

| | | | | |
|------------------------------------|----|----------|----------------------------|----------------|
| An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín | 22 | 112 - 21 | Santa Marta-Colombia, 1993 | ISSN 0120-3959 |
|------------------------------------|----|----------|----------------------------|----------------|

EFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y EL RENDIMIENTO DEL ROTIFERO *BRACHIONUS PLICATILIS* (CEPA CIENAGA GRANDE DE SANTA MARTA)

Adriana Vallejo I., Federico Newmark y María Mercedes Criales

RESUMEN

La influencia de la salinidad sobre el crecimiento poblacional y rendimiento del rotífero *Brachionus plicatilis* (O F. Muller, 1786) fué determinada por medio de dos ensayos experimentales de laboratorio. La cepa nativa de *B. plicatilis* fué aislada del plancton de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia, y cultivada en laboratorio bajo diferentes condiciones de salinidad. El alimento utilizado fué la microalga nativa *Chlorella sp.* también aislada en laboratorio. Los rangos de salinidad ensayados estuvieron entre 3-24 o/oo en un primer experimento y entre 30-45 o/oo en el subsecuente. Se determinó que los rotíferos de esta cepa crecen a densidades entre 85 y 150 ind.ml⁻¹ y muestran gran capacidad adaptativa cuando se cultivan en salinidades entre 16 y 40 o/oo. Las curvas de crecimiento poblacional a salinidades menores de 16 o/oo no mostraron incremento; a salinidades de 30, 36 y 40 o/oo las densidades máximas fueron similares en el día 9 de cultivo y menores para 45 o/oo, aunque no hubo diferencias significativas. Los máximos valores de densidad (d) rendimiento (r), tasa instantánea de crecimiento (k), y tiempo de duplicación (td), correspondieron a la salinidad de 36 o/oo.

ABSTRACT

The effect of salinity on the population growth and yield of a strain of *Brachionus plicatilis* (O.F. Muller, 1786) was determined by two laboratory experiments. The rotifer *B. plicatilis* was isolated from the plankton of the Cienaga Grande de Santa Marta, Colombia, and cultivated in laboratory under different salinity conditions. The local microalgae *Chlorella sp.*, also isolated in laboratory, was used as food for the rotifers. Salinity values ranged from 3 to 24 o/oo in the first experiment and 30 to 45 o/oo in the second. It was found that these rotifers grow and exhibit a high adaptive capability when cultured at salinities ranging from 16 to 40 o/oo. The rotifer curves of population growth were negative at salinities under 16 o/oo. At salinities of 30, 36, and 40 o/oo the maximum densities were similar in the ninth day. Although maximum densities were somewhat lower at 45 o/oo salinity, no significant statistical differences were found. Maximum values of density (d), yield (y), instantaneous growth rate (k) and doubling time (td) corresponded to a salinity of 36 o/oo.

INTRODUCCION

El rotífero *Brachionus plicatilis* ha sido considerado en los últimos 20 años,

como uno de los recursos alimenticios más adecuados en la acuicultura, por su facilidad de cultivo, tamaño, carácter eurihalino y euritermo y calidad nutricional. Su dinámica poblacional, incluidos los ciclos de vida, la tasa de reproducción y tiempo de desarrollo, ha sido relativamente bien estudiada (Ito, 1960; King, 1967; Wetzel, 1981). Sin embargo estudios sobre la influencia de la temperatura y la salinidad en el crecimiento de la población y composición bioquímica de cepas de *B. plicatilis* son limitados y restringidos a las zonas templadas (Scott y Baynes, 1978; Schlüter y Groeneweg, 1981; Pascual y Yúfera, 1983; Yúfera, 1987). Hasta el momento no existen técnicas estandarizadas para el cultivo de *B. plicatilis*, debido a que posee diferentes características y exigencias ecológicas dependiendo de la zona que habita, el tipo de alimento suministrado y la salinidad y temperatura a la que sea sometido (Amat, 1985).

