

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE HARINA DE  
ENSILADO DE VÍSCERAS DE *Gallus gallus domesticus* “pollo”  
EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y CONTENIDO DE  
PROTEÍNAS Y LÍPIDOS DE *Brachionus* sp EN LABORATORIO**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR**

**AUTORES:**

**BACH. ALCEDO DURÁN, NATALI**

**BACH. CÓRDOVA CALLE, JUAN CARLOS**

**ASESOR:**

**M.SC. JUAN FERNANDO MERINO MOYA**

**NUEVO CHIMBOTE - 2014**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE HARINA DE  
ENSILADO DE VÍSCERAS DE *Gallus gallus domesticus* “pollo”  
EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y CONTENIDO DE  
PROTEÍNAS Y LÍPIDOS DE *Brachionus* sp EN LABORATORIO**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR**

**AUTORES:**

**BACH. ALCEDO DURÁN, NATALI**

**BACH. CÓRDOVA CALLE, JUAN CARLOS**

Revisado y Aprobado por el Asesor.

---

**M.SC. JUAN FERNANDO MERINO MOYA**

## **DEDICATORIA**

*A mis padres Ricardo y Elva por su amor que me impulso a superarme y seguir adelante. A mis hermanos Franklin, Mayumi, Betisabel por su apoyo, su compañía en toda la travesía. A mi familia, Sophya Kirsthen mi bebe preciosa que amo, a mi esposo Juan Carlos por ser parte de mi vida y darme alegrías y la fuerza necesaria para superarme día a día en esta nueva etapa de mi vida. Ambos son ahora la razón por la cual hay que seguir luchando y esforzándome cada momento por mantener una familia unida y feliz con la bendición de Dios.*

### **NATALI**

*A mis padres por ser el pilar más importante en mi vida quienes me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos. A mi hija, Sophya Kirsthen por ser el motor que me impulsa a seguir superándome cada día y todos mis hermanos que siempre estuvieron apoyándome emocionalmente. A mis tíos Hernando, Eduardo, Fidel, Deyber, Aníbal personas que me brindaron su apoyo en todo momento en el trayecto de mi formación profesional. A mi esposa Natali por su paciencia y comprensión gracias, hoy hemos alcanzado un triunfo más porque los dos somos uno y mis logros son tuyos.*

**JUAN CARLOS**

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestro Asesor M.Sc. JUAN FERNANDO MERINO MOYA, por el apoyo, por su amistad, respeto, consejos, enseñanzas y por ser nuestro guía en la realización y culminación del presente informe.

A todas las personas que colaboraron desinteresadamente en la realización de nuestro proyecto de investigación.

A los profesores de la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura, quienes nos apoyaron y brindaron sus conocimientos durante el desarrollo de nuestra formación académica.

***Los Autores.***

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b> .....	<b>vi</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xii</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	<b>6</b>
2.1. Objetivo General .....	6
2.1. Objetivos Específicos .....	7
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>8</b>
3.1. Localización del Proyecto.....	8
3.2. Material Biológico .....	8
3.3. Diseño Experimental .....	8
3.4. Preparación del Ensilado de Vísceras de <i>Gallus gallus domesticus</i> “pollo” (EVP).....	9
3.5. Preparación de la Solución Stock del EVP .....	11
3.6. Preparación del Medio de Cultivo Guillard f/2 para <i>T. suecica</i> .....	12
3.7. Acondicionamientos de las Unidades Experimentales en el Cultivo <i>Brachionus</i> sp.....	13
3.8. Alimentación de <i>Brachionus</i> sp .....	14
3.9. Determinación del Crecimiento Poblacional .....	14
3.10. Determinación de las Proteínas y Lípidos en <i>Brachionus</i> sp .....	15
3.10.1. Determinación de proteínas.....	15

3.10.2. Determinación de lípidos .....	17
3.11. Registros de Parámetros Ambientales del Cultivo de <i>Brachionus</i> sp.	18
3.12. Análisis Estadístico .....	19
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>20</b>
4.1. Crecimiento Poblacional de <i>Brachionus</i> sp .....	20
4.1.1. Curvas de crecimiento poblacional .....	20
4.1.2. Tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación poblacional diario de <i>Brachionus</i> sp .....	22
4.2. Contenido de Proteínas y Lípidos en <i>Brachionus</i> sp .....	24
4.2.1. Contenido de proteínas .....	24
4.2.2. Contenido de lípidos .....	26
4.3. Eficiencia del EVP en la Densidad Poblacional, Proteínas y Lípidos en <i>Brachionus</i> sp .....	27
4.4. Parámetros del Cultivo de <i>Brachionus</i> sp .....	28
4.4.1. Temperatura del cultivo .....	28
4.4.2. Salinidad del cultivo .....	29
4.4.3. pH del cultivo .....	29
4.4.4. Oxígeno disuelto del cultivo .....	30
<b>V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>32</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>42</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>44</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>57</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diseño experimental utilizado en la investigación.	9
<b>Tabla 2.</b> Contenido promedio en peso seco ( $\pm$ desviación estándar) de proteínas, lípidos, carbohidratos y cenizas del ensilado de vísceras de "pollo".	10
<b>Tabla 3.</b> Componentes del medio de cultivo Guillard f/2 (Guillard, 1975).	13
<b>Tabla 4.</b> Densidad poblacional promedio ( $\text{org. ml}^{-1}$ ) en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp durante los días de cultivo.	20
<b>Tabla 5.</b> Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) poblacional diaria promedio en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp en todos los tratamientos.	23
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje promedio de las proteínas en peso seco de <i>Brachionus</i> sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.	24
<b>Tabla 7.</b> Porcentaje promedio de los lípidos en <i>Brachionus</i> sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.	26
<b>Tabla 8.</b> Eficiencia del EVP en la densidad poblacional, proteínas y lípidos de <i>Brachionus</i> sp al sexto día del experimento en todos los tratamientos.	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1</b> Flujograma de elaboración de ensilado de vísceras de “pollo”.....	10
<b>Fig. 2</b> Flujograma de la preparación de la solución stock de nutrientes para los tratamientos con EVP del experimento.....	12
<b>Fig. 3</b> Flujograma del análisis de proteínas en <i>Brachionus</i> sp.....	16
<b>Fig. 4</b> Flujograma para la determinación de lípidos en <i>Brachionus</i> sp.....	18
<b>Fig. 5</b> Curvas de crecimiento poblacional promedio en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp de todos los tratamientos.....	21
<b>Fig. 6</b> Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) poblacional diaria en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp en todos los tratamientos.....	23
<b>Fig. 7</b> Porcentajes promedio de las proteínas en peso seco de <i>Brachionus</i> sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos. ....	25
<b>Fig. 8</b> Porcentajes promedio de los lípidos en <i>Brachionus</i> sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos. ....	26
<b>Fig. 9</b> Variación de la temperatura promedio ( $^{\circ}$ C) en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp de todos los tratamientos.....	28
<b>Fig. 10</b> Variación del pH promedio en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp de todos los tratamientos. ....	29
<b>Fig. 11</b> Variación del oxígeno disuelto promedio en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp de todos los tratamientos.....	31



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b> Hembra amíctica de <i>Brachionus</i> sp observada en microscopio óptico binocular Marca Olympus a 40x. ....	58
<b>Anexo 2</b> Unidades experimentales de la investigación en el laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares. ....	58
<b>Anexo 3</b> Densidad poblacional ( $\text{org. ml}^{-1}$ ) diaria de <i>Brachionus</i> sp durante el cultivo en todas las unidades experimentales. ....	59
<b>Anexo 4</b> Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación (TD) poblacional al quinto día de cultivo de <i>Brachionus</i> sp en todas las unidades experimentales. ....	59
<b>Anexo 5</b> Porcentaje de proteínas en peso seco de <i>Brachionus</i> sp en todas las unidades experimentales. ....	60
<b>Anexo 6</b> Porcentaje de lípidos en peso seco de <i>Brachionus</i> sp en todas las unidades experimentales. ....	60
<b>Anexo 7</b> Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp en todas las unidades experimentales. ....	61
<b>Anexo 8</b> Temperatura promedio ( $^{\circ}\text{C}$ ) en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp .....	61
<b>Anexo 9</b> pH diario en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp en todas las unidades experimentales. ....	62
<b>Anexo 10</b> pH promedio en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp. ....	62
<b>Anexo 11</b> Oxígeno disuelto diario ( $\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) en los cultivos de <i>Brachionus</i> sp en todas las unidades experimentales. ....	63
<b>Anexo 12</b> Oxígeno disuelto promedio ( $\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) en todos los cultivos de <i>Brachionus</i> sp .....	63

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de tres concentraciones de ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” (EVP) (50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup>) en el crecimiento poblacional (org. ml<sup>-1</sup>), y contenido de proteínas y lípidos (%) del rotífero *Brachionus* sp. Los cultivos se iniciaron con 20 org. ml<sup>-1</sup>, distribuidos en tres tratamientos con tres repeticiones, utilizando el diseño experimental completamente al azar. Al sexto día de cultivo, se encontró la mayor densidad poblacional utilizando 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 167,3±4,0 org. ml<sup>-1</sup>, mientras que la menor fue obtenida con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 134,3±6,5 org. ml<sup>-1</sup>. Los mayores valores de la tasa específica de crecimiento poblacional estuvieron en los tratamientos con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 0,354±0,004 y 0,339±0,004 día<sup>-1</sup>, respectivamente; y el menor valor estuvo en el tratamiento con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 0,317±0,008 día<sup>-1</sup>. Asimismo, el mayor contenido de proteínas en peso seco al sexto día de cultivo de *Brachionus* sp se encontró en el tratamiento con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 57,19±1,07 y 57,35±0,61 %, respectivamente; y el menor se obtuvo con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 54,74±0,43 %. El contenido de lípidos obtenido con EVP fueron similares para los dosificados con 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> con valores de con 26,18±0,17; 26,56±0,10 y 26,74±0,26 %, respectivamente. Se concluye que el mejor tratamiento para el cultivo de *Brachionus* sp fue el dosificado con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP.

**Palabras Clave:** *Brachionus*, ensilado, vísceras, crecimiento poblacional, proteínas, lípidos.

## ABSTRACT

We evaluated the effect of three concentrations of viscera silage *Gallus gallus domesticus* “chicken” (VSC) (50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup>) in population growth (org. ml<sup>-1</sup>), and protein and lipid content (%) of the *Brachionus* sp. Cultures were initiated with 20 org. ml<sup>-1</sup>, divided into three treatments with three replicates using the completely randomized experimental design. On the sixth day of culture, we found the highest population density using 100 mg ml<sup>-1</sup> of VSC with 167,3±4,0 org. ml<sup>-1</sup>; while the lowest was obtained with 50mg ml<sup>-1</sup> of VSC with 134,3±6,5 org. ml<sup>-1</sup>. The highest values of the population growth specific rate were in treatments 100 and 150 mg ml<sup>-1</sup> of VSC with 0,354±0,004 and 0,339±0,004 days<sup>-1</sup>, respectively, and the lowest value was in the treatment with 50 mg ml<sup>-1</sup> of VSC with 0,317±0,008 days<sup>-1</sup>. Furthermore, the higher protein content by dry weight on the sixth day of cultivation of *Brachionus* sp. was found in the treatment with 100 and 150 mg ml<sup>-1</sup> of VSC with 57,19±1,07 and 57,35±0,61 %, respectively, and the lowest was obtained with 50 mg ml<sup>-1</sup> of VSC with 54,74±0,43 %. Lipid content VSC obtained were similar for dosed with 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> with values of 26,18±0,17; 26,56±0,10 and 26,74±0,26 %, respectively. It is concluded that the best treatment for growing *Brachionus* sp. was dosed with 100mg ml<sup>-1</sup> of VSC.

**Key Words:** *Brachionus*, silage, viscera, population growth, proteins, lipids.

## I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es definida como una actividad multidisciplinar, que abarca el cultivo de organismos acuáticos en cualquier fase de desarrollo de vida, tales como: plantas acuáticas, moluscos, crustáceos y peces; hoy en día representa la mayor actividad del sector de producción animal con mayor crecimiento en el mundo (Camargo & Pouey, 2005), convirtiéndose en una importante industria proveedora de alimentos de alto valor nutricional y generadora de empleo e ingresos en los países tanto desarrollados así como en los que se encuentran en vías de desarrollo (Mendoza, 2011), siendo así una actividad en pleno crecimiento que según FAO (2012) en las últimas tres décadas ha crecido casi 12 veces a una tasa media anual de 8,8%.

En acuicultura, la nutrición es un aspecto importante para el desarrollo de las especies cultivadas. En ocasiones, se observa que los alimentos suministrados no contienen los nutrientes necesarios que las especies en cultivo requieren para su óptimo crecimiento, principalmente en los estadios iniciales como larva, post larva y alevino, que son los momentos críticos en todas las especies, debido a su alta probabilidad de mortalidad (Kitajima *et al.*, 1980; Hirayama, 1985; Izquierdo, 2004), por lo que utilizar alimento vivo como fitoplancton y zooplancton es esencial durante su desarrollo y las investigaciones debe estar orientadas hacia aquellos microorganismos como fuente de alimentación (Lubzens *et al.*, 1989; Agh & Sorgeloos, 2005).

El alimento vivo es un recurso de gran valor nutricional para el cultivo de muchas especies de peces, debido a que constituye una cápsula nutritiva que contiene los elementos básicos que garantizan la sobrevivencia y un óptimo desarrollo y no sólo es estimado por ser fisiológicamente una forma valiosa de nutrimento, sino también un factor conductual importante, por el estímulo de comportamiento predatorio que despierta en la larva por su movilidad natural (Sorgeloos, 1995; Luna-Figueroa *et al.*, 2007). Por otra parte, tiene la cualidad de no afectar la calidad del agua, debido a que éste es consumido antes de que llegue al fondo, sin causar ningún tipo de descomposición (Castro *et al.*, 2003). Los rotíferos son el alimento vivo idóneo para larvas de peces y crustáceos debido a su diminuto tamaño, alta tasa de reproducción, lenta velocidad en su desplazamiento y sobre todo a su contenido bioquímico; de estos el género *Brachionus* ofrece la ventaja de incrementar su contenido nutricional de proteínas y lípidos en relación a su dieta (Lubzens *et al.*, 1989).

