

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



---

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN CELULAR DE *Scenedesmus acutus* CULTIVADO CON EXTRACTO ACUOSO DE VALVAS DE CONCHA DE ABANICO, *Argopecten purpuratus*, EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y CONTENIDO DE LÍPIDOS DE *Brachionus calyciflorus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

---

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

**TESISTA:**

**LÓPEZ SARAVIA, SHEYLA BRIGGITT**

**RÍOS PEÑA, JHONATAN JUAN**

**ASESOR: Dr. Juan Fernando Merino Moya**

**NUEVO CHIMBOTE – PERÚ**

**2014**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



---

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN CELULAR DE *Scenedesmus acutus* CULTIVADO CON EXTRACTO ACUOSO DE VALVAS DE CONCHA DE ABANICO, *Argopecten purpuratus*, EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y CONTENIDO DE LÍPIDOS DE *Brachionus calyciflorus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

---

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

**TESISTA:**

**LÓPEZ SARA VIA, SHEYLA BRIGGITT**

**RÍOS PEÑA, JHONATAN JUAN**

**REVISADO Y V<sub>O</sub>B<sub>O</sub> DE:**

.....  
**Dr. Juan Fernando Merino Moya**

**Asesor**

**NUEVO CHIMBOTE – PERÚ**

**2014**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



---

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN CELULAR DE *Scenedesmus acutus* CULTIVADO CON EXTRACTO ACUOSO DE VALVAS DE CONCHA DE ABANICO, *Argopecten purpuratus*, EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y CONTENIDO DE LÍPIDOS DE *Brachionus calyciflorus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

---

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

TESISTAS:

LÓPEZ SARA VIA, SHEYLA BRIGGITT

RÍOS PEÑA, JHONATAN JUAN

Aprobado por unanimidad con el Calificado de “EXCELENTE” por los Señores Miembros del Jurado

.....  
MSc. William Capa Robles  
Presidente

.....  
Dr. Fernando Merino Moya  
Integrante

.....  
Blga. Acui. Sorayda Mendoza Espinoza  
Secretaria

## DEDICATORIA

Gracias a mi **SEÑOR JESUCRISTO** por su amor que vino a mí y por su grande misericordia de otorgarme la oportunidad de ser su hija, porque todo lo que soy se lo debo a él y darme denuedo para cumplir con mis metas. A mis padres **María Saravia Álvarez e Ivan Sanchez Jara**, por ser el motor de seguir adelante y apoyarme con sus gratos consejos que me llevaron a escalar día tras día hasta obtener mi recompensa que es culminar mi carrera. A mis abuelos **Sinforiano Saravia Mendoza y Virginia Álvarez López** por brindarme su amor a su nieta mayor y a mis tíos queridos por apoyarme con un granito de arena en mis estudios y a mis hermanitos **Yodi, Angie e Ivancito** y por el que está en camino por su paciencia, los amo demasiado siempre estarán en mi corazón y a mis amigos de la universidad **Aurora, Susan, Dianita, Rosita, Liliana, Mónica, Gustavo, Karen** gracias por estar estos cinco largos años junto a su amiga **sheybrilosa** y una vez más a mi **ADONAI** por darme la oportunidad de conocer personas maravillosas en toda mi vida. Amén

.López Saravia Sheyla Briggitt.

**Gracias ABBA PADRE**, por estar a mi lado ayudándome a culminar esta etapa de mi vida, y sé que siempre estarás conmigo porque soy tu hijo, gracias también por mi familia, amigos, por la vida, el sustento, las fuerzas y la esperanza, porque todo te lo debo a ti. A mis Padres **Juan Ríos Alva y Felesmida Peña Gonzales** por el amor, la confianza, el apoyo y sus buenos consejos de superación los amo mucho y este logro es por ustedes. A mis Hermanos **Daniel, Esther, Mirtha, Bertha, Liz, Joirzinho y Marcos** por todo el apoyo brindado, la confianza puesto en mí y por permanecer siempre juntos en las bendiciones y tempestades. A mi abuela linda **julia Gonzales**, que aunque no estés con nosotros en esta tierra :(, sé que también estarías orgullosa de la persona en la cual me he convertido. A mis mejores amigos **Martha, Patricia, Marylin, Glenda, Javier, Jhondy, Wilson y Gonzalo** por sus buenos consejos, deseos y el apoyo incondicional que me brindan, Gracias por su amistad que me hace crecer y seguir adelante; sin duda ustedes son la gran fortuna que he tenido en la vida...**Gracias**.