El objetivo de la presente investigación es determinar la influencia de la salinidad sobre el crecimiento poblacional y el rendimiento del rotífero *B. plicatilis*, cepa local de la Ciénaga Grande de Santa Marta.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento de la Cepa

Las muestras vivas de rotíferos se colectaron en la Ciénaga Grande de Santa Marta (Magdalena, Colombia), situada entre los 10°45'N 74°15'W y los 11°00'N 74°30'W. Para la recolección de las muestras se realizaron arrastres circulares superficiales empleando una red de plancton de 70 µm de ojo de malla (Vallejo, 1989). Las muestras fueron mantenidas a una temperatura inferior a 10°C hasta el arribo a los laboratorios, en donde fueron transferidas a frascos de 2 l con aireación constante. Posteriormente los rotíferos *B. plicatilis* fueron aislados del resto del plancton utilizando un esteroscopio, micropipetas y sembrándolos en un medio algal con aireación constante.

Cultivo de Microalgas

Los experimentos fueron llevados a cabo en los laboratorios de Maricultura del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta de Betín (INVEMAR). Para la alimentación del rotífero *B. plicatilis* se utilizó una cepa nativa de *Chlorella sp.* aislada de agua dulce (Vallejo, 1989). Dicha cepa fue mantenida bajo condiciones de luz constante y enriquecida con fertilizante inorgánico comercial. La cepa se aclimató a salinidades de 3, 10, 16, 24, 30, 36, 40 y 45 o/oo en secuencia progresiva reemplazando pequeños volúmenes del cultivo en fase de crecimiento exponencial por agua de mar estéril y/o permitiendo la evaporación de agua en dichos cultivos. Para ello se tomaron 8 frascos estériles de 2 l de capacidad, cada uno inoculado con *Chlorella sp.* nativa y mantenido a temperaturas entre 25 y 30°C. Al cabo de 7 días se

elevó la salinidad a 30 o/oo adicionando agua de mar filtrada y esterilizada a uno de los frascos y los demás se llevaron a una salinidad de 10 o/oo de la misma manera. Así se mantuvieron los cultivos durante 15 días al cabo de los cuales se continuó aumentando la salinidad progresivamente a las algas cultivadas en salinidades superiores a 10 o/oo. Una vez conseguida dicha aclimatación se continuó el mantenimiento de los cultivos para cada salinidad adicionando diariamente abono inorgánico comercial. El conteo de las algas fue realizado bajo un microscopio de luz con objetivo de 40X y utilizando un hemocitómetro "Bright Line" (American Optical) con rayado mejorado de Neubauer.

Diseño Experimental

Dos experimentos fueron diseñados para evaluar el efecto de la salinidad sobre la densidad de rotífero *B. plicatilis*, la tasa instantánea de crecimiento (K), el tiempo de duplicación (td) y el rendimiento (r). Se emplearon volúmenes de 1 l con tres réplicas por tratamiento para ambos experimentos. Los rotíferos fueron mantenidos con aireación permanente e iluminación artificial con fotoperíodo de 18 horas luz: 6 horas oscuridad, la temperatura promedio de 28 ± 3 °C.

La densidad de los rotíferos (ind.ml^{-1}) se determinó por medio de conteos con una cámara tipo Bogorov. De cada cultivo se cuantificaron 5 submuestras de 1 ml, obteniéndose un valor promedio por réplica. Posteriormente se promediaron los datos de cada réplica y obteniendo así un solo valor por cada tratamiento.

Salinidad Óptima de Crecimiento I: Este experimento fue realizado a salinidades de 3, 10, 16 y 24 o/oo dado que al momento de la ejecución solo se había conseguido aclimatar los rotíferos y las algas hasta salinidades de 30 o/oo. Los rotíferos fueron aclimatados a cada salinidad por un período de dos semanas en forma similar a la descrita para las microalgas. Cada tratamiento contó con tres réplicas. Los rotíferos fueron inoculados a cada cultivo a razón de 0.7 ind.ml^{-1} (densidad tomada de acuerdo a la disponibilidad de rotíferos en ese momento). La concentración de *Chlorella sp.* se mantuvo en $5.0 \times 10^5 \text{ cel.ml}^{-1}$, mediante suministro diario. Este experimento tuvo una duración de 8 días, tiempo en el cual se observó una caída de la densidad de las poblaciones de rotíferos.