*Brachionus* es un organismo dentro del filo rotífera cuyo cuerpo está compuesto por aproximadamente 1000 células (Ruppert & Barnes, 1996), filtran pequeñas partículas de la columna del agua (bacterias o microalgas) por medio de la corona de cilios localizada en la región anterior del cuerpo que también utilizan para su locomoción (Fulks & Main, 1991). Su rango de talla está entre 100 y 340  $\mu\text{m}$ , y su incremento se debe sólo al incremento del plasma celular. En condiciones desfavorables como respuesta fisiológica a la calidad del agua, altas densidades de cultivo y cambios bruscos en la cantidad o calidad del alimento, producen hembras míticas y machos degenerados, culminando en la producción de huevos resistentes o cistos que estarán en

latencia hasta cuando las condiciones ambientales sean mejoradas (Lubzens *et al.*, 1985; Fukusho, 1989a; Fulks & Main, 1991; Dhert, 1996). *Brachionus* se alimenta de microalgas, protozoos, bacterias levaduras y materia orgánica (Oie & Olsen, 1997; Alessandro *et al.*, 1999), además de alimentos artificiales.

El rotífero *Brachionus* sp es muy importante en la alimentación de organismos acuáticos, cuya producción masiva se inició en Japón por investigaciones orientadas a lograr óptimas producciones utilizando como alimento *Saccharomyces cerevisiae* “levadura de pan” (Hirata & Mori, 1963), lo que ha permitido obtener altas densidades, llegando hasta 100 org. ml<sup>-1</sup>. El cultivo intensivo de rotíferos es de importancia fundamental como parte de los métodos de un cultivo sustentable, tanto para especies de agua dulce como marinas. Se ha demostrado que la producción controlada de alevinos y juveniles depende del buen estado de las larvas, siendo fundamental su alimentación con alimento vivo, dado que se observa que las altas mortalidades y crecimiento inadecuado son producto de una alimentación incorrecta y deficiente (Sorgeloos, 1995; Fernández *et al.*, 2007).

Con la finalidad de incrementar el valor nutricional de los rotíferos es común recurrir al uso de microalgas o mezclas de microalgas y levaduras (Fukusho *et al.*, 1976; Watanabe, 1978; Imada, 1980; Kitajima *et al.*, 1980; Watanabe *et al.*, 1983), con buenos resultados, así tenemos que los cultivos de *Brachionus* alimentado con la microalga *Nannochloris* sp se obtuvieron 75 % de proteínas, 22 % de lípidos y 3 % de cenizas, en base al peso seco, mientras que con “levadura de pan” los valores fueron de 71, 17 y 12 %, respectivamente.

Respecto al uso de ensilado en cultivo de *Brachionus*, es importante considerar los trabajos realizados por Olivera & Ramón (2011), quienes demostraron que el ensilado de pescado ( $5 \text{ ml L}^{-1}$ ) permite obtener mayores contenidos de proteínas y lípidos (59,17 % y 27,86 %) que los controles (56,85% y 26,37%) cultivados con *Tetraselmis suecica*. Asimismo, Bazán & San Miguel (2013), demostraron que con  $2 \text{ ml L}^{-1}$  de ensilado de residuos blandos de concha de abanico (ERBCA) obtuvieron mayores contenidos de proteínas y lípidos (55,78 % y 25,61%) que los controles (53,58% y 25,19%) cultivados con *T. suecica*.

La ventaja que ofrecen los rotíferos de *Brachionus* sp al ser organismos filtradores no selectivos nos permiten manipular su composición nutricional a través de enriquecimiento, utilizando dietas no convencionales como el ensilado. Una de las principales fuentes disponible de proteína animal de alta calidad son las vísceras de pollo, que comúnmente se consideran como un residuo en la industria de procesamiento avícola las que representan casi el 30 % de sus subproductos (Imam, 2013).

Nutricionalmente los subproductos avícolas deben ser considerados como recursos renovables debido a su composición bruta y a la gran cantidad de nutrientes que en éstos se pueden encontrar (Harvey, 1992) que al ser procesados pueden ser utilizados como ingredientes útiles en la elaboración de alimentos acuícolas (Kearns, 1990; Nabil, 1993), y una manera de utilizarlos es transformándolos en ensilado, que sirve para la alimentación animal.

El ensilado biológico se basa en la acidificación del medio favoreciendo la proteólisis, mediante un proceso de fermentación de bacterias ácido-lácticas permitiendo obtener un producto rico en nutrientes, de fácil elaboración y de bajo costo, con características idóneas para ser utilizado en acuicultura (González & Marín, 2005), por lo que, el ensilado biológico es un producto obtenido por acción microbiana a partir de material orgánico, ya sea restos vegetales o animales, caracterizado por su contenido de proteínas, obtenido mediante un proceso sencillo y económico que no requiere de procedimientos y equipos sofisticados y costosos (Berenz, 1998; Balsinde *et al.*, 2003). En consecuencia el ensilado biológico de vísceras de pollo como ensilado biológico permitirá el aprovechamiento de nutrientes para incrementar la calidad nutricional del rotífero *Brachionus sp*

El uso de los subproductos avícolas en la elaboración de alimentos destinados a los organismos acuáticos resulta benéfico en términos de aprovechamiento nutricional y crecimiento como lo reflejan diversos estudios realizados en peces, Jang & Bai (1997) sustituyeron en un 73,5 % con harina de subproductos avícolas, no encontrando diferencias de crecimiento en los peces alimentados con la dieta control a base de harina de pescado. Mendoza *et al.* (1998), demostraron el potencial attractante de hidrolizados de pluma en camarones penéidos como *Pennaeus vannamei* y *Pennaeus stylostris*.

No se ha encontrado trabajos donde se utilice ensilado de vísceras de pollo para el cultivo de *Brachionus sp* Es por ello que este trabajo se justifica ya que lo que pretende es utilizar el ensilado de vísceras de pollo en el cultivo de



*Brachionus* sp con la doble finalidad de incrementar el crecimiento poblacional y obtener buena calidad nutricional.

La importancia de producción masiva de *Brachionus* sp en la acuicultura radica en la necesidad asegurar la crianza sostenida y de calidad estandarizada de larvas y/o alevines, en un sistema que permita la producción masiva de *Brachionus* sp, a bajo costo y buena calidad.

En base a lo anteriormente mencionado, consideramos que el ensilado biológico de las vísceras de pollo como alimento para *Brachionus* sp permitirá mejorar su contenido de proteína y lípidos así como reducir los residuos en el ambiente; en tal sentido se plantea el problema: ¿Cuál será el efecto de tres concentraciones de harina de ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” en el crecimiento poblacional y contenido de proteínas y lípidos de *Brachionus* sp en condiciones de laboratorio?.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de tres concentraciones de harina ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” en el crecimiento poblacional y contenido de proteínas y lípidos de *Brachionus* sp. en laboratorio.

## 2.1. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto de las concentraciones 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de harina de ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” en el crecimiento poblacional de *Brachionus* sp.
- Determinar el efecto de las concentraciones 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de harina de ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” en el contenido de proteínas de *Brachionus* sp.
- Determinar el efecto de las concentraciones 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de harina de ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” en el contenido de lípidos de *Brachionus* sp.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Localización del Proyecto**

El trabajo experimental fue desarrollado en el Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura, Universidad Nacional del Santa, Nuevo Chimbote, Perú.

#### **3.2. Material Biológico**

Se utilizaron organismos de *Brachionus* sp los cuales fueron proporcionados por el Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa, Nuevo Chimbote, Perú, cuya población se encontraba en fase de crecimiento exponencial y en reproducción partenogenética.

#### **3.3. Diseño Experimental**

Se empleó el diseño completamente al azar (Steel & Torrie, 1988), con tres tratamientos (T1, T2 y T3) y un grupo control (Tc) con tres repeticiones cada uno (r1, r2 y r3), según se muestra en la siguiente Tabla 1.

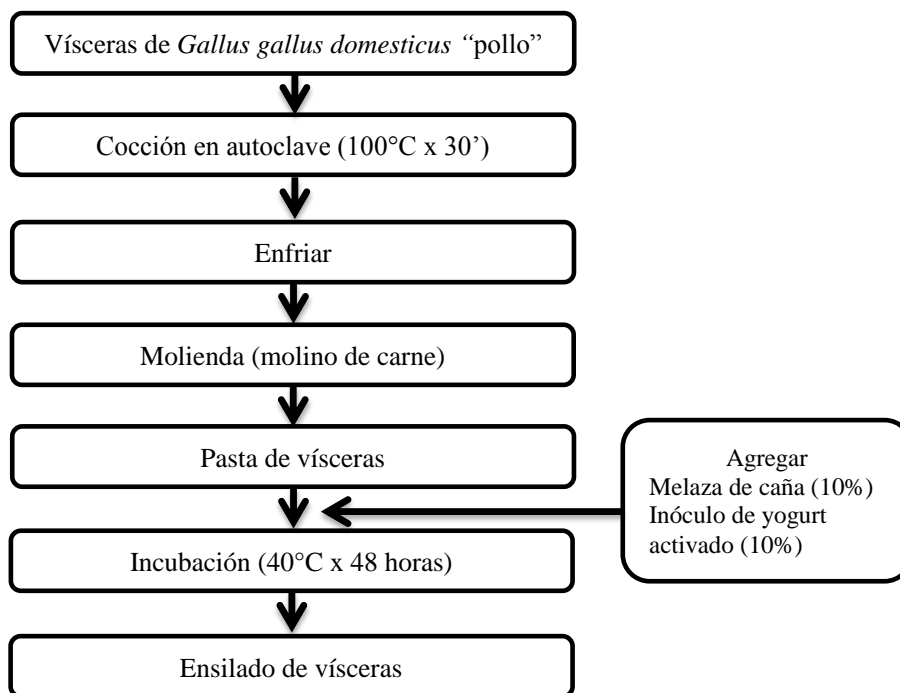
**Tabla 1.** Diseño experimental utilizado en la investigación.

Tratamientos	Repeticiones	Especificaciones
T <sub>c</sub>	r <sub>1</sub> , r <sub>2</sub> , r <sub>3</sub>	Cultivo de <i>Brachionus</i> sp alimentado con <i>Tetraselmis suecica</i> (5 x10 <sup>4</sup> cél. ml <sup>-1</sup> )
T <sub>1</sub>	r <sub>1</sub> , r <sub>2</sub> , r <sub>3</sub>	Cultivo de <i>Brachionus</i> sp alimentado con 50 mg ml <sup>-1</sup> (1 ml L <sup>-1</sup> ) de la solución stock del ensilado de vísceras de
T <sub>2</sub>	r <sub>1</sub> , r <sub>2</sub> , r <sub>3</sub>	Cultivo de <i>Brachionus</i> sp alimentado con 100 mg ml <sup>-1</sup> (2 ml L <sup>-1</sup> ) de la solución stock del ensilado de vísceras
T <sub>3</sub>	r <sub>1</sub> , r <sub>2</sub> , r <sub>3</sub>	Cultivo de <i>Brachionus</i> sp alimentado con 150 mg ml <sup>-1</sup> (3 ml L <sup>-1</sup> ) de la solución stock del ensilado de vísceras

#### **3.4. Preparación del Ensilado de Vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” (EVP)**

Se colectó las vísceras de “pollo” del mercado mayorista “La Perla” Chimbote en un balde plástico con tapa de 4 L, los que fueron llevados al Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa, para su utilización en la investigación.

La elaboración del EVP se realizó según metodología propuesta por Berenz (1998), y de acuerdo al flujograma de la Fig. 1.



**Fig. 1** Flujograma de elaboración de ensilado de vísceras de “pollo”.

Fuente: Berenz (1998).

El análisis de proteínas y lípidos del ensilado de vísceras de “pollo” se realizó en el Laboratorio COLECBI S.A.C. y la humedad, cenizas y carbohidratos fueron determinados en el Laboratorio de Biología de la Universidad Nacional del Santa según metodología de la AOAC (2007) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Contenido promedio en peso seco ( $\pm$  desviación estándar) de proteínas, lípidos, carbohidratos y cenizas del ensilado de vísceras de “pollo”.

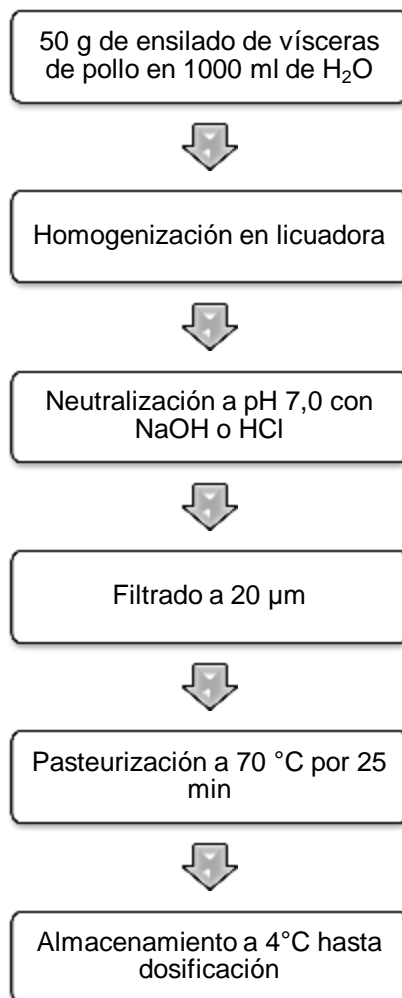
Análisis Químico Proximal (%)			
PT	LIP	CH	Ce
47,58	18,42	22,68	11,32
$\pm 0,45$	$\pm 0,35$	$\pm 0,85$	$\pm 0,17$

PT=Proteínas totales; LIP=Lípidos totales; CH=Carbohidratos; Ce=Cenizas

### **3.5. Preparación de la Solución Stock del Ensilado de Vísceras de Pollo**

Para la preparación de la solución stock del medio Ensilado de vísceras de pollo (EVP), se pesó 50 g de EVP y se homogenizó a 1000 ml con agua destilada en una licuadora. Luego de ser neutralizada a pH 7,0 utilizando NaOH para subir el pH. Se procedió a su filtración con una membrana de 20  $\mu\text{m}$  y con una bomba de vacío. Posteriormente se procedió a la pasteurización a 70 °C por 25 min (Madigan *et al.*, 2004). Procediendo a su almacenamiento en botellas de color oscuro y guardados en refrigeración a 4 °C.

Cada 1 ml de la solución stock contenía 50 mg de EVP, lo que asegura una adecuada cantidad de alimento para la población de *Brachionus* sp en los tratamientos. La solución stock de EVP (Fig. 2), por el tamaño pequeño de sus partículas, adquiere características acuosas que permitieron su dosificación volumétrica ( $\text{ml L}^{-1}$ ) directa como alimento de *Brachionus* sp



**Fig. 2** Flujograma de la preparación de la solución stock de nutrientes para los tratamientos con FVP del experimento.

