</i>	<i>Valores Estudentizados</i>	<i>Modificados</i>
<i>Fila</i>	<i>Valor</i>	<i>Sin Supresión</i>	<i>Con Supresión</i>	<i>Valor-Z DAM</i>
22	-0,0157391	-2,24698	-2,38644	-2,36872
25	-0,0134043	-2,04665	-2,15405	-2,14449
21	- 0,00778233	-1,56428	-1,61718	-1,60457
32	- 0,00462222	-1,29314	-1,32654	-1,30107
24	-0,0039491	-1,23538	-1,26546	-1,23643
...				
47	0,0315389	1,80955	1,88656	2,1718
53	0,0321895	1,86537	1,94886	2,23429
38	0,0341942	2,03738	2,14344	2,42681
50	0,0344744	2,06142	2,17097	2,45372
41	0,0344856	2,06238	2,17207	2,4548

Resumen Estadístico para Fertilidad

Recuento	54
Desviación estándar	0,0116548
Coef. de variación	111,54%
Mínimo	-0,0157391
Máximo	0,0344856
Rango	0,0502247
Cuartil superior	0,0173384
Sesgo estandarizado	0,840445
Curtosis estandarizada	-0,0102476

Pruebas de Normalidad

Prueba	Estadístico	Valor-P
Chi-Cuadrado	13,5556	0,631786
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,965117	0,221507
Valor-Z para asimetría	0,632169	0,527274

Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	4,1494	0,00326343

Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00488597	0,00554025	0,777754	0,7308
1 / 3	0,00488597	0,0157476	0,096266	0,0033
1 / 4	0,00488597	0,0100848	0,234728	0,0560
1 / 5	0,00488597	0,0124346	0,154396	0,0160
1 / 6	0,00488597	0,0150282	0,105703	0,0046
2 / 3	0,00554025	0,0157476	0,123774	0,0078
2 / 4	0,00554025	0,0100848	0,301802	0,1100
2 / 5	0,00554025	0,0124346	0,198515	0,0345
2 / 6	0,00554025	0,0150282	0,135908	0,0106
3 / 4	0,0157476	0,0100848	2,43833	0,2289
3 / 5	0,0157476	0,0124346	1,60385	0,5191
3 / 6	0,0157476	0,0150282	1,09803	0,8980
4 / 5	0,0100848	0,0124346	0,657767	0,5672
4 / 6	0,0100848	0,0150282	0,450323	0,2801
5 / 6	0,0124346	0,0150282	0,684624	0,6045

Análisis de Varianza para Fertilidad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,00109418	17	0,0000643634	0,38	0,9821
Residuo	0,00610502	36	0,000169584		
Total (Corr.)	0,0071992	53			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	0,000921419	5	0,000184284	1,09	0,3843
Réplica (Tratamiento)	0,000172759	12	0,0000143966	0,08	1,0000
Residuo	0,00610502	36	0,000169584		
Total (corregido)	0,0071992	53			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	(3)+Q1
Réplica (Tratamiento)	(3)+Q2
Residuo	(3)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	36,00	0,000169584	(3)
Réplica (Tratamiento)	36,00	0,000169584	(3)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	0,000169584

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	54	
CME	0,000169584	
MAE	0,00848748	
MAPE		
ME	8,03113E-19	
MPE		

Análisis de Varianza para Fertilidad - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor 1	0,0000812537	1	0,0000812537	0,62	0,4345
B:Factor 2	0,000756363	2	0,000378181	2,89	0,0652
INTERACCIONES					
AB	0,0000838024	2	0,0000419012	0,32	0,7274
RESIDUOS	0,00627778	48	0,000130787		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0071992	53			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para Poblacion

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,0071992	53	0,000135834		
Residuo	0,0	0			
Total (Corr.)	0,0071992	53			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	0,000921419	5	0,000184284	12,80	0,0002
Réplica (Tratamiento)	0,000172759	12	0,0000143966		
Día (Réplica Tratamiento)	0,00610502	36	0,000169584	11,78	0,0000
Residuo	0,0	0			
Total (corregido)	0,0071992	53			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	
Réplica (Tratamiento)	
Día (Réplica Tratamiento)	
Residuo	(4)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	12,00	0,0000143966	(2)
Réplica (Tratamiento)			
Día (Réplica Tratamiento)	12,00	0,0000143966	(2)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	5,1329E-7

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	54	
CME		
MAE	0,0	
MAPE		
ME	0,0	
MPE		