Ríos Peña Jhonatam Juan.

## **AGRADECIMIENTO**

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

A quienes colaboraron desinteresadamente en la realización de nuestro proyecto de investigación: William Capa, Sorayda Mendoza y Edwing Cotos.

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.

A nuestros amigos que siempre nos brindaron su amistad, apoyo y respeto.

# INDICE GENERAL

INDICE GENERAL.....	vi
INDICE DE TABLAS .....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT .....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS .....	3
OBJETIVOS.....	3
• Objetivo general.....	3
• Objetivos específicos .....	3
II. MATERIALES Y METODOS.....	4
2.1. Localidad del proyecto .....	4
2.2. Material Biológico.....	4
2.3. Diseño Experimental. ....	4
2.4. Preparación del Extracto Acuoso de Valvas de Conchas de Abanico (EVCA)....	6
2.5. Preparación del cultivo de <i>Sc. acutus</i> .....	7
2.6. Preparación del Medio de Cultivo Guillard f/2.....	7
2.7. Acondicionamiento de las unidades experimentales para el cultivo de <i>B. calyciflorus</i> .....	8
2.8. Registros de parámetros ambientales del cultivo de <i>B. calyciflorus</i> .....	8
2.9. Dosificación de <i>Sc. acutus</i> a los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> .....	8
2.10. Determinación de curvas de crecimiento. ....	9
2.11. Determinación de lípidos. ....	9
2.12. Análisis estadísticos de datos.....	11
III. RESULTADOS .....	12
3.1. Registro de Parámetros del cultivo de <i>B. calyciflorus</i> .....	12
3.1.1. Temperatura del cultivo de <i>B. calyciflorus</i> .....	12
3.1.2. pH del cultivo de <i>B. calyciflorus</i> .....	13
3.1.3. Oxígeno disuelto del cultivo de <i>B. calyciflorus</i> .....	14
3.2. Crecimiento poblacional de <i>B. calyciflorus</i> .....	15
3.2.1. Curva de crecimiento poblacional de <i>B. calyciflorus</i> .....	15

3.2.2. Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación poblacional de <i>B. calyciflorus</i>	16
3.3. Contenido de lípidos de <i>B. calyciflorus</i>	18
IV. DISCUSIÓN	20
V. CONCLUSIONES	26
VI. RECOMENDACIONES	27
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	28
VIII. ANEXOS	36

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Diseño experimental utilizado en la investigación para evaluar el efecto del alimento en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de <i>B. calyciflorus</i> . .....	5
<b>Tabla 2</b> Composición química de EVCA. ....	7
<b>Tabla 3</b> Componentes del medio de cultivo Guillard f/2 (Guillard, 1975). ....	8
<b>Tabla 4</b> Crecimiento poblacional promedio (org. mL <sup>-1</sup> ) en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> . ....	15
<b>Tabla 5</b> Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) poblacional promedio en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> en todos los tratamientos. ....	17
<b>Tabla 6</b> Porcentaje promedio de los lípidos en <i>B. calyciflorus</i> al quinto día de cultivo en todos los tratamientos. ....	18
<b>Tabla 7</b> Valores porcentuales del contenido de lípidos de los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> alimentados con diferentes concentraciones de <i>Sc. acutus</i> . ....	19

## INDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1</b> Ejemplar de <i>B. calyciflorus</i> , observada en microscopio óptico compuesto a 40x. ....	4
<b>Fig. 2</b> Unidades experimentales de los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> en el laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa. ....	5
<b>Fig. 3</b> Flujo del proceso de preparación del extracto acuoso de valvas de “concha de abanico” <i>A. purpuratus</i> (Ocampo & Rodríguez 2011) .....	6
<b>Fig. 4</b> Cultivo de microalga <i>Sc. acutus</i> . ....	7
<b>Fig. 5</b> Flujograma para el contenido de lípidos de <i>B. calyciflorus</i> según Blight & Dyer (1959); por Marsh & Weinstein (1966). ....	10
<b>Fig. 6</b> Variación de la temperatura promedio (°C) en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> dosificados con diferentes concentraciones de <i>Sc. acutus</i> . ....	12
<b>Fig. 7</b> Variación promedio del pH de los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> dosificados con diferentes concentraciones de <i>Sc. acutus</i> . ....	13
<b>Fig. 8</b> Variación del oxígeno disuelto promedio ( $\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> dosificados con diferentes concentraciones de <i>Sc. acutus</i> . ....	14
<b>Fig. 9</b> Curvas de crecimiento poblacional promedio en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> . ....	16
<b>Fig. 10</b> Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) poblacional promedio al sexto día en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> . ....	17
<b>Fig. 11</b> Porcentajes promedio (%) de lípidos en <i>B. calyciflorus</i> al sexto día de cultivo. ....	19