### 3.6. Preparación del Medio de Cultivo Guillard f/2 para *T. suecica*

El medio de cultivo Guillard f/2 fue preparado utilizando los estándares establecidos por Guillard (1975) para el mantenimiento de los inóculos de *Tetraselmis suecica*, fue utilizado como alimento para *Brachionus* sp en el tratamiento control durante el experimento (Tabla 3).

**Tabla 3.** Componentes del medio de cultivo Guillard f/2 (Guillard, 1975).

<b>COMPUESTO</b>	<b>CONCENTRACIÓN (mg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Nutrientes Mayores</b>	
NaNO <sub>3</sub>	75,0000
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	5,0000
<b>Micronutrientes</b>	
Na <sub>2</sub> EDTA	4,3600
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	3,1500
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,0098
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,0220
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,0100
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,1800
Na <sub>2</sub> MnO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,0063
<b>Vitaminas</b>	
Tiamina	0,1000
Biotina	0,5000
Cyanocobalamina	0,5000

### **3.7. Acondicionamientos de las Unidades Experimentales en el Cultivo**

#### ***Brachionus* sp**

Se utilizaron 12 botellas de vidrio de 475 ml con volumen efectivo de cultivo de 350 ml con agua de mar. Los cultivos de rotíferos *Brachionus* sp se iniciaron con una concentración promedio de 20 org. ml<sup>-1</sup> en cada unidad experimental.

El agua de mar utilizado en los cultivos fue filtrada con una malla de nylal de 5 µm, y tratada con 0,5 ml de hipoclorito de sodio (4 % de Cl activo) por cada litro



por 12 h. Posteriormente fue neutralizada con 0,5 ml L<sup>-1</sup> de tiosulfato de sodio al 15 %, aireado vigorosamente por una hora para para optimizar el proceso de neutralización.

Las unidades experimentales fueron ordenadas en la mesa de trabajo al azar con iluminación constante proporcionado por un fluorescente de 40 W.

### **3.8. Alimentación de *Brachionus* sp**

Los rotíferos *Brachionus* sp fueron alimentados con las concentraciones de 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> (1, 2 y 3 ml L<sup>-1</sup> de la solución stock de EVP), y al control se le suministró suspensiones de la microalga *T. suecica* con una concentración final de 5 x10<sup>4</sup> cél. ml<sup>-1</sup>, todos ellos dosificados una vez al día (18:00 h) durante los seis días que duró las experiencia.

### **3.9. Determinación del Crecimiento Poblacional**

La densidad poblacional de *Brachionus* sp en cada una de las unidades experimentales fueron obtenidas por conteos diarios en cámara de Sedgwick - Rafter con muestras de 1 ml cada una y observando en un microscopio binocular marca Olympus a un aumento de 40x. Las densidades fueron graficadas de manera directa utilizando el software Microsoft Excel 2010. Las curvas de crecimiento sirvieron para establecer las fases de crecimiento exponencial y logarítmico en los cultivos para proceder a los análisis de proteínas y lípidos.

La tasa específica de crecimiento poblacional por día ( $\mu$ ) y el tiempo de duplicación diaria (TD), fueron determinados utilizando las siguientes formulas:

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{N_f}{N_0}\right)}{T_f - T_0}$$

$$TD = \frac{\ln(2)}{\mu}$$

Donde  $N_0$  y  $N_f$  corresponden al número de organismos por ml en los tiempos  $T_0$  y  $T_f$ , respectivamente.

### **3.10. Determinación de las Proteínas y Lípidos en *Brachionus* sp**

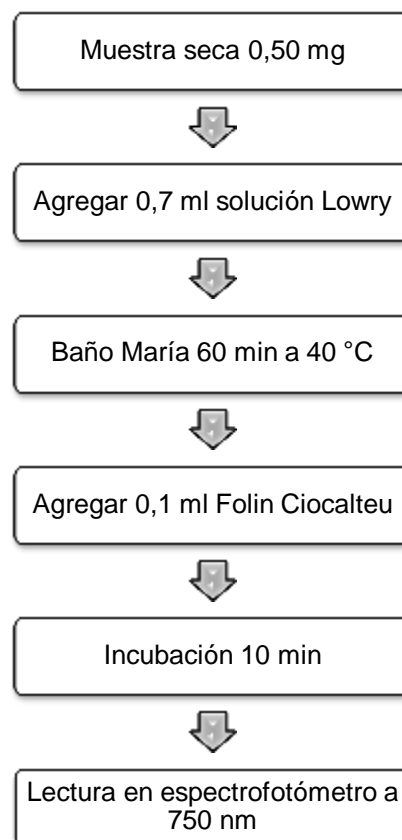
De cada unidad experimental, al final del cultivo (día 6), se tomó una muestra de 100 ml y se filtró con una malla de 50  $\mu$ m, cada filtrado fue colocado en una placa de Petri y secado en estufa eléctrica a 60 °C por 6 h, para analizar los contenidos de proteínas y lípidos.

#### **3.10.1. Determinación de proteínas**

El contenido de proteínas se determinó mediante el método colorimétrico de Lowry *et al.* (1951) conforme a la Fig. 3. Para ello de cada unidad experimental se tomó aproximadamente 0,50 mg de muestra seca pulverizada de *Brachionus* sp y se colocó en un tubo de ensayo cada una, y se añadió 0,7 ml de solución de Lowry. Inmediatamente los tubos de ensayo fueron llevados a baño María por 1 h a 40 °C para acelerar la

reacción. Transcurrido este tiempo los tubos de ensayo se dejaron enfriar al ambiente y se agregó 0,1 ml del reactivo Folin Ciocalteu y se dejó reposar por 10 min. Posteriormente se hicieron las lecturas en el espectrofotómetro UV-VIS Turner Barnstead con una absorbancia de 750 nm de longitud de onda. A la vez se obtuvo la curva de calibración para proteínas utilizando como muestra patrón albúmina sérica bovina (Merck 112018).

$$\text{Contenido Proteínas (\%)} = \frac{\left( \frac{\text{Absorbancia (nm)}}{1,2061} \right)}{\text{Peso Muestra (g)}} \times 100$$

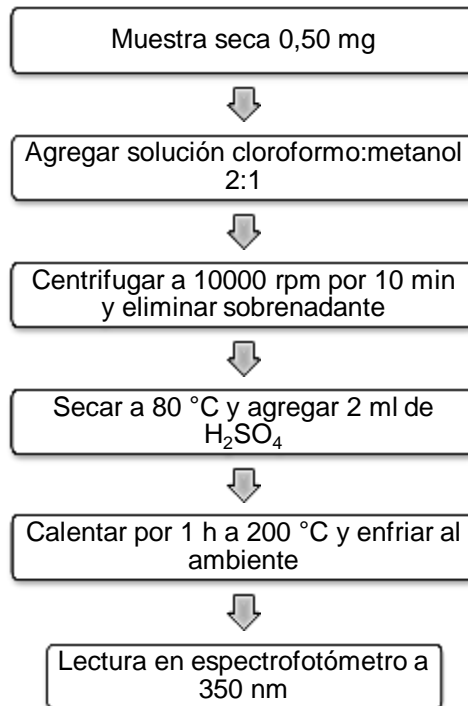


**Fig. 3** Flujograma del análisis de proteínas en *Brachionus sp*

### 3.10.2. Determinación de lípidos

El contenido de lípidos se determinó según metodología modificada de Bligh & Dyer (1959) y Marsh & Weinstein (1966) conforme a la Fig. 4. Para ello se agregó de cada unidad experimental 0,50 mg de la biomasa seca pulverizada de *Brachionus* sp a cada tubo de ensayo, y se adicionó 3 ml de solución de cloroformo:metanol (1:2), se dejó reposar por 24 h en refrigeración a 5 °C bajo sombra. Luego se centrifugó a 10000 rpm por 10 min, se eliminó el sobrenadante y se evaporó lo restante del solvente en un baño María a 80 °C e inmediatamente se llevó a estufa por 1 h a 105 °C para evaporar algún residuo de cloroformo, metanol o agua. Luego se agregó 2 ml de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado y se calentó a 200 °C por 1 h y dejándose enfriar a temperatura ambiente. Por último se realizaron las lecturas de absorbancia en espectrofotómetro UV-VIS a 375 nm de longitud de onda. La curva de calibración fue elaborada utilizando colesterol y ácido oleico.

$$\text{Contenido Lípidos (\%)} = \frac{\left( \frac{\text{Absorbancia (nm)}}{1,8532} \right)}{\text{Peso Muestra (g)}} \times 100$$



**Fig. 4** Flujograma para la determinación de lípidos en *Brachionus* sp

### 3.11. Registros de Parámetros Ambientales del Cultivo de *Brachionus* sp

Se registraron diariamente en los cultivos la temperatura con un termómetro digital Oakton ( $\pm 0,1$  °C), pH con un pH-metro digital Oakton ( $\pm 0,01$ ), salinidad con un conductímetro digital HACH Sension 5 ( $\pm 0,01$  ‰), oxígeno disuelto con un oxímetro digital HACH Sension 5 ( $\pm 0,01$  mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) y flujo del aire utilizando un flujómetro Cole Parmer ( $\pm 10$  ml min.<sup>-1</sup>).

Durante la ejecución del experimento se mantuvo el volumen de cada unidad experimental a 350 ml, eliminando agua del medio o agregando agua destilada de ser el caso y manteniéndose la salinidad en 35 ‰. Asimismo, el flujo de aireación en las unidades experimentales se mantuvo constante a 30 ml min.<sup>-1</sup> aproximadamente cada una.

### **3.12. Análisis Estadístico**

A todos los datos del crecimiento poblacional (densidad poblacional, tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación diaria), proteínas y lípidos, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer diferencias entre promedios. Luego a estos se les aplicó la prueba de Tukey HSD para establecer el mejor promedio entre tratamientos en cada día de cultivo. Para todos los casos se utilizó un nivel de significancia de 0,05.

El proceso estadístico fue desarrollado utilizando los programas Microsoft Office Excel 2010 y SPSS 20.0 para Microsoft Windows 7.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Crecimiento Poblacional de *Brachionus* sp

#### 4.1.1. Curvas de crecimiento poblacional

En la Tabla 4 y Fig. 10 se muestra los valores promedio de la densidad poblacional de *Brachionus* sp durante los días de cultivo.

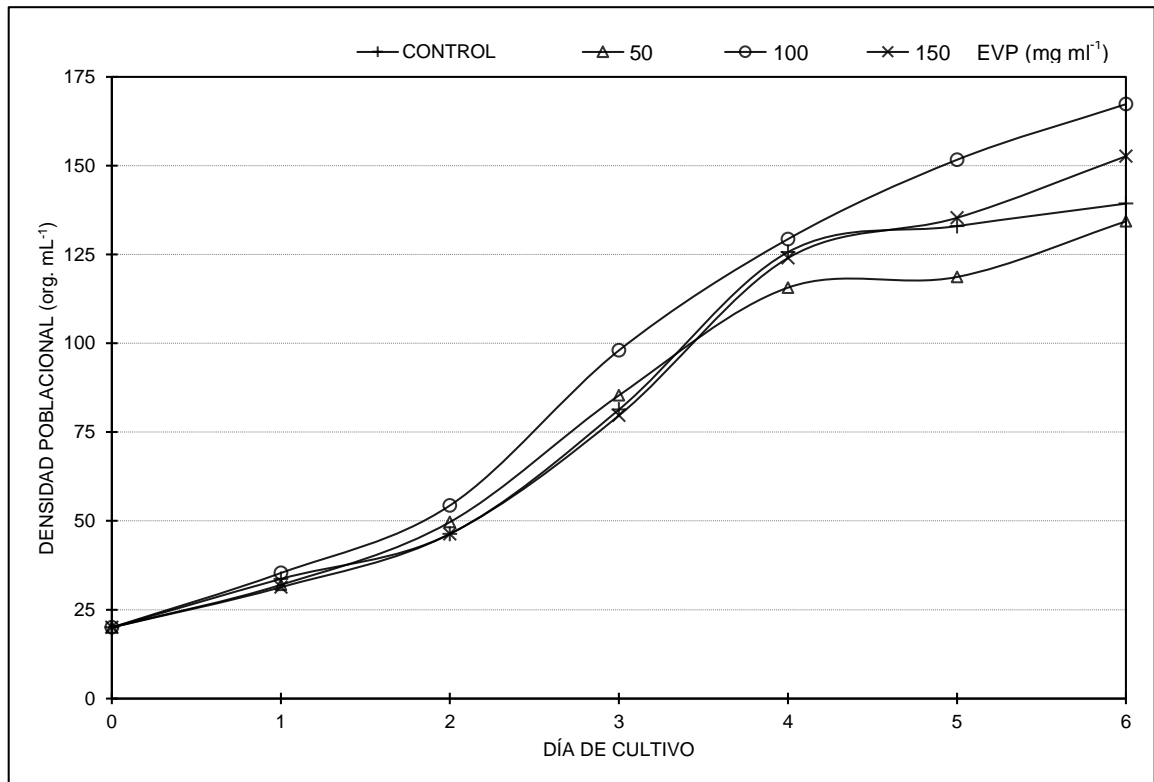
**Tabla 4.** Densidad poblacional promedio (org. ml<sup>-1</sup>) en los cultivos de *Brachionus* sp durante los días de cultivo.

DÍA DE CULTIVO	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	1	2	3
0	20,0 ±0,0 <sup>a</sup>	20,0 ±0,0 <sup>a</sup>	20,0 ±0,0 <sup>a</sup>	20,0 ±0,0 <sup>a</sup>
1	33,7 ±4,2 <sup>a</sup>	32,0 ±2,0 <sup>a</sup>	35,3 ±2,5 <sup>a</sup>	31,3 ±1,2 <sup>a</sup>
2	46,3 ±6,8 <sup>a</sup>	49,7 ±4,0 <sup>a</sup>	54,3 ±3,1 <sup>a</sup>	46,3 ±1,5 <sup>a</sup>
3	81,3 ±4,5 <sup>b</sup>	85,3 ±7,4 <sup>ab</sup>	98,0 ±5,3 <sup>a</sup>	79,7 ±3,1 <sup>b</sup>
4	125,7 ±7,8 <sup>a</sup>	115,7 ±4,5 <sup>a</sup>	129,3 ±2,5 <sup>a</sup>	124,0 ±7,2 <sup>a</sup>
5	133,0 ±7,9 <sup>b</sup>	118,7 ±7,0 <sup>b</sup>	151,7 ±3,8 <sup>a</sup>	135,3 ±6,7 <sup>ab</sup>
6	139,3 ±6,7 <sup>bc</sup>	134,3 ±6,5 <sup>c</sup>	167,3 ±4,0 <sup>a</sup>	152,7 ±4,0 <sup>b</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Los experimentos se iniciaron con una densidad poblacional promedio de 20 org. ml<sup>-1</sup> ( $p > 0,05$ ), los que se incrementaron al transcurrir los días del cultivo como se aprecian en la Tabla 4 y Fig. 5.