Comparaciones Múltiples para Poblacion por Tratamiento

Método: 95,0 por ciento LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Recuento</i>	<i>Media MC</i>	<i>Sigma MC</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	9	0,00348068	0,00126476	X
4	9	0,00757379	0,00126476	X
1	9	0,0090568	0,00126476	X
2	9	0,0133911	0,00126476	X
6	9	0,0140621	0,00126476	X
5	9	0,0151295	0,00126476	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Límites +/-</i>
1 - 2	*	-0,0043343	0,00389712
1 - 3	*	0,00557612	0,00389712
1 - 4		0,00148301	0,00389712
1 - 5	*	-0,00607271	0,00389712
1 - 6	*	-0,00500527	0,00389712
2 - 3	*	0,00991042	0,00389712

2 - 4	*	0,00581731	0,00389712
2 - 5		-0,00173841	0,00389712
2 - 6		-0,000670967	0,00389712
3 - 4	*	-0,00409311	0,00389712
3 - 5	*	-0,0116488	0,00389712
3 - 6	*	-0,0105814	0,00389712
4 - 5	*	-0,00755572	0,00389712
4 - 6	*	-0,00648828	0,00389712
5 - 6		0,00106744	0,00389712

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

Anexo K. Pruebas estadísticas para la variable Temperatura

Identificación de Valores Atípicos temperatura Estimados de Localización

Media muestral	26,5463
Mediana muestral	27,0
Media recortada	26,6323
Media Winsorizada	26,5926

Recorte: 15,0%

Estimados de Escala

Desviación estd. muestral	1,23337
DAM/0.6745	1,48258
Sbi	1,32788
Sigma Winsorizada	1,62912

Intervalos de confianza del 95,0% para la media

	Límite Inferior	Límite Superior
Estándar	26,311	26,7816
Winsorizada	26,2203	26,9649

Valores Ordenados

		Valores Estudentizados Sin Supresión	Valores Estudentizados Con Supresión	Modificados Valor-Z DAM
Fila	Valor			
94	23,0	-2,87529	-3,00825	-2,698
24	24,0	-2,0645	-2,11703	-2,0235
4	24,0	-2,0645	-2,11703	-2,0235
42	24,0	-2,0645	-2,11703	-2,0235
41	25,0	-1,25372	-1,26895	-1,349
...				
68	28,0	1,17864	1,19192	0,6745
65	28,0	1,17864	1,19192	0,6745
64	28,0	1,17864	1,19192	0,6745
108	28,0	1,17864	1,19192	0,6745
54	28,0	1,17864	1,19192	0,6745

Resumen Estadístico para Temperatura

Recuento	108
Promedio	26,5463
Desviación estándar	1,23337
Coef. de variación	4,64611%
Mínimo	23,0
Máximo	28,0
Rango	5,0
Sesgo estandarizado	-1,62283
Curtosis estandarizada	-1,55693

Pruebas de Normalidad

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Chi-Cuadrado	535,981	0,0
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,870523	8,99281E-14
Valor-Z para asimetría	1,16705	0,243188

Verificación de Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
de Bartlett	1,01076	0,956972

<i>Comparación</i>	<i>Sigma1</i>	<i>Sigma2</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
1 / 2	1,37793	1,22741	1,2603	0,6387
1 / 3	1,37793	1,24853	1,21803	0,6889
1 / 4	1,37793	1,12749	1,49357	0,4166
1 / 5	1,37793	1,12749	1,49357	0,4166
1 / 6	1,37793	1,30859	1,10878	0,8339
2 / 3	1,22741	1,24853	0,966457	0,9447
2 / 4	1,22741	1,12749	1,18509	0,7303
2 / 5	1,22741	1,12749	1,18509	0,7303
2 / 6	1,22741	1,30859	0,879771	0,7948
3 / 4	1,24853	1,12749	1,22622	0,6789
3 / 5	1,24853	1,12749	1,22622	0,6789
3 / 6	1,24853	1,30859	0,910305	0,8486
4 / 5	1,12749	1,12749	1,0	1,0000
4 / 6	1,12749	1,30859	0,742366	0,5458
5 / 6	1,12749	1,30859	0,742366	0,5458

Análisis de Varianza para Temperatura

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	30,6019	17	1,80011	1,23	0,2615
Residuo	132,167	90	1,46852		
Total (Corr.)	162,769	107			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	6,0463	5	1,20926	0,82	0,5362
Réplica (Tratamiento)	24,5556	12	2,0463	1,39	0,1837
Residuo	132,167	90	1,46852		
Total (corregido)	162,769	107			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	(3)+Q1
Réplica (Tratamiento)	(3)+Q2
Residuo	(3)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	90,00	1,46852	(3)
Réplica (Tratamiento)	90,00	1,46852	(3)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	1,46852