Salinidad Óptima de Crecimiento II : Este experimento se llevó a cabo luego de la aclimatación de los rotíferos y la microalga a salinidades de 30, 36, 40 y 45 o/oo. Se utilizaron tres réplicas por cada salinidad con una densidad inicial de rotíferos de 4.5 ind.ml^{-1} . Esta cantidad fué obtenida al cosechar los rotíferos aclimatados en cada salinidad concentrándolos por medio de filtración, para así estimar las densidades y repartidos en partes iguales para cada réplica. *Chlorella sp.* concentrada previamente por centrifugación fue suministrada a cada réplica a razón de $2.5 \times 10^6 \text{ cel.ml}^{-1}$ al inicio del experimento y se continuó diariamente durante los 11 días del ensayo.

Procesamiento de Datos

El crecimiento de la población de los rotíferos a nivel experimental fué comparado también en términos de la tasa instantánea de crecimiento per cápita (K , d^{-1}), tiempo de duplicación (td , d), y rendimiento (r , $ind.ml^{-1}.d^{-1}$).

Donde:

$$K = \frac{\ln N_f - \ln N_0}{t}$$

N_f = número final de $ind.ml^{-1}$

N_0 = número inicial de $ind.ml^{-1}$

$$td = \frac{\ln 2}{K}$$

t = tiempo (d = días)

$$r = \frac{N_f - N_0}{t}$$

Con el fin de determinar la diferencia estadística entre los diferentes tratamientos, la información obtenida sobre la tasa instantánea de crecimiento poblacional fué procesada por medio de análisis de varianza (ANOVA) a una vía (Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS

Salinidad Óptima de Crecimiento I.

A partir de los datos de densidad absoluta de rotíferos ($d.a$, $ind.ml^{-1}$) durante el período experimental, se obtuvieron las curvas de crecimiento de las poblaciones para los diferentes tratamientos durante el período de tiempo examinado (Figura 1), se encontró que las poblaciones de *B.plicatilis* crecieron mejor a 16 o/oo, alcanzando una densidad promedio de $151.4 ind.ml^{-1}$, mientras que para las salinidades de 3 y 10 o/oo presentaron un crecimiento inapreciable no llegando a superar los $10 ind.ml^{-1}$; a 24o/oo se presentó una prolongada fase de latencia, alcanzando en el día 8 un promedio máximo de $50.9 ind.ml^{-1}$.

Las salinidades de 3 y 10 o/oo presentaron tasas de crecimiento per cápita (K) muy bajas ($0.17 d^{-1}$ y $0.18 d^{-1}$ respectivamente), correspondiendo a un tiempo de duplicación (td) de 5.34 y 5.28 d, respectivamente. Los cultivos tratados con una salinidad de 16 o/oo presentaron una tasa instantánea de crecimiento (K) relativamente alta con un valor promedio de $0.51 d^{-1}$ y con un tiempo de duplicación de 2.95 d (Figura 2), lo cual fué confirmado en el análisis de varianza (Tabla 1), mostrando diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos

En cuanto al rendimiento para las salinidades de 3 y 10 o/oo se obtuvieron valores promedios inferiores a $1 ind.ml^{-1}.d^{-1}$; el mayor rendimiento promedio fué el

obtenido para 16 o/oo ($21.98 \text{ ind.ml}^{-1}.\text{d}^{-1}$) (Figura 3).