## ANEXO

<b>Anexo 1.</b> pH promedio en todas las unidades experimentales durante el cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> .....	36
<b>Anexo 2.</b> Crecimiento poblacional ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> ) en todas las unidades experimentales durante el cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> .....	36
<b>Anexo 3.</b> Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) en todas las unidades experimentales durante el cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> .....	37
<b>Anexo 4.</b> Biomasa promedio de lípidos (mg L <sup>-1</sup> ) en las unidades experimentales durante el cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> .....	37
<b>Anexo 5.</b> Gráfica de biomasa promedio de lípidos (mg L <sup>-1</sup> ) en los cultivos de <i>B. calyciflorus</i> al sexto día en los tratamientos.....	38
<b>Anexo 6.</b> Gráfica de Curva de Calibración de lípidos (mg L <sup>-1</sup> ).....	38

## RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivos, determinar el crecimiento poblacional (org. mL L<sup>-1</sup>) y el contenido de lípidos totales (%) de *Brachionus calyciflorus* alimentados con cuatro concentraciones (5, 10, 15 y 20 x 10<sup>4</sup> cél. mL<sup>-1</sup>) de *Sc. acutus* cultivado con extracto acuoso de valvas de *Argopecten purpuratus* “concha de abanico” (EVCA) y comparadas con *Sc. acutus* cultivados con medio Guillard. Al sexto día de cultivo se encontró que los mayores valores de crecimiento poblacional y tasa específica de crecimiento estuvieron en el tratamiento con 15 x 10<sup>4</sup> cél. mL<sup>-1</sup> de *Sc. acutus* cultivado con EVCA, con 121,7 org. mL<sup>-1</sup> y 0,532 día<sup>-1</sup>, respectivamente, asimismo con Guillard se obtuvieron valores de 40,77 org. mL<sup>-1</sup> y 0,349 día<sup>-1</sup> respectivamente. Los menores valores de los cultivos dosificados con EVCA se obtuvieron con los tratamientos con 5, 10, y 20 x 10<sup>4</sup> cél. mL<sup>-1</sup>, con 48,7 ; 85,0 y 94,3 org. mL<sup>-1</sup>, y 0,379 ; 0,472 y 0,489 día<sup>-1</sup>, respectivamente. Asimismo, los menores y mayores valores de la tasa de duplicación poblacional promedio al sexto día de cultivo, se encontraron en los tratamientos con 15, 20, 10, y 5 x 10<sup>4</sup> cél mL<sup>-1</sup> de *Sc. acutus* cultivado con EVCA y Guillard, con 1,304, 1,407, 1,468 1,829 y 1,986 día<sup>-1</sup>, respectivamente. Las mayores concentraciones promedio de lípidos totales en peso seco de *B. calyciflorus* al sexto día de cultivo, se encontraron en los tratamientos con 15 , 20, 10, y 5 x 10<sup>4</sup> cél mL<sup>-1</sup> *Sc. acutus* cultivado con EVCA y Guillard, con 27,41, 27,10, 27,22 y 26,91%, respectivamente; y las menores concentraciones se encontraron cuando se utilizaron *Sc. acutus* cultivados con Guillard (23,21 %); en consecuencia, se concluye que el mejor tratamiento para el cultivo de *B. calyciflorus* fue el dosificado con 15 x 10<sup>4</sup> cél. mL<sup>-1</sup> de *Sc. acutus* cultivado con EVCA.