Las densidades poblacionales promedio durante el primer día de cultivo, presentaron valores estadísticamente iguales ( $p>0,05$ ) entre los 31,3 y 35,3 org. ml<sup>-1</sup> en los tratamientos con 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, respectivamente (Tabla 4 y Fig. 5).



**Fig. 5** Curvas de crecimiento poblacional promedio en los cultivos de *Brachionus* sp de todos los tratamientos.

En el segundo día de cultivo se obtuvo valores estadísticamente iguales ( $p>0,05$ ) aunque los promedios numéricos más altos estuvieron en los tratamientos con 50 y 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 49,7 y 54,3 org. ml<sup>-1</sup>.

Al tercer día de cultivo se presentaron valores estadísticamente diferentes ( $p<0,05$ ) entre los tratamientos, teniendo las mayores densidades promedio los tratamientos con 50 y 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con



85,3 y 98,0 org. ml<sup>-1</sup>, respectivamente; mientras que los menores promedios significativos ( $p < 0,05$ ) de las densidades poblacionales se encontraron en los tratamientos con 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP y el control con valores de 79,7 y 81,3 org. ml<sup>-1</sup>, respectivamente.

Al final del cultivo (día 6), se obtuvieron densidades poblacionales promedio estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) para los cultivos de *Brachionus* sp teniendo la mayor densidad poblacional el tratamiento con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 167,3 org. ml<sup>-1</sup>; seguido por el tratamiento con 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP que presentó una densidad poblacional promedio de 152,7 org. ml<sup>-1</sup>; valores que superan al tratamiento control 139,3 org. ml<sup>-1</sup> mientras que la menor densidad poblacional se obtuvo con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con un valor de 134,3 org. ml<sup>-1</sup>

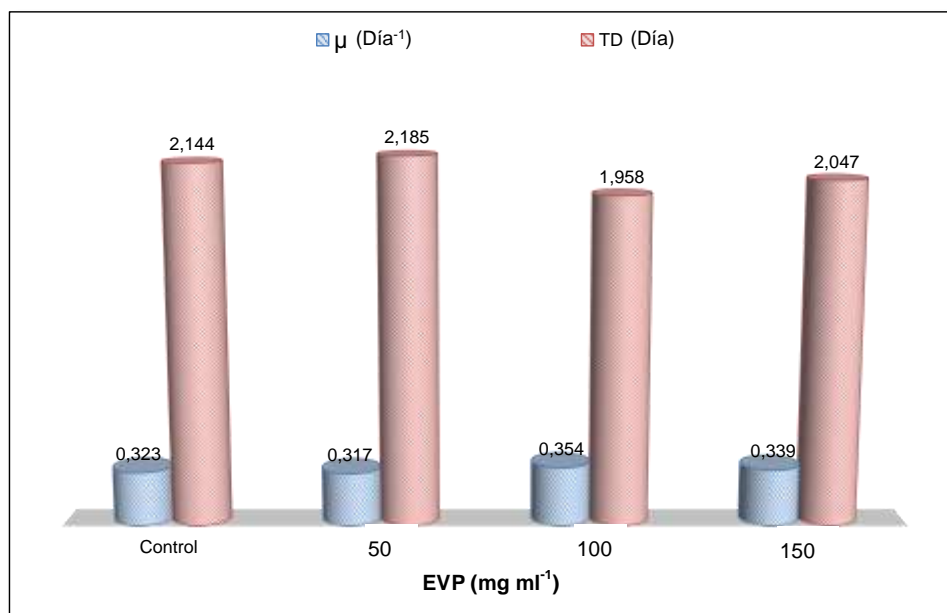
#### **4.1.2. Tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación poblacional diario de *Brachionus* sp**

En la Tabla 5 y Fig. 6 se observa la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) poblacional diaria promedio de *Brachionus* sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.

**Tabla 5.** Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) poblacional diaria promedio en los cultivos de *Brachionus* sp en todos los tratamientos.

PARÁMETRO	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	1	2	3
$\mu$ (día <sup>-1</sup> )	0,323 ± 0,008 <sup>bc</sup>	0,317 ± 0,008 <sup>c</sup>	0,354 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,339 ± 0,004 <sup>ab</sup>
TD (día)	2,144 ± 0,054 <sup>bc</sup>	2,185 ± 0,055 <sup>c</sup>	1,958 ± 0,022 <sup>a</sup>	2,047 ± 0,027 <sup>ab</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 6** Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) poblacional diaria en los cultivos de *Brachionus* sp en todos los tratamientos.

Los mayores promedios ( $p < 0,05$ ) de la tasa específica de crecimiento poblacional ( $\mu$ ) al sexto día se presentaron en los tratamientos con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con valores de 0,354 y 0,339 día<sup>-1</sup>, respectivamente; mientras que el menor promedio ( $p < 0,05$ ) se presentó en el tratamiento

con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con un valor de 0,317 día<sup>-1</sup>. El control presentó un promedio menor de 0,323 día<sup>-1</sup>.

En cuanto a la tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) se observó que el mayor promedio ( $p < 0,05$ ) se presentó en el tratamiento con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 2,185 día; mientras que los menores promedios significativos ( $p < 0,05$ ) estuvieron en los tratamientos con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con valores de 1,958 y 2,047 día, respectivamente.

## 4.2. Contenido de Proteínas y Lípidos en *Brachionus sp*

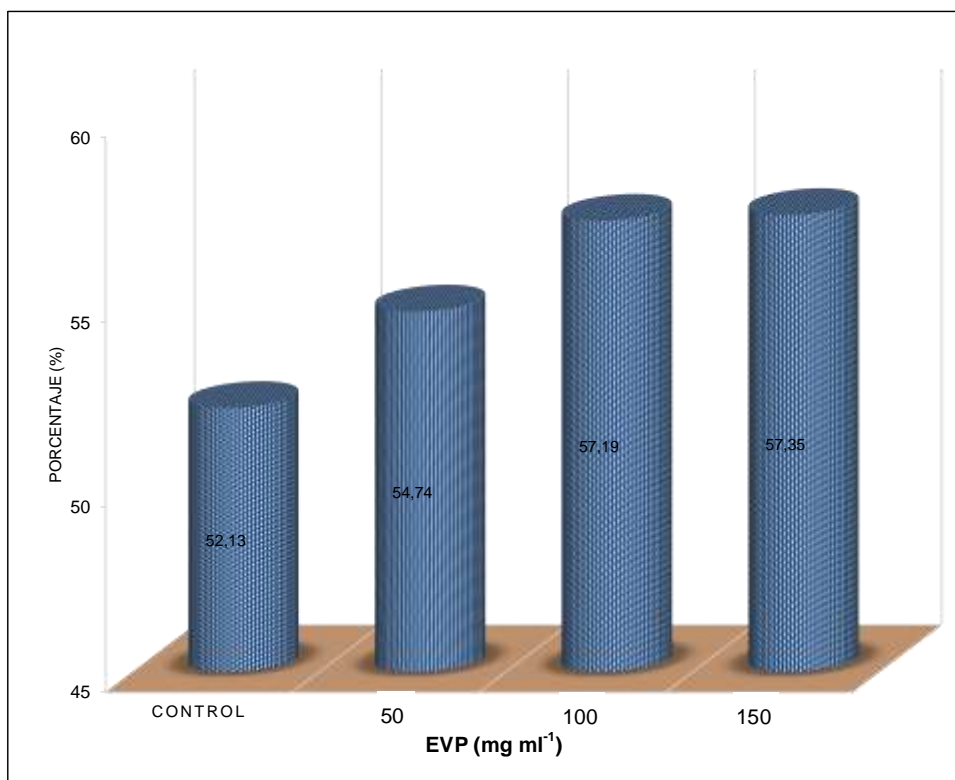
### 4.2.1. Contenido de proteínas

Se observa en la Tabla 6 y Fig. 7 los porcentajes promedio de proteínas en peso seco de *Brachionus sp* al sexto día del experimento en todos los tratamientos.

**Tabla 6.** Porcentaje promedio de las proteínas en peso seco de *Brachionus sp* al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.

PARÁMETROS	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	1	2	3
Proteínas (%)	52,13 ±0,67 <sup>c</sup>	54,74 ±0,43 <sup>b</sup>	57,19 ±1,07 <sup>a</sup>	57,35 ±0,61 <sup>a</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa ( $p < 0,05$ ). Porcentajes en base a peso seco.



**Fig. 7** Porcentajes promedio de las proteínas en peso seco de *Brachionus* sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.

Los mayores promedios significativos ( $p < 0,05$ ) del porcentaje de proteínas al sexto día de cultivo de *Brachionus* sp se presentaron en los tratamientos con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con valores de 57,19 y 57,35 % en peso seco, respectivamente; mientras que el tratamiento con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP presentó un menor valor con 54,74 % en peso seco. El control presentó el menor valor promedio significativo ( $p < 0,05$ ) con el 52,13 %.

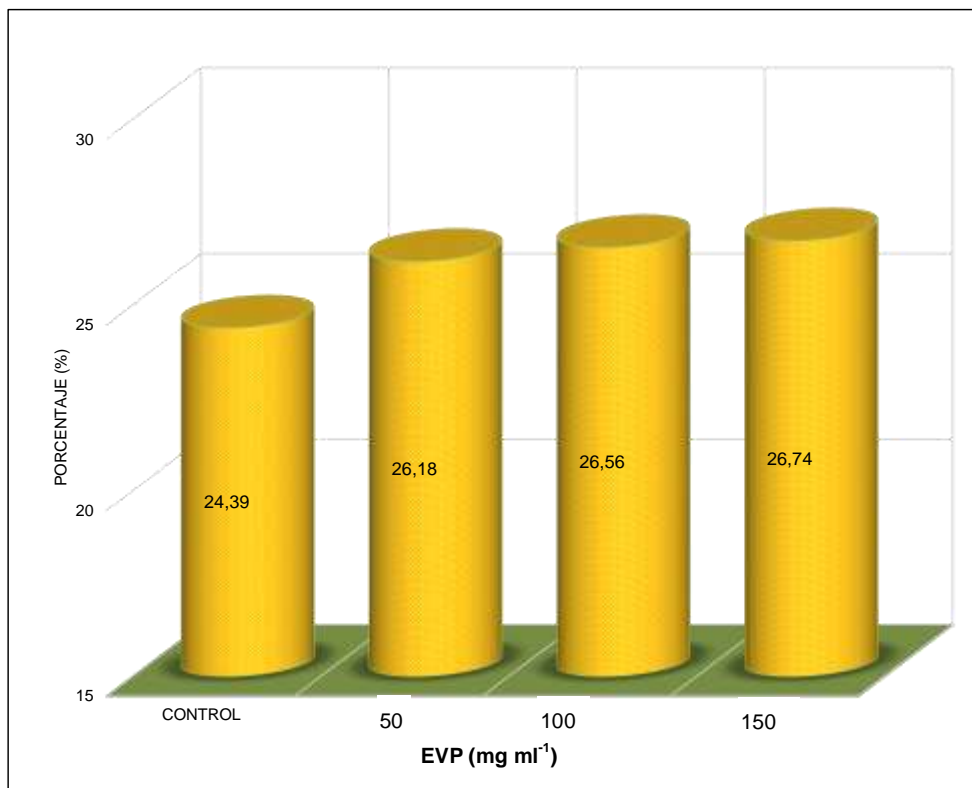
#### 4.2.2. Contenido de lípidos

En la siguiente Tabla 7 y Fig. 8 se observan los porcentajes promedio de lípidos en *Brachionus* sp al sexto día del experimento en todos los tratamientos.

**Tabla 7.** Porcentaje promedio de los lípidos en *Brachionus* sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.

PARÁMETROS	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	1	2	3
Lípidos (%)	24,39 ±0,44 <sup>b</sup>	26,18 ±0,17 <sup>a</sup>	26,56 ±0,10 <sup>a</sup>	26,74 ±0,26 <sup>a</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa ( $p < 0,05$ ). Porcentajes en base a peso seco.



**Fig. 8** Porcentajes promedio de los lípidos en *Brachionus* sp al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.

En el sexto día de cultivo de *Brachionus* sp (Tabla 7 y Fig. 8) los mayores promedios ( $p < 0,05$ ) del porcentaje de lípidos en peso seco se presentaron en los tratamientos dosificados 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, con valores de 26,18; 26,56 y 26,74 %, respectivamente. El control presentó el menor valor significativo ( $p < 0,05$ ) promedio de lípidos en peso seco de *Brachionus* sp, con 24,39 %.

#### 4.3. Eficiencia del EVP en la Densidad Poblacional, Proteínas y Lípidos en *Brachionus* sp

Se aprecia en la Tabla 8, la eficiencia del EVP en la densidad poblacional, porcentajes promedio de proteínas y lípidos en peso seco de *Brachionus* sp al sexto día del experimento en todos los tratamientos.

**Tabla 8.** Eficiencia del EVP en la densidad poblacional, proteínas y lípidos de *Brachionus* sp al sexto día del experimento en todos los tratamientos.