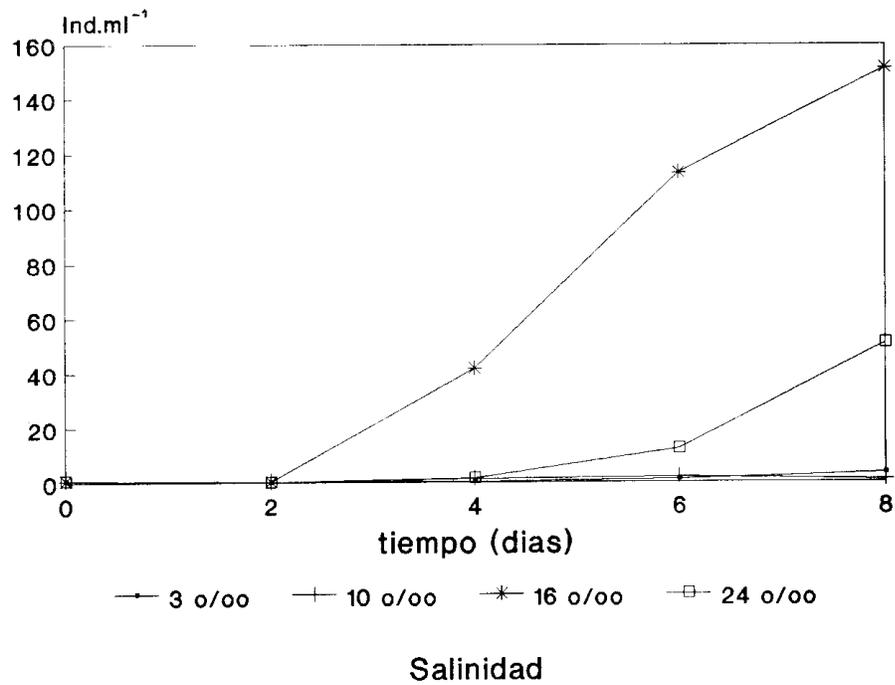


Figura 1. Curvas de crecimiento poblacional de *Brachionus plicatilis* cultivados entre 3 y 24 o/oo de salinidad.

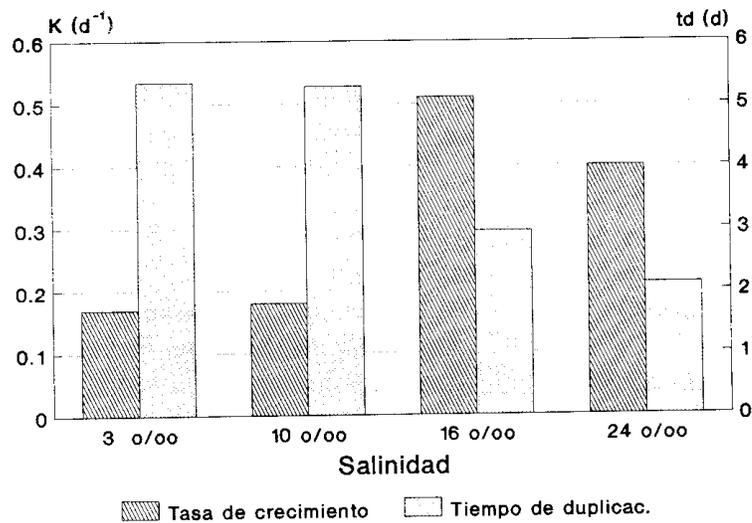


Figura 2. Tasa de crecimiento $K \text{ (d}^{-1}\text{)}$ y tiempo de duplicación $td \text{ (días)}$ de poblaciones de *B. plicatilis* cultivadas entre 3 y 24 o/oo de salinidad.