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	108	
CME	1,46852	
MAE	0,907407	
MAPE	3,4457	
ME	-1,18424E-15	
MPE	-0,177356	

ANOVA Multifactorial - Temperatura

Análisis de Varianza para Temperatura Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor 1	1,12037	1	1,12037	0,73	0,3952
B:Factor 2	3,12963	2	1,56481	1,02	0,3648
INTERACCIONES					
AB	1,7963	2	0,898148	0,58	0,5592
RESIDUOS	156,722	102	1,53649		
TOTAL (CORREGIDO)	162,769	107			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Modelos Lineales Generalizados

Análisis de Varianza para Temperatura

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	162,769	107	1,5212		
Residuo	0,0	0			
Total (Corr.)	162,769	107			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	6,0463	5	1,20926	0,59	0,7075
Réplica (Tratamiento)	24,5556	12	2,0463		
Día (Réplica Tratamiento)	132,167	90	1,46852	0,72	0,8163
Residuo	0,0	0			
Total (corregido)	162,769	107			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	
Réplica (Tratamiento)	
Día (Réplica Tratamiento)	
Residuo	(4)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	12,0 0	2,0463	(2)
Réplica (Tratamiento)			
Día (Réplica Tratamiento)	12,0 0	2,0463	(2)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	353,814

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	108	
CME		
MAE	0,0	
MAPE	0,0	
ME	0,0	
MPE	0,0	

Comparaciones Múltiples para Temperatura por Tratamiento

Método: 95,0 porciento LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Recuento</i>	<i>Media MC</i>	<i>Sigma MC</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	18	26,2778	0,337169	X
4	18	26,2778	0,337169	X
1	18	26,3889	0,337169	X
5	18	26,7222	0,337169	X
6	18	26,7778	0,337169	X
3	18	26,8333	0,337169	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Límites +/-</i>
1 - 2		0,111111	1,03892
1 - 3		-0,444444	1,03892
1 - 4		0,111111	1,03892
1 - 5		-0,333333	1,03892
1 - 6		-0,388889	1,03892
2 - 3		-0,555556	1,03892
2 - 4		0,0	1,03892
2 - 5		-0,444444	1,03892
2 - 6		-0,5	1,03892
3 - 4		0,555556	1,03892
3 - 5		0,111111	1,03892
3 - 6		0,055556	1,03892
4 - 5		-0,444444	1,03892
4 - 6		-0,5	1,03892
5 - 6		-0,055556	1,03892

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

**Anexo L. Pruebas estadísticas para la variable Salinidad
Identificación de Valores Atípicos Salinidad**

Estimados de Localización

Media muestral	26,3611
Mediana muestral	26,0
Media recortada	26,3016
Media Winsorizada	26,3611

Recorte: 15,0%

Estimados de Escala

Desviación estd. muestral	1,06304
DAM/0.6745	1,48258
Sbi	1,14695
Sigma Winsorizada	1,51362

Intervalos de confianza del 95,0% para la media

	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
Estándar	26,1583	26,5639
Winsorizada	26,0152	26,707

Valores Ordenados

		<i>Valores Estudentizados Sin Supresión</i>	<i>Valores Estudentizados Con Supresión</i>	<i>Modificado s Valor-Z DAM</i>
<i>Fila</i>	<i>Valor</i>			
98	25,0	-1,28039	-1,29637	-0,6745
105	25,0	-1,28039	-1,29637	-0,6745
95	25,0	-1,28039	-1,29637	-0,6745
71	25,0	-1,28039	-1,29637	-0,6745
93	25,0	-1,28039	-1,29637	-0,6745
...				
79	28,0	1,54169	1,56647	1,349
77	28,0	1,54169	1,56647	1,349
70	28,0	1,54169	1,56647	1,349
67	28,0	1,54169	1,56647	1,349
4	28,0	1,54169	1,56647	1,349

Resumen Estadístico para Salinidad

Recuento	108
Promedio	26,3611
Desviación estándar	1,06304
Coef. de variación	4,03262%
Mínimo	25,0
Máximo	28,0
Rango	3,0
Sesgo estandarizado	0,770825
Curtosis estandarizada	-2,51609