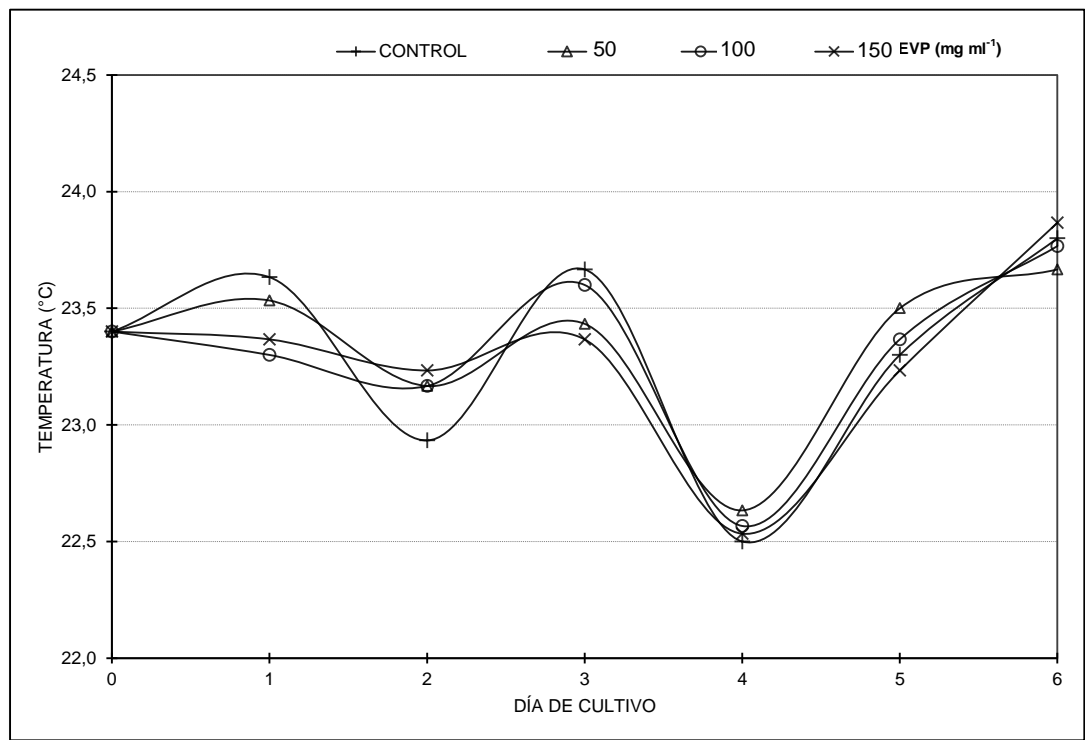
PARÁMETRO	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	1	2	3
EVP (mg L <sup>-1</sup> )	--	50,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	150,0 ± 0,0
Densidad org. ml <sup>-1</sup>	139,3 ± 6,7	134,3 ± 6,5	167,3 ± 4,0	152,7 ± 4,0
Densidad (%)	100,00 ± 0,00	96,67 ± 8,83	120,34 ± 7,98	109,68 ± 4,28
Lípidos (%)	100,00 ± 0,00	107,35 ± 1,68	108,90 ± 2,12	109,65 ± 2,76
Proteínas (%)	100,00 ± 0,00	105,01 ± 1,27	109,72 ± 2,73	110,02 ± 2,47

Comparando los tratamientos dosificados con EVP y el control, se obtuvieron mayores valores en porcentaje de la densidad poblacional, lípidos y proteínas, con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, y siendo el mejor tratamiento, para todos los casos, el dosificado con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP dado la menor utilización de nutrientes.

#### 4.4. Parámetros del Cultivo de *Brachionus* sp

##### 4.4.1. Temperatura del cultivo

Se observa en la Fig. 9 y los Anexos 3 y 4, la temperatura de cada tratamiento en los cultivos de *Brachionus* sp durante el experimento.



EVP: Ensilado de Visceras de pollo

**Fig. 9** Variación de la temperatura promedio (°C) en los cultivos de *Brachionus* sp de todos los tratamientos.

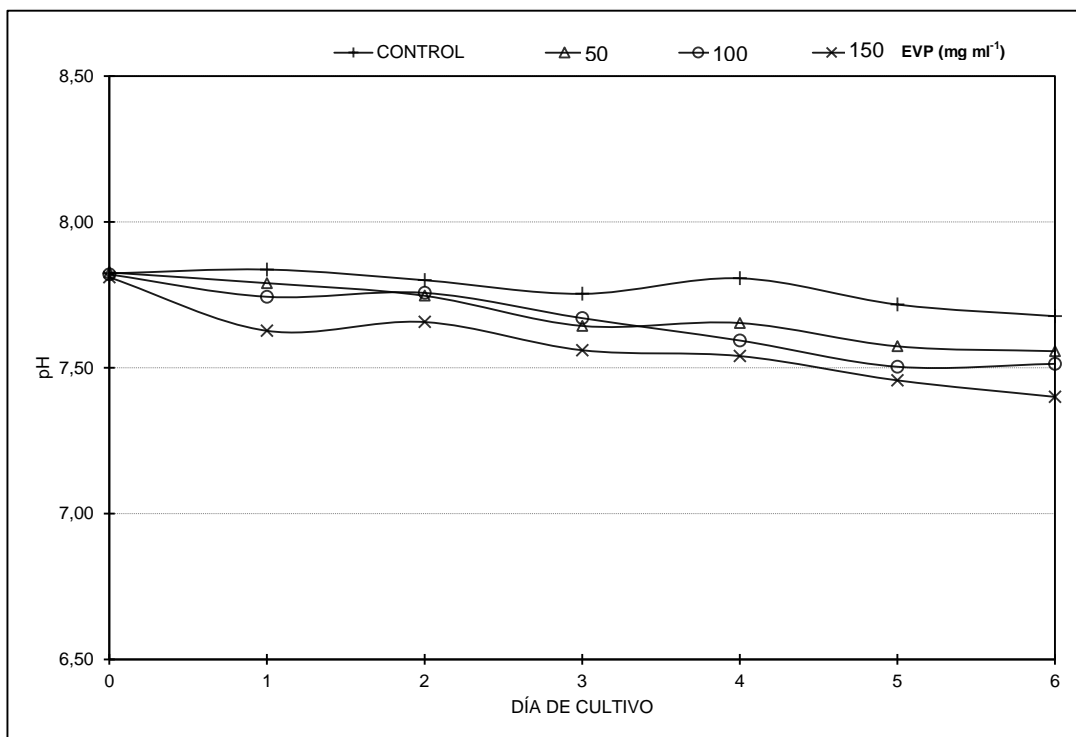
La temperatura en los cultivos de *Brachionus* sp durante el experimento estuvo entre un mínimo de 22,3 °C y un máximo de 24,1 °C (Fig. 9, Anexos 3 y 4), para todos los tratamientos.

#### 4.4.2. Salinidad del cultivo

La salinidad para todas las unidades experimentales se mantuvo en valores promedio de 35,0 ‰.

#### 4.4.3. pH del cultivo

Los valores del pH promedio en los cultivos de *Brachionus* sp se observan en la Fig. 10 y Anexos 5 y 6, durante los días del experimento.



**Fig. 10** Variación del pH promedio en los cultivos de *Brachionus* sp de todos los tratamientos.

Los cultivos se iniciaron con valores de pH similares ( $p > 0,05$ ) para todos los tratamientos (Fig. 10) entre un mínimo y máximo de 50 y 150  $\text{mg ml}^{-1}$

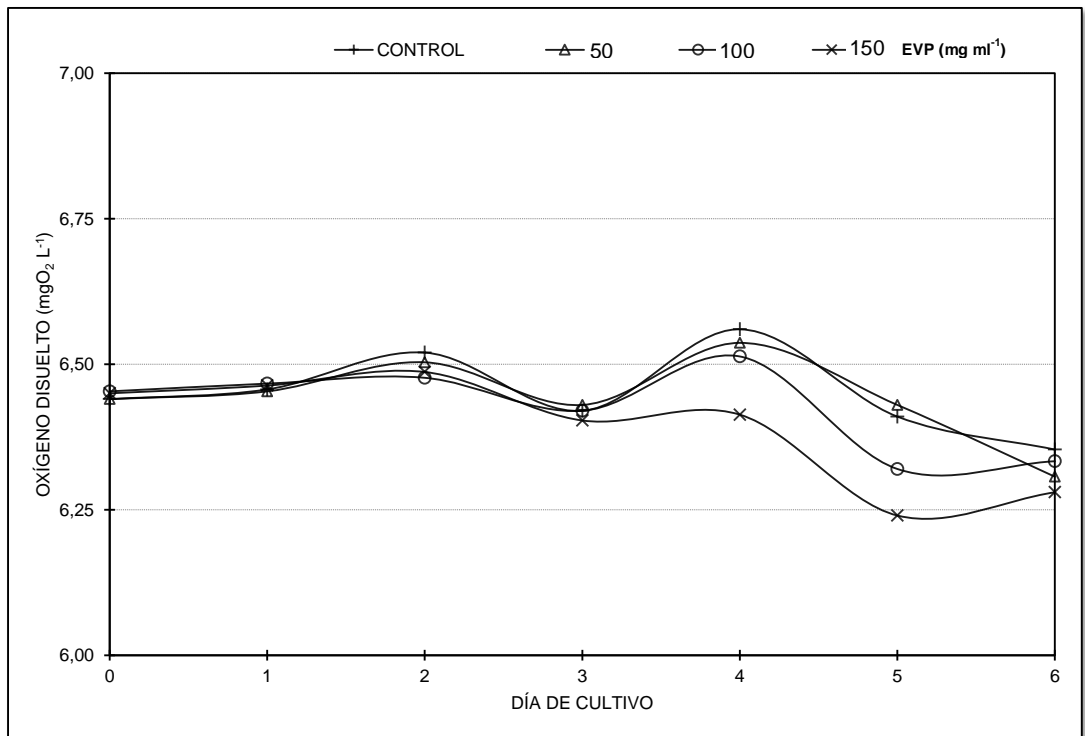


de EVP, respectivamente, y estos presentaron una variación con el transcurrir de los días de cultivo.

Al final de la experiencia se obtuvieron promedios de pH significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos (Fig. 10, Anexos 5 y 6). Los menores promedios de pH se encontraron en los tratamientos con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, con valores de 7,51 y 7,40, respectivamente. Mientras que los mayores promedios de pH se encontraban en los tratamientos con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP y el control, con valores de 7,56 y 7,68, respectivamente.

#### **4.4.4. Oxígeno disuelto del cultivo**

En la Fig. 11 y Anexos 7 y 8, se muestran los valores del oxígeno disuelto promedio en los cultivos de *Brachionus* sp durante los días del experimento.



**Fig. 11** Variación del oxígeno disuelto promedio en los cultivos de *Brachionus* sp de todos los tratamientos.

Los valores promedio del oxígeno disuelto en todos los tratamientos estuvieron entre los 6,24 y 6,56 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 11, Anexo 8), presentando valores estadísticamente iguales ( $p > 0,05$ ) al inicio y al final del cultivo.

## V. DISCUSIÓN

*B. plicatilis* puede ingerir diariamente entre 60 y 90 % de su peso seco, mientras que *B. rotundiformis* puede ingerir hasta 160 % de su peso seco (Navarro, 1999). Así en el experimento, se aseguró que en los tratamientos se tenga una mínima concentración de alimento diario y por esto la cantidad de alimento dosificado no sería un factor que limite el crecimiento poblacional en los cultivos.

Hirata *et al.* (1985), realizaron experiencias con cultivos masivos de *Brachionus plicatilis*, registrando densidades desde los 100 a 200 org. ml<sup>-1</sup>, pero utilizando otras variables como una mayor cantidad de alimento, Fukusho (1989b) y Pfeiffer & Ludwig (2002), encontraron densidades mayores a 1000 org. ml<sup>-1</sup>. De esto CENAIM (1999), menciona que de acuerdo al tipo y concentración de alimento se obtienen densidades de *B. plicatilis* entre 150 y 800 org. ml<sup>-1</sup>; y King (1977) encontró densidades poblacionales intermedias de 200 a 400 org. ml<sup>-1</sup>.

En experiencias con cultivos masivos de *Brachionus* sp dándoles como alimento microalgas, levaduras, bacterias fueron registrados densidades que sobrepasan 1000 org. ml<sup>-1</sup> (Hirata, 1974). Siendo muy variable las densidades poblaciones y que están de acuerdo al tipo y cantidad de alimento dosificado, los que según Fernández & Paredes (2007), las principales ventajas del uso de ensilado biológico (pescado) radica en su contenido proteico (18,46 %) y presencia de ácidos grasos poliinsaturados (34,15%), nutrientes que pueden

mejorar la calidad nutricional de *B. plicatilis* y el mejor desarrollo del crecimiento poblacional. En el experimento utilizando Ensilado de Vísceras de Pollo (EVP), encontramos que las mayores densidades estuvieron en los dosificados con una mayor concentración de alimento con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, siendo el mayor promedio el obtenido con 100 mg ml<sup>-1</sup> con una densidad de 167,3 org. ml<sup>-1</sup>, siendo posible la concentración más adecuada para la producción de *Brachionus* sp con EVP.

CENAIM (1999), sostiene que las hembras pueden producir hasta diez generaciones de progenie antes que eventualmente mueran, y estos pueden llegar a ser adultos después de 0,5 a 1,5 día, a partir de la cual las hembras empiezan a producir huevos cada 4 h aproximadamente, determinado también por la temperatura de los cultivos.

El crecimiento poblacional de *B. plicatilis* depende también de la capacidad de ingestión del alimento agregado en el medio de cultivo de dichos organismos. De la Cruz (1995), sostiene que el tamaño del alimento más apropiado para la ingestión en *B. plicatilis* es de 6 µm con preferencia entre 4 a 10 µm. Así, Romero & Otero (2004) y Romero *et al.* (2006), alimentaron a *B. plicatilis* con pastas de *Chlorella* sp centrifugada, la cual fue almacenada a 4 °C, y obtuvieron densidades poblacionales de 214 y 250 org. ml<sup>-1</sup>, respectivamente. Esto demostraría que puede utilizarse alimento inerte en los cultivos de rotíferos, como en el caso nuestro el EVP es un alimento de buenas características para ser utilizadas en los cultivos, como lo demuestra Pfeiffer & Ludwig (2002), utilizando sistemas de cultivos de rotíferos que incluyen

alimentación continua con pasta o suspensión inerte, encontraron que alimentando *B. plicatilis* con pasta de *Nannochloropsis* sp, se obtienen mayores densidades de rotíferos desde 500 a 1500 org. ml<sup>-1</sup>, mientras que Gómez & Gómez (1997), utilizaron levadura de panificación, obteniendo densidades de 60; 218 y 336 org. ml<sup>-1</sup>, respectivamente, demostrando la posibilidad de la utilización del alimento inerte, con buenos resultados como los obtenidos en el presente trabajo de investigación con EVP.