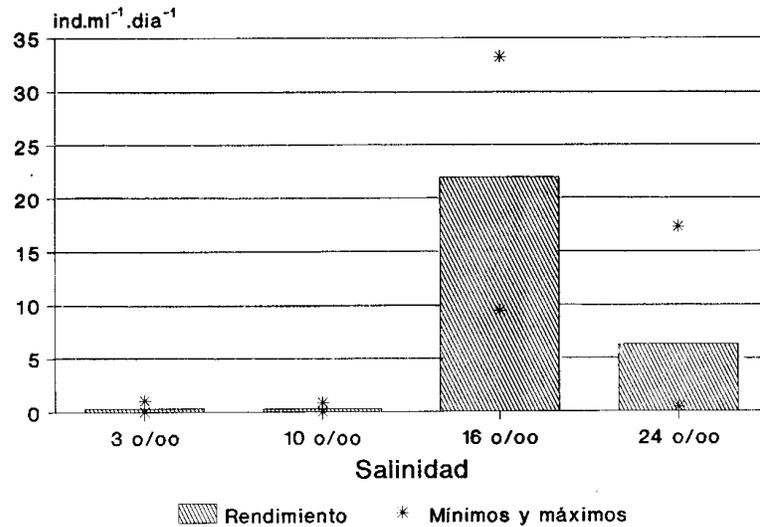


Figura 3. Rendimientos promedio total (barra), mínimo (asterisco inferior) y máximo (asterisco superior) en poblaciones de *B. plicatilis* cultivadas entre 3 y 24 o/oo de salinidad.

Tabla 1. Análisis de varianza para la salinidad óptima de crecimiento (I) de *B. plicatilis*. Variable dependiente: Tasa instantánea de crecimiento. Variable independiente: tratamientos: 3o/oo, 10 o/oo, 16 o/oo y 24 o/oo.

| ANÁLISIS DE VARIANZA A UNA VIA | | | | | |
|--------------------------------|-------------------|-------|-----------|--------|--------------|
| FUENTE | SUMA DE CUADRADOS | G. L. | VARIANZA | F | PROBABILIDAD |
| Salinidad | 1.6231750 | 3 | 0.5410583 | 11.330 | 0.00000 |
| Error | 2.1012167 | 44 | 0.0477549 | | |
| TOTAL corregido | 3.7243917 | 47 | | | |

| COMPARACION MULTIPLE | | | |
|-----------------------------------|--------|-----------|-------------------|
| Método: LSD 95% Variable So/oo | Conteo | Promedio | Grupos Homogéneos |
| 3 o/oo | 12 | 0.1300000 | x |
| 10 o/oo | 12 | 0.1458333 | x |
| 24 o/oo | 12 | 0.2650000 | x |
| 16 o/oo | 12 | 0.5875000 | x |

Salinidad Óptima de Crecimiento II

En este segundo ensayo, los resultados mostraron que las poblaciones crecen mejor entre 30 y 40 o/oo y la población comienza a disminuir a partir de 45o/oo. Las curvas de crecimiento poblacional (Fig. 4) muestran densidades máximas similares alcanzadas en el día 9, para 30, 36 y 40 o/oo, y menores para 45 o/oo.

Los valores promedio de K fluctuaron entre 0.27 d⁻¹ y 0.42 d⁻¹, correspon-

diendo el mayor valor a la salinidad de 36 o/oo con un td de 1.65 d. La salinidad de 45 o/oo presentó la menor tasa de crecimiento y un tiempo de duplicación de 4.18 d (Figura 5). De acuerdo al análisis de varianza no se presentó diferencia estadísticamente significativa entre las cuatro salinidades ensayadas (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de varianza para la salinidad óptima de crecimiento (II) de *B. plicatilis*. Variable dependiente: tasa instantánea de crecimiento. Variable independiente: tratamientos: 30 o/oo, 36 o/oo, 40 o/oo y 45 o/oo.

| ANALISIS DE VARIANZA A UNA VIA | | | | | |
|--------------------------------|-------------------|-------|-----------|-------|--------------|
| FUENTE | SUMA DE CUADRADOS | G. L. | VARIANZA | F | PROBABILIDAD |
| Salinidad | 0.1047264 | 3 | 0.0349088 | 1.041 | 0.3802 |
| Error | 2.2807056 | 68 | 0.0335398 | | |
| TOTAL corregido | 2.3854319 | 71 | | | |

| COMPARACION MULTIPLE | | | |
|-----------------------------------|--------|-----------|-------------------|
| Método: LSD 95% Variable So/oo | Conteo | Promedio | Grupos Homogéneos |
| 45 o/oo | 18 | 0.3194444 | x |
| 40 o/oo | 18 | 0.3527778 | x |
| 36 o/oo | 18 | 0.3916667 | x |
| 30 o/oo | 18 | 0.4200000 | x |