Pruebas de Normalidad

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Chi-Cuadrado	586,907	0,0
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,840365	0,0
Valor-Z para asimetría	0,566118	0,571311

Verificación de Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
de Bartlett	1,02098	0,839287

<i>Comparación</i>	<i>Sigma1</i>	<i>Sigma2</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
1 / 2	0,983524	0,907485	1,1746	0,7439
1 / 3	0,983524	0,983524	1,0	1,0000
1 / 4	0,983524	1,13759	0,747475	0,5550
1 / 5	0,983524	1,13759	0,747475	0,5550
1 / 6	0,983524	1,21133	0,659243	0,3990
2 / 3	0,907485	0,983524	0,851351	0,7439
2 / 4	0,907485	1,13759	0,636364	0,3605
2 / 5	0,907485	1,13759	0,636364	0,3605
2 / 6	0,907485	1,21133	0,561247	0,2438
3 / 4	0,983524	1,13759	0,747475	0,5550
3 / 5	0,983524	1,13759	0,747475	0,5550
3 / 6	0,983524	1,21133	0,659243	0,3990
4 / 5	1,13759	1,13759	1,0	1,0000
4 / 6	1,13759	1,21133	0,88196	0,7987
5 / 6	1,13759	1,21133	0,88196	0,7987

Modelos Lineales Generalizados

Análisis de Varianza para Salinidad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	12,0833	17	0,710784	0,59	0,8930
Residuo	108,833	90	1,20926		
Total (Corr.)	120,917	107			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	5,08333	5	1,01667	0,84	0,5243
Réplica (Tratamiento)	7,0	12	0,583333	0,48	0,9202
Residuo	108,833	90	1,20926		
Total (corregido)	120,917	107			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	(3)+Q1
Réplica (Tratamiento)	(3)+Q2
Residuo	(3)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	90,00	1,20926	(3)
Réplica (Tratamiento)	90,00	1,20926	(3)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	1,20926

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	108	
CME	1,20926	
MAE	0,854938	
MAPE	3,24024	
ME	3,94746E-16	
MPE	-0,144371	

ANOVA Multifactorial Salinidad
Análisis de Varianza para salinidad Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor 1	2,67593	1	2,67593	2,36	0,1279
B:Factor 2	0,166667	2	0,0833333	0,07	0,9293
INTERACCIONES					
AB	2,24074	2	1,12037	0,99	0,3764
RESIDUOS	115,833	102	1,13562		
TOTAL (CORREGIDO)	120,917	107			

Modelos Lineales Generalizados
Análisis de Varianza para Salinidad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	120,917	107	1,13006		
Residuo	0,0	0			
Total (Corr.)	120,917	107			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	5,08333	5	1,01667	1,74	0,1995
Réplica (Tratamiento)	7,0	12	0,583333		
Día (Réplica Tratamiento)	108,833	90	1,20926	2,07	0,0798
Residuo	0,0	0			
Total (corregido)	120,917	107			

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Tratamiento	
Réplica (Tratamiento)	
Día (Réplica Tratamiento)	
Residuo	(4)

Denominadores de Prueba-F

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Denominador</i>
Tratamiento	12,00	0,583333	(2)
Réplica (Tratamiento)			
Día (Réplica Tratamiento)	12,00	0,583333	(2)

Componentes de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Estimado</i>
Residuo	353,814

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	108	
CME		
MAE	0,0	
MAPE	0,0	
ME	0,0	
MPE	0,0	

Método: 95,0 porciento LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Recuento</i>	<i>Media MC</i>	<i>Sigma MC</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
6	18	25,9444	0,180021	X
2	18	26,3333	0,180021	XX
4	18	26,3333	0,180021	XX
3	18	26,4444	0,180021	XX
1	18	26,4444	0,180021	XX
5	18	26,6667	0,180021	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Límites +/-</i>
1 - 2		0,111111	0,5547
1 - 3		0,0	0,5547
1 - 4		0,111111	0,5547
1 - 5		-0,222222	0,5547
1 - 6		0,5	0,5547
2 - 3		-0,111111	0,5547
2 - 4		0,0	0,5547
2 - 5		-0,333333	0,5547
2 - 6		0,388889	0,5547
3 - 4		0,111111	0,5547
3 - 5		-0,222222	0,5547
3 - 6		0,5	0,5547
4 - 5		-0,333333	0,5547
4 - 6		0,388889	0,5547
5 - 6	*	0,722222	0,5547

* denota una diferencia estadísticamente significativa.