Cabrera (2008), trabajó con poblacionales de *B. rotundiformis* en quimiostato de dos cámaras, encontrando una tasa de crecimiento poblacional ( $\mu$ ) de 1,2 día<sup>-1</sup> para *B. rotundiformis*, en la fase estacionaria, la misma que cercana a 1,35 día<sup>-1</sup> en la fase estacionaria de cultivos cerrados reportados por Pascual & Yufera (1983) y Gama-Flores *et al.* (2005). En el experimento la mayor tasa específica de crecimiento se obtuvo en el tratamiento con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP con 0,354 día<sup>-1</sup>, valores menores que los mencionados por los autores pero estos fueron tomados al sexto día de cultivo, aunque estaría más cercano al obtenido por Abu-Rezeq (1987) para *B. rotundiformis* en la misma fase en sistemas de cultivo continuo con un valor de 0,6 día<sup>-1</sup>, y en el rango de los reportados por Bazán y San Miguel (2013), con 50 y 100 mg ml<sup>-1</sup> con rotíferos alimentados con ensilado de concha de abanico, con un rango promedio de 0,283 y 0,363 día<sup>-1</sup>.

Nuestros resultados fueron mayores a los reportados por Guevara *et al.* (2011), que alimentaron a *B. plicatilis* con pastas de *Rhodomonas salina* obtenidas por centrifugación y floculación con quitosano los que indujeron un crecimiento del

rotífero con una densidad máxima de 320 org. ml<sup>-1</sup> y tasa instantánea de crecimiento de 0,23 día<sup>-1</sup>, y que los reportados por Rothaup (1985), trabajando en sistemas continuos con *B. rubens* con 0,18 día<sup>-1</sup>. Estas diferencias reflejan las particularidades de la ecología evolutiva de las especies aún del mismo género, así como, el efecto de emplear distintos alimentos y condiciones experimentales (Cabrera, 2008); concluyendo que este alimento mantiene su calidad nutricional como alimento para *B. plicatilis*, lo que nos permite inferir que el EVP es un alimento factible de utilizar y no se ve afectado en su asimilación por el rotífero *Brachionus* sp

En cuanto al tiempo de duplicación, que implica el tiempo para que una población se incremente en un 100 %, Ahmed *et al.* (2010), encontraron que en la fase logarítmica del cultivo de *B. calyciflorus*, el tiempo de duplicación (TD) presentó un valor de 2,26 día. En nuestra investigación, encontramos valores menores a los mencionados por Ahmed *et al.* (2010), de 1,958 día (100 mg ml<sup>-1</sup> EVP), a 2,185 día (50 mg ml<sup>-1</sup>); y cercanos a los encontrados por Bazán & San Miguel (2013), con ensilado de concha de abanico (1,909 y 2,072 día). Nuestros resultados de TD evidencian que con 100 mg ml<sup>-1</sup> se encuentran en un nivel óptimo con respecto a los dosificados con 50 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, siendo probable que el tratamiento con 50 mg ml<sup>-1</sup> de EVP es insuficiente como alimento y que con 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP sea excesiva, implicando posible contaminación o generación de nitrógeno amoniacal producto de la descomposición del alimento no ingerido, lo que afecta la demanda del crecimiento poblacional.

Se ha estudiado la composición química de los rotíferos alimentados con microalgas y levaduras (Imada, 1980; Kitajima *et al.*, 1980; Watanabe *et al.*, 1983), observándose que los rotíferos alimentados con *Nannochloris* contenían un 75 % de proteína y 22 % de lípidos, en base al peso seco; mientras que los alimentados con levadura obtuvieron un 71 % de proteína y 17 % de lípidos, indicando que la composición química del rotífero varía de acuerdo al alimento ingerido, lo que estaría justificando las variaciones del contenido de lípidos y proteínas de *B. plicatilis* observadas en los tratamientos con EVP.

Guevara *et al.* (2011), mencionan que el rotífero *B. plicatilis*, presenta una composición bioquímica de acuerdo a la calidad nutricional del alimento suministrado, y reforzado esto Lubzens *et al.* (1995) y Dhert (1996), han demostrado que la calidad nutricional de este organismo depende de la composición bioquímica de la microalga utilizada para su alimentación, lo que según Fernández & Paredes (2007), las principales ventajas del uso de un alimento orgánico radica en su contenido proteico y lipídico, los que pueden mejorar la calidad nutricional de *B. plicatilis*.

En el experimento encontramos que el contenido de proteínas fueron de 54,74 %, 57,19 % y 57,35 % en los dosificados con EVP con 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup>, respectivamente, y para lípidos con 26,18 %, 26,56 % y 26,74 % para los mismos tratamientos, siendo la tendencia a mayor cantidad de nutrientes mayor el contenido de aquellos.

Olivera & Ramón (2011), utilizando ensilado de vísceras de pescado, encontraron que el contenido de proteínas totales en *B. plicatilis* en los cultivos dosificados con 5 ml L<sup>-1</sup> fue mayor que en los demás tratamientos con un valor de 59,17 % y el dosificado con 10 ml L<sup>-1</sup> fue de 55,83 %. Del mismo modo, utilizando ensilado de residuos blandos de concha de abanico, Bazán & San Miguel (2013), encontraron un máximo valor al quinto día de cultivo en los tratamientos con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> con 55,78 y 55,82 %, respectivamente; siendo estos últimos valores ligeramente inferiores al tratamiento con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP del presente trabajo y que presentó 57,19 % y ligeramente menor a lo reportado por Olivera & Ramón (2011).

Øie & Olsen (1997), encontraron que en *B. plicatilis*, el contenido de proteína por rotífero se incrementa de un 60 a 80 % cuando la tasa de crecimiento aumenta, demostrando que los niveles de proteínas totales son variables y dependen de la alimentación y las condiciones de crecimiento; Fernández-Reiriz *et al.* (1993), reportan que *B. plicatilis* tiene un aproximado de 36,06 % de proteína total, el mismo que es muy inferior a los obtenidos por otros autores, indicando esta variabilidad. También, Srivastavaa *et al.* (2006), cultivando *B. plicatilis* con levadura de pan, aceite de hígado de bacalao y *Chlorella* sp en proporción 65:25:15 en peso seco, respectivamente, encontraron que las proteínas constituyeron un 50,6 %, por lo que el contenido de proteínas en el experimento se incrementa de acuerdo al nivel de alimento suministrado, obteniendo los mejores resultados con el tratamiento con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP.



El contenido de lípidos en rotíferos también se encuentra influenciado por el tipo de alimento suministrado, Caric *et al.* (1993), encontraron que los rotíferos *B. plicatilis* alimentados con *Nannochloropsis* sp tenían de 11,1 a 17,2 % de lípidos totales; mientras que los alimentados con levadura tuvieron de 10,3 a 19,4% de lípidos totales. Estos valores son menores a los determinados por nosotros con valores de 26,18 %, 26,56 % y 26,74 % para los tratamientos con 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, respectivamente. Estos resultados comparados a los nuestros, manifiestan notorias ventajas del uso de ensilado de vísceras de pollo, por ser mayores, incluso que los reportados por Blair (2005), que obtuvo 12,6% de lípidos en rotíferos alimentados con una dieta control con producto INVE CS3000 y *Nannochloropsis* sp

Bazán & San Miguel (2013), alimentando *B. plicatilis* con ensilado de concha de abanico obtuvieron menor porcentaje de lípidos en el tratamiento con 1 ml L<sup>-1</sup> (24,17 %); mientras que los mayores promedios se presentaron en los tratamientos con 2 y 3 ml L<sup>-1</sup> (25,61 % y 25,57 %), siendo estos ligeramente menores que los encontrados en el presente trabajo.

Así encontramos que el contenido de lípidos presenta la misma tendencia que las proteínas, con mayores valores en los tratamientos que fueron suministrados con una mayor cantidad de EVP, probablemente debido a su mayor disponibilidad en los dosificados con 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, aunque la eficiencia fue mejor con 100 mg ml<sup>-1</sup> de EVP debido a que fue utilizado una menor cantidad de EVP que el alimentado con 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, y los que se obtuvieron porcentajes similares de lípidos.

Nuestros resultados también fueron ligeramente superiores (26,18 a 26,74 %) a los rangos obtenidos para rotíferos alimentados con *Chlorella* + levadura (20 a 22 %) y con sólo levadura (22,19 %) por Lubzens *et al.*, (1989); Naz, (2008), y utilizando ensilado de vísceras de pescado (23,68 a 27,86 %) por Olivera & Ramón, (2011). Lo que nos permite concluir que el EVP es asimilable y que además permite óptimos crecimientos con un nivel lipídico importante que serviría como un buen alimento para larvas de organismos acuáticos. En consecuencia, la utilización del EVP como alimento para *Brachionus* sp es promisorio por los resultados obtenidos y que su calidad nutricional, por el contenido de proteínas y lípidos, harían de éste un alimento vivo importante para organismos acuáticos especialmente para la producción de “semilla” que es una etapa crítica en los cultivos de peces.

CENAIM (1999), manifiesta que la temperatura en la cual generalmente se cultiva *Brachionus plicatilis*, oscila entre 20 y 27 °C, con una salinidad entre 18 y 35 ‰, pero los valores óptimos de estos parámetros varían según la cepa. CENDES (1986) y Fukusho & Iwanoto (1980), refieren que la temperatura óptima para el cultivo de *B. plicatilis* se encuentra entre 24 - 28 °C, y que a menos de 15 °C y mayor de 35 °C los organismos no se reproducen.

En el experimento se mantuvo la temperatura en el rango de 22,3 y 24,1 °C, valores similares a los reportados por CENDES (1986) y Fukusho & Iwanoto (1980), y dentro del rango de lo establecido por el CENAIM (1999). Aunque Barnabé (1991), comparó 2 tipos de cepas de *B. plicatilis*, encontrando en una

cepa japonesa con tasa máxima de crecimiento a los 27 °C, y una cepa española que alcanzó su tasa máxima de crecimiento a los 35 °C, determinando que las dos cepas difieren esencialmente por el grado térmico óptimo, ya que por fuera de dichos rangos decaen bruscamente, pero estos valores son cercanos a los encontrados en el experimento, por lo que la temperatura no ha sido un factor influyente en la determinación de los resultados.

La salinidad en los cultivos de rotíferos se debe mantener en lo posible en un rango estable, aunque estos son osmorreguladores conformadores y pueden tolerar salinidades que van desde 1 hasta 97 ‰ (Epp & Winston, 1977; Fielder *et al.*, 2000), pero se cultivan a salinidades cercanas al agua de mar (35 ‰). En todas las unidades experimentales se mantuvo la salinidad en un valor de 35 ‰, estando en los rangos establecidos por Epp & Winston (1977), Fielder *et al.*, (2000) y Dabbagh *et al.* (2011), lo que no fue un parámetro influyente en la obtención de los resultados.

Radwan (1984) y Abu-Rezeq *et al.* (1997), infieren que, los valores extremos de pH pueden tener influencia decisiva sobre la producción de los rotíferos y que el pH se presenta como un factor que debe mantenerse en un rango medio de 7 a 8 preferiblemente. En la investigación, al sexto día de cultivo que se presentaron valores promedio en el rango de 7,40 y 7,68, pero estos se encuentran en los rangos óptimos para *Brachionus* sp, permitiendo realizar los cultivos en condiciones óptimas de pH y a la vez no tiene influencia determinante en los resultados obtenidos.

Yoshimura *et al.* (1996), investigaron los principales factores que inhiben o limitan el cultivo de rotíferos, entre ellos destaca el oxígeno disuelto. De ello, Wallace & Snell (1991), mencionan que los rotíferos del género *Brachionus*, necesitan concentraciones de oxígeno disuelto por encima de  $1,0 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ , pero algunas especies de este género pueden tolerar por periodos cortos las condiciones cercanas a la anoxia como lo encontrado por Yamasaki *et al.* (1987) a  $0,9 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ , aunque hubo influencia disminuyendo la tasa específica de crecimiento. En el trabajo de investigación se procuró mantener los valores de oxígeno disuelto por encima de  $6 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$  con tal de mantener los valores en el rango óptimo para el cultivo de la especie propuesta por los autores.

## VI. CONCLUSIONES

- ❖ La concentración de harina de ensilado de vísceras de *Gallus gallus domesticus* “pollo” que mejor efecto tuvo sobre el crecimiento de *Brachionus* sp fue la de 100 mg ml<sup>-1</sup> obteniendo una densidad de 167,3±4,0 org. ml<sup>-1</sup> seguida por la concentración de 150 mg ml<sup>-1</sup> con 152,7±4,0 org. ml<sup>-1</sup>, evaluadas con un nivel de significancia (p<0.05).
- ❖ Los mejores valores de la tasa específica de crecimiento poblacional promedio en *Brachionus* sp se encontraron al sexto día de cultivo en los tratamientos de 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, con 0,354±0,004 y 0,339±0,004 día<sup>-1</sup>.
- ❖ Respecto al tiempo de duplicación poblacional diaria promedio en *Brachionus* sp al sexto día de cultivo el menor tiempo se obtuvo con la concentración de 100 mg ml<sup>-1</sup> con 1,958±0,022.
- ❖ Las concentraciones de harina de ensilado de vísceras *Gallus gallus domesticus* “pollo” que mayor efecto tuvieron en el contenido de proteínas de *Brachionus* sp fueron 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> con 57,19±1,07 y 57,35±0,61 respectivamente.
- ❖ El contenido de lípidos en peso seco de *Brachionus* sp al sexto día de cultivo se obtuvieron valores similares para 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP, con 26,18; 26,56 y 26,74 %, respectivamente.
- ❖ Con respecto a los parámetros crecimiento, tasa específica de crecimiento, tiempo de duplicación, proteínas y lípidos se concluye que el Ensilado de Vísceras de Pollo es adecuado para el cultivo *Brachionus* sp.

## VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Evaluar el perfil de aminoácidos y ácidos grasos utilizando concentraciones de 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP en el cultivo de *Brachionus* sp
  
- ✓ Determinar el tamaño de inóculo adecuado en la densidad poblacional de *Brachionus* sp utilizando concentraciones de 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP.
  
- ✓ Evaluar el número de dosis de EVP en la densidad poblacional de *Brachionus* sp utilizando concentraciones de 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup>.
  