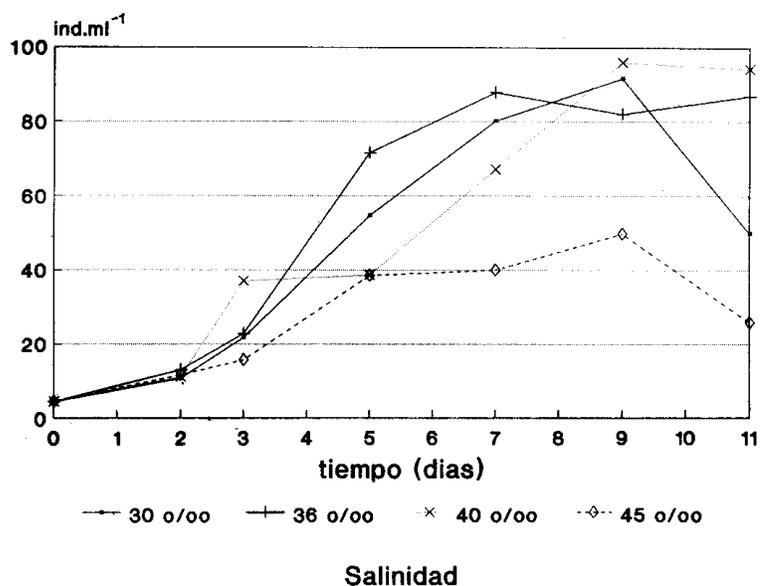


Figura 4. Curvas de crecimiento poblacional de *B. plicatilis* cultivados entre 30 y 45 o/oo de salinidad.

Los rendimientos promedio (r) obtenidos pueden observarse en la Figura 6, con un valor mínimo de 8.69 ind.ml⁻¹.d⁻¹ para 45 o/oo y un máximo de 13.6 ind.ml⁻¹.d⁻¹ para 36 o/oo.

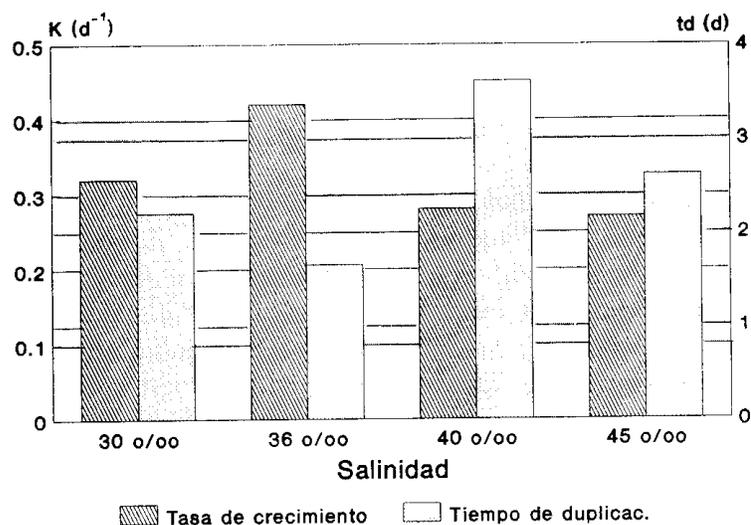


Figura 5. Tasa de crecimiento k (d^{-1}) y tiempo de duplicación Td (días) de poblaciones de *B. plicatilis* cultivadas entre 30 y 45 o/oo de salinidad.

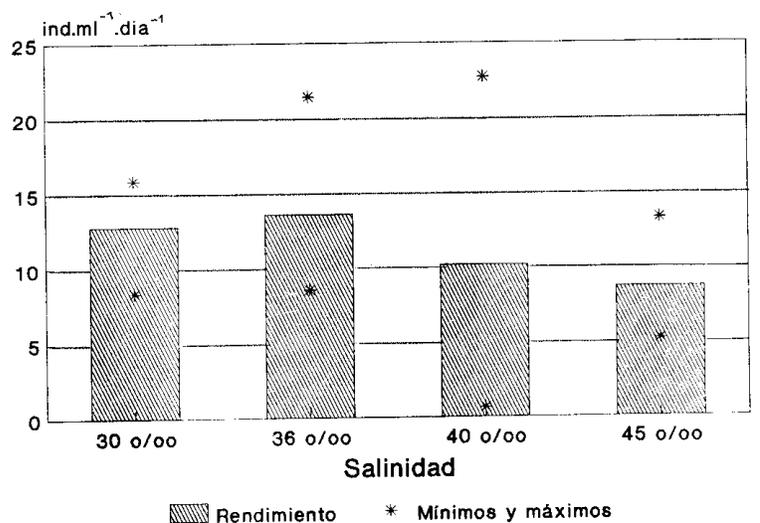


Figura 6. Rendimiento promedio total (barra), mínimo (asterisco inferior) y máximo (asterisco superior) en *B. plicatilis* cultivadas entre 30 y 45 o/oo.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La tasa instantánea de crecimiento equivale a la diferencia entre la natalidad y la mortalidad de una población en un tiempo determinado (Wetzel, 1981). Para el caso de los rotíferos, la tasa de crecimiento está estrechamente relacionada tanto con la calidad y cantidad del alimento como con la temperatura (Edmondson, 1946 en Wetzel, 1981). Algunos autores han encontrado que el intervalo de temperatura óptima de crecimiento de varias cepas de *B. plicatilis* oscila entre 20 y 40°C, sin lle-

gar a encontrarse variaciones significativas en el crecimiento poblacional (Scott y Baynes, 1978; Pascual y Yúfera, 1983). Dado lo anterior, la temperatura registrada en el presente trabajo, que tuvo un promedio de $28 \pm 3^{\circ}\text{C}$, estuvo en un rango aceptable pero sin haberse estudiado su efecto en los parámetros reportados.

De acuerdo con los resultados del Experimento I, se pudo observar que la tasa de crecimiento poblacional de *B. plicatilis* varió significativamente ($P < 0.05$) entre salinidades menores de 10 o/oo, resultando un crecimiento óptimo a 16 o/oo. A bajas salinidades se manifestó una tasa de crecimiento muy baja para el día en que se alcanzó la máxima densidad, lo cual indica que la natalidad fué muy baja y/o menor que la mortalidad, permaneciendo la población en estado latente y/o tendiente a desaparecer. Esto pudo deberse a una fase insuficiente de aclimatación a la salinidad experimental, o a que el experimento se inició con poblaciones en fase de caída con hembras viejas con baja capacidad reproductora (King 1967; Chotiyaputta e Hirayama, 1978). Otros posibles factores influyentes en la baja densidad obtenida para este experimento pudieron ser la baja concentración de alimento algal suministrada (5.0×10^5 cel.ml⁻¹) y la baja densidad del inóculo inicial de rotíferos cuyo efecto se manifestó en el prolongamiento de la fase de latencia. En efecto, para la ejecución del Experimento II ya había transcurrido un período mayor de aclimatación de la cepa de los rotíferos y dada la experiencia anterior se adicionó mayor concentración de alimento algal iniciándose éste con un número de rotíferos también mayor.

Diffícilmente pueden compararse estos resultados con otros experimentos reportados en la literatura, dada la diferencia en los métodos empleados, los tipos y cantidad de alimento suministrado y las cepas y los parámetros analizados; sin embargo han de servir como marco de referencia. Pascual y Yúfera (1983), empleando la microalga *Nannochloris oculata*, no obtuvieron supervivencia en la adaptación de rotíferos a salinidades inferiores a 2 o/oo ni superiores a 50 o/oo; sin embargo obtuvieron las mayores tasas de crecimiento a salinidades de 35 o/oo, coincidiendo este resultado con el del Experimento II.