- ✓ Realizar un estudio de los costos de producción de *Brachionus* sp utilizando concentraciones de 50, 100 y 150 mg ml<sup>-1</sup> de EVP comparado con un cultivo alimentado con *Tetraselmis suecica*.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu-Rezq, T.S.; J. Al-Shimmari & P. Dias. 1997. Live food production using batch culture and chemostat systems in Kuwait. *Hydrobiologia*. **358**:173-178.
- Agh, N. & P. Sorgeloos. 2005. Handbook of protocols and guidelines for culture an enrichment of live food for use in larviculture. Urmia University. Urmia, Iran. 60p.
- Ahmed, K.; R. Laila & I. Hasan. 2010. High density culture as live food for larval rearing in carp hatcheries. *World J. Zool.* **5**(2):110-114.
- Alessandro, M.; F. Criado; P. Cittolin & R. Guidastrì. 1999. Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. Vol 1. FAO, Rome. 194p.
- AOAC. 2007. Official methods of analysis. 18th edic. edn. 2005. Current through revision 2, 2007. AOAC International. Gaithersburg, MD.
- Balsinde, M.; I. Fraga & J. Galindo. 2003. Inclusión de ensilado de pescado como alternativa en la elaboración de alimento extruido para el camarón de cultivo (*Litopenaeus schmitti*). II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura - CIVA 2003 (<http://www.civa2003.org>). 303-309pp.

- Barnabé, G. 1991. *Acuicultura*. Vol. I. Edic. Omega S.A. Barcelona, España. 360p.
- Bazán, A. & E. San Miguel. 2013. Efecto de tres concentraciones de ensilado de los residuos blandos de *Argopecten purpuratus* “concha de abanico”, en el crecimiento poblacional y en los contenidos de proteínas y lípidos de *Brachionus plicatilis*, en condiciones de laboratorio. Tesis para optar el Título Profesional. Universidad Nacional del Santa. Nuevo Chimbote - Perú. 67p.
- Berenz, Z. 1998. Ensilado de residuos de pescado. *En: Procesamiento de Ensilado de Pescado*. XIV Curso Internacional de Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. 7 de Enero - 27 de Febrero. ITP-JICA. Callao, Perú. 18-70pp.
- Blair, T.J. 2005. Dietary studies with haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) larvae. M.Sc. Thesis Dalhuosie Universitatii. Halifax, Canada. 142p.
- Bligh, E. & W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**:911-917.
- Cabrera, M. 2008. Tasa de crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rotundiformis* (Rotifera: Brachionidae) en un quimiostato de dos cámaras. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)*. **56**(3):1149-1157.



- Camargo, S. & J. Pouey. 2005. Aqüicultura- Um mercado em expansão. *Revista Brasileira de Agrociência*. **11**(4):393-396.
- Caric, M.; J. Sanko-Njire & B. Skamuca. 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemicals composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller). *Aquaculture*. **110**:141-150.
- Castro, T.; R. De Lara; G. Castro; J. Castro & A. Malpica. 2003. Alimento vivo en la acuicultura. *Contactos*. **48**:27-33.
- CENAIM. 1999. Manual para la producción y uso de organismos zooplanctones. Centro Nacional de Investigaciones Marinas - Escuela Politécnica del Litoral. Ecuador. <<http://www.cenaim.espol.edu.ec/publicaciones/artemia.html>>. Accesado: 17 de noviembre del 2013.
- CENDES. 1986. Alimentación y nutrición de camarones. Servicio de Información Técnica - Centro de Desarrollo Industrial del Camarón. Guayaquil, Ecuador. 21-26p.
- Dabbagh, A.R.; A. Esmaeel & H. Alfree. 2011. Determination of the Optimal Salinity and Algal Diet for Culture of the Rotifer, *Brachionus rutandiformis* for Rearing of Larval Fin Fish in Iran. *World Applied Sciences Journal*. **12**(11):2068-2070.

- De la Cruz, A. 1995. Cultivo masivo de alimento vivo para larvas de organismos comerciales marinos. Centro de Investigaciones Marinas, Facultad de Biología, Universidad La Habana, Cuba. 230p.
- Dhert, P. 1996. Rotifers. *In*: P. Lavens & P. Sorgeloos (Eds.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. Technical paper FAO – ARC.
- Epp, R. & P. Winston. 1977. Osmotic regulation in the brackish-water rotifer *Brachionus plicatilis* Muller. *J. Exp. Biol.* **68**:151-156.
- FAO. 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 251p.
- Fernández, M. & C. Paredes. 2007. Efecto del extracto de ensilado de pescado y urea en el crecimiento poblacional y contenido de carbohidratos y lípidos de la microalga *Tetraselmis suecica* cultivada en condiciones de laboratorio. Tesis para optar el Título Profesional. Universidad Nacional del Santa. Nuevo Chimbote - Perú. 62p.
- Fernández-Reiriz, M.J.; U. Labarta & M. Ferreiro. 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture.* **112**:195-206.

- Fielder, D.; G. Purser & S. Battaglione. 2000. Effect of rapid changes in temperature on availability of the Rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*. **189**:85-99.
- Fukusho, K. & H. Iwamoto. 1980. Cyclomorphosis in size of the cultured rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.* **1**:29-37.
- Fukusho, K. 1989a. Biology and mass production of rotifer I, *Brachionus plicatilis* (1). *Int. J. Aq. Fish. Tech.* **1**:232-240.
- Fukusho, K. 1989b. Biology and mass production of the rotifer II, *Brachionus plicatilis* (2). *Int. J. Aq. Fish. Tech.* **1**:292 - 299.
- Fukusho, K.; O. Hara; & J. Yoshino. 1976. Mass Production of rotifers fed Chlorella and yeast in 40-L tank. *Aquaculture*. **24**(3):96-101.
- Fulks, W. & K. Main. 1991. Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of U.S. - Asia Workshop, Honolulu. U.S.A.
- Gama-Flores, J.L.; S.S.S. Sarma & S. Nandini. 2005. Interaction among copper toxicity, temperature and salinity on the population dynamics of *Brachionus rotundiformis* (Rotifera). *Hydrobiologia*. **546**:559-568.

- Gómez, O. & A. Gómez. 1997. Cultivo masivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (Muller, 1786) (CEPA ARAYA) con diferentes tipos de levadura. *Saber*. **9**:332-35.
- González, D. & M. Marín. 2005. Obtención de ensilados biológicos a partir de los desechos del procesamiento de sardinas. *Revista Científica FCV-LUZ*. **15**(6): 560-567.
- Guevara, M.; L. Bastardo; R. Cortez; B. Arredondo-Vega; L. Romero & P. Gómez. 2011. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)*. **59**(4):1503-1515.
- Guillard, R. 1975. Culture of Phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In*: W.L. Smith & M. H. Chanley, eds., Culture of marine invertebrate animals. Plenum Book Publ. Corp., New York, U.S.A. 29-60pp.
- Harvey, J. 1992. Changing waste protein from a waste disposal problem to a valuable feed protein source. A role for enzymes in processing offal, feathers and dead birds. Biotechnology in the feed industry. Proceedings Alltech's Eight Annual Symposium. Oakville, Ontario, Canada. 109-119pp.
- Hirata, H. & Y. Mori. 1963. Mass culture of marine rotifer *Brachionus plicatilis* fed the bread yeast. *Saibai-Gyoyo*. **5**:36-40.

- Hirata, H. 1974. An attempt to apply an experimental microcosm for the mass culture of the marine rotifer, *Brachionus plicatilis* Muller. *Mem. Fac. Fish. Kag. Univ.* **23**:163-172.
- Hirata, H.; A. Mavrikos & Y. Shigehisa. 1985. Evaluation of the use of *Brachionus plicatilis* and *Artemia* nauplii for rearing prawn *Penaeus japonicus* larvae on a laboratory scale. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* **34**(1):27-36.
- Hirayama, K. 1985. Biological aspects of the rotifer *Brachionus plicatilis* as a food organism for mass culture of seedling. *Coll. Fr-Japon Oceanogr.* **8**:41-50.
- Imada, O. 1980. The yeast supplemented with fish liver oil as feed for rotifer. *Yoshuku.* **17**(5):36-42.
- Imam, M. 2013. Chicken viscera for fish feed formulation. *International Aquafeed.* **16**(1):10-11.
- Izquierdo, M.S. 2004. Nutritional Requirements for Finfish Larvae. The Second Hatchery Feeds and Technology Workshop, Sydney, Australia. 8-16pp.
- Jang, H. & S. Bai. 1997. Partial replacement of fish meal with four animal byproducts in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, diets. World Aquaculture Society, Book of Abstracts. N° 35.

- Kearns, P. 1990. Método Wegner para la extrusión de alimentos acuícolas, *In*: Memorias del seminario sobre "Extrusión de Alimentos Balanceados. Editado por la Asociación Americana de la Soya, Guadalajara, Jalisco, Mexico. 23-29pp.
- King, C. 1977. Genetics of reproduction, variation and adaptation in rotifers. *Archiv. für Hydrobiologie Beiheft.* **8**:187-201.
- Kitajima, C.; T. Arakawa.; F. Oowea.; S. Fujita.; O. Imada & T. Watanabe. 1980. Dietary value for ayu *Plecoglossus altivelis* of rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **46**(1):47-50.
- Lowry, O.; N. Rosebrough.; A. Farr & R. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**:265-275.
- Lubzens, E.; A. Tandler & G. Minloff. 1989. Rotifers as food in Aquaculture. *Hydrobiologia.* **186/187**:387-400.
- Lubzens, E.; G. Minkoff & S. Maron. 1985. Salinity dependence of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Mar. Biol.* **85**:123-126.

- Luna-Figueroa, J.,C. Pérez & T. Figueroa. 2007. Influencia de alimento vivo sobre la tasa de crecimiento y sobrevivencia de crías del pez ángel *Pterophyllum scalare* (Pisces: Cichlidae) Lichtenstein, 1823. *Scientiae Naturae*. **10**(1):33-45.
- Madigan, M.T.; J.M. Martinko & J. Parker. 2004. *Brook, Biología de los Microorganismos*. 10ma edic. Edit. Pearson Prentice Hall. Madrid, España. 1096p.
- Marsh, J. & D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid Res.* **7**:574-576.
- Mendoza, D. 2011. Panorama de la Acuicultura Mundial, en América Latina y el Caribe y en el Perú. Informe. Dirección General de Acuicultura, Ministerio de la Producción. Lima, Perú. 66p.
- Mendoza, R.; C. Aguilera & J. Montemayor .1998. Utilización de subproductos avícolas en las dietas para organismos acuáticos. Memorias del IV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, México. 46p.
- Nabil, W. 1993. Extrusion of secondary resources (by-products rendering). Feed extrusion. *In: Feeds Extrusion manual a practical short course in feed extrusion*. Texas A&M University System. 11p.

- Navarro, N. 1999. Feeding behaviour of the rotifers *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis* with two types of food: live and freeze-dried microalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **237**(1): 75-87.
- Naz, M. 2008. The changes in the biochemical compositions and enzymatic activities of rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller) and *Artemia* during the enrichment and starvation periods. *Fish Physiol. Biochem.* **34**:391-404.
- Øie, G. & Y. Olsen. 1997. Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding condition. *Hydrobiologia*. **358**(1-3):251-258.
- Olivera J, & Ramón T, 2011. Efecto del ensilado de vísceras de pescado de *Scomber Japonicus* “caballa” y *Trachurus murphyi* “jurel”, en el contenido de proteínas y lípidos de *Brachionus plicatilis* (Muller 1786), bajo condiciones de laboratorio. Tesis para optar el título de Biólogo Acuicultor. Universidad Nacional del Santa, Facultad de Ciencias. Nuevo Chimbote, Perú. 39p.
- Pascual, E. & M. Yufera. 1983. Crecimiento en cultivo de una cepa de *Brachionus plicatilis* O. F. Muller en función de la temperatura y la salinidad. *Inv. Pesq.* **47**:151-159.



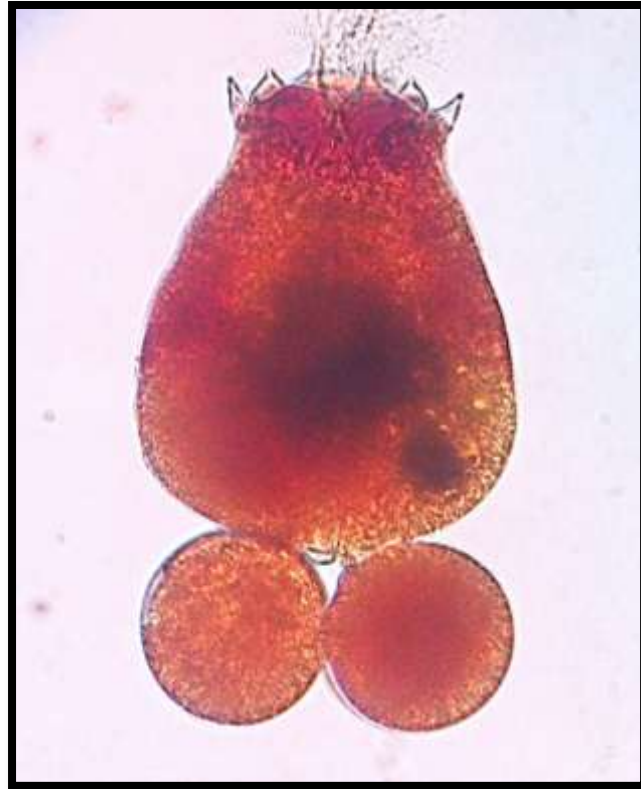
- Pfeiffer, T. & G. Ludwig. 2002. Trial finds microalgae paste suitable for rotifer nutrition. *Global Aquacult. Advoc.* **5**:22-23.
- Radwan, S. 1984. The influence of some abiotic factors on the occurrence of rotifers of Lezcna and Wlodawa Lake District. *Hydrobiologia.* **112**:117-124.
- Romero, T. & C. Otero. 2004. *Chlorella* spp. desarrollada en los efluentes de la industria pesquera para alimentar *Brachionus plicatilis*. Rev. Electrón. Vet. REDVET. <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020204.html>>. Accesado: 23 de agosto del 2013.
- Romero, T.; Y. Villarreal & M. Guerra. 2006. Determinación de condiciones óptimas de cultivo de *Brachionus plicatilis*: salinidad y aireación del medio. Bondades de *Chlorella* spp. desarrollada en residuales pesqueros para su alimentación. IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. 1004-1016. <<http://www.revistaaquatic.com/civa2006/coms/completo.asp?cod=274>>. Accesado: 23 de agosto del 2013.
- Rothaup, K.O. 1985. A model approach to the population dynamics of the rotifer *Brachionus rubens* in twostage chemostat culture. *Oecol.* **65**:252-259.