Las poblaciones de *B. plicatilis*, una vez aclimatadas a salinidades mayores de 160/oo, continuaron respondiendo bien hasta 45 o/oo mostrando que no hubo diferencia significativa de la tasa de crecimiento a estas salinidades ($P < 0.05$), a pesar de que a partir de 45 o/oo se comenzó a apreciar una disminución en la curva de crecimiento. Estos resultados son ventajosos, ya que para efectos de cultivo masivo al aire libre pueden emplearse salinidades dentro de un intervalo más o menos amplio, sin que procesos como la evaporación influyan sobre dichos cultivos, además de facilitar el manejo utilizando agua de mar directamente sin necesidad de diluciones. Finalmente, se puede concluir que *Chlorella sp.*, aislada del agua dulce en el laboratorio, mostró excelentes resultados como alimento en el cultivo de rotíferos, adaptándose satisfactoriamente a la salinidad entre 0 y 45 o/oo. De otra parte, la población de *B. plicatilis* de la Ciénaga Grande de Santa Marta presentó una buena adaptabilidad a salinidades entre 16 y 40 o/oo obteniéndose altas densidades de cultivo, lo cual representa un gran atractivo para los acuicul-

tores del área a fin de poder emplear este rotífero como organismo forrajero en la acuicultura marina y estuarina.

AGRADECIMIENTOS

A COLCIENCIAS (Proyecto # 210509038-86) por el apoyo financiero para la realización de este trabajo, el cual forma parte de la tesis de grado de la primera autora, realizada en el INVEMAR como parte del programa de Maricultura y presentada a la Universidad de Antioquia, Medellín. A todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron a la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Amat, F. 1985. Cultivos auxiliares: Zooplankton. Primer curso teórico-práctico sobre Acuicultura. Fac. Ciencias Biológicas U.C.M, Madrid, 16 p.
- Chotiyaputta, C. y K. Hirayama. 1978. Food selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* feeding on phytoplankton. *Marine Biology*, 45: 105-111.
- Ito, T. 1960. On the culture of the mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller, in seawater. *Rep. Fac. Fish., Prefect. Univ. Mie*, 3: 708-740.
- King, C.E. 1967. Food, age, and the dynamics of laboratory population of rotifers. *Ecology*, 48(1): 111-128.
- Pascual, E. y M. Yúfera. 1983. Crecimiento en cultivo de una cepa de *Brachionus plicatilis* O.F. Müller en función de la temperatura y la salinidad. *Inv. Pesq.*, 47(1): 151-159.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1981. *Biometry*. W. H. Freeman and Co., San Francisco, 832 pp.
- Scott, A.P. y S.M. Baynes. 1978. Effect of algal diet and temperature in the biochemical composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 14:247-260.
- Schlüter, M. y J. Groeneweg. 1981. Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes. I. The influence some environmental factors on population growth of *B. rubens* Ehrenberg 1838. *Aquaculture*, 25:17-24.
- Vallejo, A. 1989. Cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* O. F. Muller (1786) a nivel masivo en el laboratorio. Tesis Biol., Univ. Antioquia, Medellín, 87 p.
- Wetzel, R.G. 1981. *Limnología*. Ed. Omega, Barcelona, 530 p.
- Yúfera, M. 1987. Effect of algal diet and temperature on the embryonic development time of the rotifer *Brachionus plicatilis* in culture. *Hydrobiologia*, 147:319-322.

DIRECCION DE LOS AUTORES:

INVEMAR, Apartado Aéreo 1016, Santa Marta, Colombia (A.V.I. y F.N.). Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, Division of Marine Biology and Fisheries, 4600 Rickenbacker Causeway, Miami, Florida 33149-1098, U.S.A. (M.M.C.)