- Ruppert, E. & R. Barnes. 1996. *Zoología de los Invertebrados*. 6ta. edic. en Español (Traducción de 1994). Edit. Mc Graw Hill Interamericana. México. 1114p.
- Sorgeloos, P. 1995. Live feeds and their substitution products for larval nutrition of fish, shrimp and prawn. In: Fifth International Course on Fish Larvae Nutrition. ERASMUS ICP-94ML-11391 01, Wageningen, Netherlands, 1995, IX: I-34.
- Srivastava, A.; K. Hamra; J. Stoss; R. Chakrabarti & S. Tonheim. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture*. **254**(1-4):534-543.
- Steel, R. & J. Torrie. 1988. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2da. edic. Edit. McGraw-Hill. México. 622p.
- Wallace, R. & T. Snell. 1991. Rotifera. In: Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Thorp JH and Covich AP, eds. Academic Press, San Diego, CA, U.S.A. 187-248pp.
- Watanabe, T. 1978. Nutritive value of plankton for fish larvae in the view point of lipids. *Fish. Serv. Koseisha-Koseikaku*. **22**:93-111.

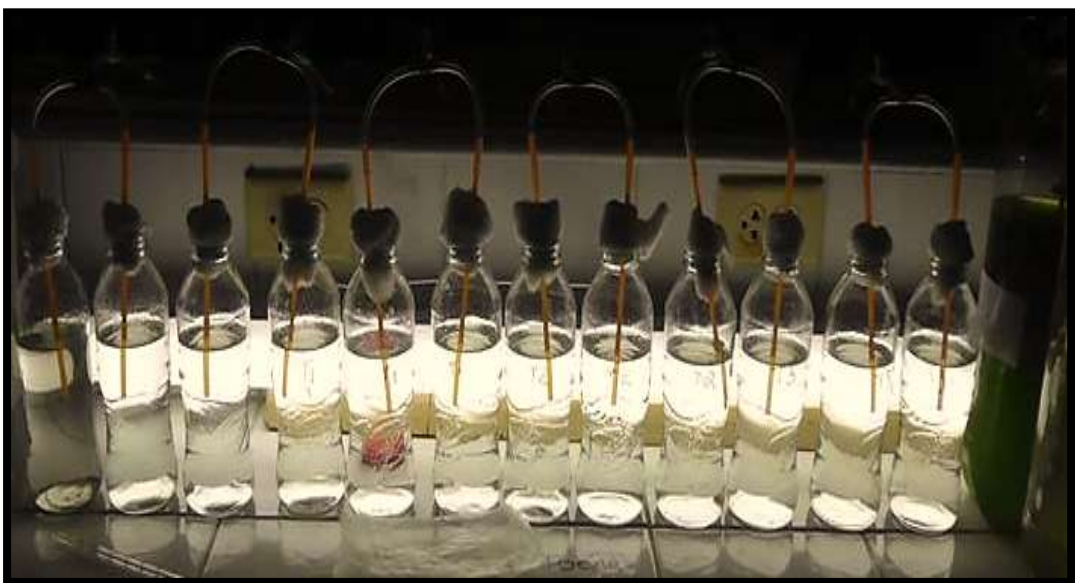
- Watanabe, T.; C. Kitajima. & S. Fujita. 1983. Nutritional value of organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture International*. **34**:115-145.
- Yamasaki, S.; D. Secor & H. Hirata. 1987. Population growth of two types of rotifer (L and S) *Brachionus plicatilis* at different dissolved oxygen levels. *Nippon Suisan Gakkaishi*. **53**:1303.
- Yoshimura, K.; A. Hagiwara; T. Yoshimatsu & C. Kitajima. 1996. Culture technology of marine rotifers and the implications for intensive culture of marine fish in Japan. *Mar. Freshw. Res.* **47**:217-222.

## **IX. ANEXOS**

**Anexo 1** Hembra amíctica de *Brachionus* sp observada en microscopio óptico binocular Marca Olympus a 40x.



**Anexo 2** Unidades experimentales de la investigación en el laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares.



**Anexo 3** Densidad poblacional ( $\text{org. ml}^{-1}$ ) diaria de *Brachionus* sp durante el cultivo en todas las unidades experimentales.

Día de Cultivo	EVP ( $\text{mg ml}^{-1}$ )											
	CONTROL			50			100			150		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
1	29,0	35,0	37,0	30,0	32,0	34,0	33,0	38,0	35,0	30,0	32,0	32,0
2	41,0	44,0	54,0	46,0	49,0	54,0	51,0	57,0	55,0	46,0	48,0	45,0
3	77,0	81,0	86,0	77,0	88,0	91,0	94,0	104,0	96,0	83,0	77,0	79,0
4	132,0	117,0	128,0	111,0	116,0	120,0	127,0	132,0	129,0	132,0	118,0	122,0
5	139,0	124,0	136,0	112,0	118,0	126,0	149,0	156,0	150,0	141,0	137,0	128,0
6	141,0	132,0	145,0	128,0	141,0	134,0	163,0	171,0	168,0	157,0	149,0	152,0

**Anexo 4** Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación (TD) poblacional al quinto día de cultivo de *Brachionus* sp en todas las unidades experimentales.

PARÁMETRO	EVP ( $\text{mg ml}^{-1}$ )											
	CONTROL			50			100			150		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
$N_0$ ( $\text{org. ml}^{-1}$ )	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
$N_f$ ( $\text{org. ml}^{-1}$ )	141,0	132,0	145,0	128,0	141,0	134,0	163,0	171,0	168,0	157,0	149,0	152,0
$\Delta t$ (día)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
$U$ ( $\text{día}^{-1}$ )	0,326	0,315	0,330	0,309	0,326	0,317	0,350	0,358	0,355	0,343	0,335	0,338
TD (día)	2,129	2,204	2,099	2,240	2,129	2,186	1,982	1,938	1,954	2,018	2,071	2,051

**Anexo 5** Porcentaje de proteínas en peso seco de *Brachionus* sp en todas las unidades experimentales.

PARÁMETROS	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )											
	CONTROL			50			100			150		
<b>Biomasa Muestra (mg)</b>	0,51	0,52	0,54	0,51	0,52	0,53	0,50	0,52	0,52	0,51	0,53	0,51
<b>Biomasa Total (mg L<sup>-1</sup>)</b>	20,40	20,80	21,60	21,25	21,67	22,08	25,00	26,00	26,00	23,18	24,09	23,18
<b>Absorbancia</b>	0,321	0,331	0,335	0,334	0,346	0,350	0,352	0,353	0,357	0,350	0,365	0,357
<b>Proteínas (%)</b>	52,19	52,78	51,44	54,30	55,17	54,75	58,37	56,28	56,92	56,90	57,10	58,04
<b>Proteínas (mg L<sup>-1</sup>)</b>	10,65	10,98	11,11	11,54	11,95	12,09	14,59	14,63	14,80	13,19	13,76	13,45

**Anexo 6** Porcentaje de lípidos en peso seco de *Brachionus* sp en todas las unidades experimentales.

PARÁMETROS	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )											
	CONTROL			50			100			150		
<b>Biomasa Muestra (mg)</b>	0,51	0,52	0,54	0,51	0,52	0,53	0,50	0,52	0,52	0,51	0,53	0,51
<b>Biomasa Total (mg L<sup>-1</sup>)</b>	20,40	20,80	21,60	21,25	21,67	22,08	25,00	26,00	26,00	23,18	24,09	23,18
<b>Absorbancia</b>	0,226	0,236	0,248	0,247	0,251	0,259	0,246	0,257	0,255	0,255	0,260	0,253
<b>Lípidos (%)</b>	23,91	24,49	24,78	26,13	26,05	26,37	26,55	26,67	26,46	26,98	26,47	26,77
<b>Lípidos (mg L<sup>-1</sup>)</b>	4,88	5,09	5,35	5,55	5,64	5,82	6,64	6,93	6,88	6,25	6,38	6,21

**Anexo 7** Temperatura (°C) en los cultivos de *Brachionus* sp en todas las unidades experimentales.

Día de Cultivo	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )											
	CONTROL			50			100			150		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4
1	23,7	23,9	23,3	23,8	23,3	23,5	23,1	23,5	23,3	23,2	23,6	23,3
2	22,8	23,1	22,9	23,1	23,0	23,4	23,5	22,9	23,1	23,4	23,1	23,2
3	23,9	23,7	23,4	23,5	23,5	23,3	23,6	23,8	23,4	23,1	23,4	23,6
4	22,3	22,4	22,8	22,3	22,7	22,9	22,4	22,6	22,7	22,3	22,7	22,6
5	23,3	23,4	23,2	23,3	23,8	23,4	23,1	23,3	23,7	23,6	23,1	23,0
6	23,7	23,6	24,1	23,6	23,9	23,5	23,4	24,0	23,9	23,7	23,8	24,1

**Anexo 8** Temperatura promedio (°C) en los cultivos de *Brachionus* sp

DÍA DE CULTIVO	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	50	100	150
0	23,4 ±0,0 <sup>a</sup>	23,4 ±0,0 <sup>a</sup>	23,4 ±0,0 <sup>a</sup>	23,4 ±0,0 <sup>a</sup>
1	23,6 ±0,3 <sup>a</sup>	23,5 ±0,3 <sup>a</sup>	23,3 ±0,2 <sup>a</sup>	23,4 ±0,2 <sup>a</sup>
2	22,9 ±0,2 <sup>a</sup>	23,2 ±0,2 <sup>a</sup>	23,2 ±0,3 <sup>a</sup>	23,2 ±0,2 <sup>a</sup>
3	23,7 ±0,3 <sup>a</sup>	23,4 ±0,1 <sup>a</sup>	23,6 ±0,2 <sup>a</sup>	23,4 ±0,3 <sup>a</sup>
4	22,5 ±0,3 <sup>a</sup>	22,6 ±0,3 <sup>a</sup>	22,6 ±0,2 <sup>a</sup>	22,5 ±0,2 <sup>a</sup>
5	23,3 ±0,1 <sup>a</sup>	23,5 ±0,3 <sup>a</sup>	23,4 ±0,3 <sup>a</sup>	23,2 ±0,3 <sup>a</sup>
6	23,8 ±0,3 <sup>a</sup>	23,7 ±0,2 <sup>a</sup>	23,8 ±0,3 <sup>a</sup>	23,9 ±0,2 <sup>a</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa (p<0,05).



**Anexo 9** pH diario en los cultivos de *Brachionus* sp en todas las unidades experimentales.

Día de Cultivo	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )											
	CONTROL			50			100			150		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	7,82	7,81	7,84	7,83	7,84	7,81	7,80	7,83	7,83	7,82	7,81	7,80
1	7,81	7,86	7,84	7,86	7,78	7,73	7,73	7,79	7,71	7,68	7,58	7,62
2	7,82	7,78	7,80	7,72	7,79	7,73	7,71	7,82	7,74	7,64	7,62	7,71
3	7,79	7,71	7,76	7,68	7,61	7,64	7,68	7,71	7,62	7,59	7,54	7,55
4	7,84	7,76	7,82	7,63	7,65	7,68	7,62	7,59	7,57	7,53	7,57	7,52
5	7,68	7,72	7,75	7,61	7,56	7,55	7,47	7,51	7,53	7,47	7,42	7,48
6	7,62	7,74	7,67	7,59	7,58	7,50	7,54	7,51	7,49	7,34	7,40	7,46

**Anexo 10** pH promedio en los cultivos de *Brachionus* sp

DÍA DE CULTIVO	EVP (mg ml <sup>-1</sup> )			
	CONTROL	50	100	150
0	7,82 ±0,02 <sup>a</sup>	7,83 ±0,02 <sup>a</sup>	7,82 ±0,02 <sup>a</sup>	7,81 ±0,01 <sup>a</sup>
1	7,84 ±0,03 <sup>a</sup>	7,79 ±0,07 <sup>a</sup>	7,74 ±0,04 <sup>ab</sup>	7,63 ±0,05 <sup>b</sup>
2	7,80 ±0,02 <sup>a</sup>	7,75 ±0,04 <sup>ab</sup>	7,76 ±0,06 <sup>ab</sup>	7,66 ±0,05 <sup>b</sup>
3	7,75 ±0,04 <sup>a</sup>	7,64 ±0,04 <sup>bc</sup>	7,67 ±0,05 <sup>ab</sup>	7,56 ±0,03 <sup>c</sup>
4	7,81 ±0,04 <sup>a</sup>	7,65 ±0,03 <sup>b</sup>	7,59 ±0,03 <sup>bc</sup>	7,54 ±0,03 <sup>c</sup>
5	7,72 ±0,04 <sup>a</sup>	7,57 ±0,03 <sup>b</sup>	7,50 ±0,03 <sup>bc</sup>	7,46 ±0,03 <sup>c</sup>
6	7,68 ±0,06 <sup>a</sup>	7,56 ±0,05 <sup>ab</sup>	7,51 ±0,03 <sup>bc</sup>	7,40 ±0,06 <sup>c</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa (p<0,05).

**Anexo 11** Oxígeno disuelto diario ( $\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) en los cultivos de *Brachionus* sp en todas las unidades experimentales.

Día de Cultivo	EVP ( $\text{mg ml}^{-1}$ )											
	CONTROL			50			100			150		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,43	6,46	6,43	6,43	6,44	6,45	6,47	6,46	6,43	6,44	6,46	6,45
1	6,46	6,44	6,47	6,45	6,48	6,43	6,45	6,48	6,47	6,49	6,48	6,42
2	6,49	6,51	6,56	6,48	6,50	6,53	6,48	6,51	6,44	6,47	6,51	6,48
3	6,41	6,42	6,43	6,42	6,44	6,43	6,41	6,44	6,41	6,36	6,44	6,41
4	6,61	6,54	6,53	6,54	6,52	6,55	6,47	6,54	6,53	6,43	6,46	6,35
5	6,40	6,43	6,40	6,40	6,47	6,42	6,34	6,22	6,40	6,33	6,13	6,26
6	6,39	6,36	6,31	6,34	6,31	6,27	6,31	6,33	6,36	6,24	6,32	6,28

**Anexo 12** Oxígeno disuelto promedio ( $\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) en todos los cultivos de *Brachionus* sp

DÍA DE CULTIVO	EVP ( $\text{mg ml}^{-1}$ )			
	CONTROL	50	100	150
0	6,44 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,44 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	6,45 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,45 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
1	6,46 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,45 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	6,47 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,46 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
2	6,52 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,50 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	6,48 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,49 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
3	6,42 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	6,43 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	6,42 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,40 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
4	6,56 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,54 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,51 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>	6,41 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
5	6,41 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	6,43 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,32 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	6,24 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>
6	6,35 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,31 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,33 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	6,28 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>

Letras diferentes en una misma fila indica diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).