**Palabras Clave:** *Brachionus calyciflorus*, *Scenedesmus acutus*, crecimiento poblacional, lípidos en algas.

## ABSTRACT

This study aimed to determine the population growth ( $\text{org. mL L}^{-1}$ ) and total lipid content (%) of *Brachionus calyciflorus* fed four concentrations (5, 10, 15 and  $20 \times 10^4 \text{ céL.mL}^{-1}$ ) of *Sc. acutus* grown with aqueous extract of *Argopecten purpuratus* " scallops " ( EVCA ) and compared with *Sc. acutus* cultured with medium Guillard . on the sixth day of culture was found that the highest values of the population density and specific growth rate were in treatment with  $15 \times 10^4 \text{ cel . mL}^{-1}$  *Sc. acutus* grown with EVCA , with  $121.7 \text{ org . mL}^{-1}$  and  $0.532 \text{ days}^{-1}$ , respectively, also with  $40.77 \text{ Guillard org values were obtained. mL}^{-1}$  and  $0.349 \text{ . day}^{-1}$  respectively the lower crop values were obtained EVCA dosed treatments with 5, 10, and  $20 \times 10^4 \text{ céL mL}^{-1}$ , 48.7 ; . 85.0 and  $94.3 \text{ org mL}^{-1}$ , and 0.379 , . 0.472 and  $0.489 \text{ days}^{-1}$ , respectively also the lowest and highest values of the average rate of population doubling the sixth day of culture, were found in the treatments with 15, 20 , 10, and  $5 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$  *Sc. acutus* grown with EVCA and Guillard , with 1,304 , 1,407 , 1,829 and 1,468  $1.986 \text{ days}^{-1}$ , respectively. The highest average concentrations of total lipids by dry weight of *B. calyciflorus* the sixth day of culture , were found in treatments with 15, 20 , 10, and  $5 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$  *Sc . acutus* cultivated EVCA and Guillard , with 27.41 , 27.10 , 27.22 and 26.91 % , respectively, and the lowest concentrations were found when cultured with Guillard *Sc. Acutus* ( 23.21% ) were used , and consequently, concluded that the best treatment for growing *B. calyciflorus* was dosed with  $15 \times 10^4 \text{ cell . mL}^{-1}$  of *Sc. acutus* cultivated EVCA

**Keywords:** *Brachionus calyciflorus*, *Scenedesmus acutus* , population growth, algal lipids .

## I. INTRODUCCIÓN

En la acuicultura, la nutrición de las fases iniciales es sumamente crítica por lo que es de vital importancia suministrar alimentos de buena calidad nutricional para su óptimo crecimiento, en tal sentido, la calidad del alimento influirá notoriamente en la supervivencia larval siendo el uso de microcrustáceos, como alimento vivo, esencial durante su desarrollo (Castro *et al.*, 2003). Se ha demostrado que la calidad nutricional del alimento vivo no puede ser sustituida por dietas artificiales, en consecuencia, la producción masiva de microcrustáceos como alimento vivo es de vital importancia debido a las ventajas derivadas de su pequeño tamaño, valor nutricional y su facilidad del cultivo (Prieto *et al.*, 2008; Lubzens *et al.*, 2001) obligando al desarrollo de investigaciones respecto a la biología y el cultivo masivo de estos microorganismos con la finalidad de ser aprovechados en la acuicultura (Lubzens *et al.*, 1989; Agh & Sorgeloos, 2005).

El rotífero *Brachionus calyciflorus* es un microcrustáceo de agua dulce caracterizado por tener varios tamaños que permiten ampliar la oferta alimentaria de las larvas de peces de diferentes tamaños de boca, asimismo, por ser un filtrador no selectivo posibilita mejorar su valor nutricional en relación a la composición de su dieta (Lubzens *et al.* 1989). Desde el punto de vista de su alimentación, los rotíferos pueden ser dosificados con microalgas, levaduras, bacterias, microencapsulados, etc., o con microalgas solas o mezcladas con levaduras (Fukusho, 1989; Sánchez., 2011), y considerando que la calidad del alimento influye en el crecimiento de los rotíferos, Lurling (2006), obtuvo mayores crecimientos poblacionales y mayor número de huevos en *B. calyciflorus* alimentados con *Scenedesmus pectinatus*.

Por otro lado, debido a las dificultades iniciales para producir masivamente microalgas como alimento para rotíferos de agua dulce, se recurrió al uso de levaduras y/o aguas residuales procedentes de la industria alimentaria y ganadera (Klekot & Klimowicz, 1981 ); sin embargo, la complejidad, altos costos y relativa baja calidad nutricional de estos recursos o formulaciones (Treece & Davis, 2000) propiciaron el uso de microalgas de diversos géneros, destacando

*Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis* y *Scenedesmus*, que en determinadas condiciones de cultivo son utilizadas como dietas exclusivas de los rotíferos durante 24 horas antes de su adicción a las larvas de peces y crustáceos Durán ( 2002).

Actualmente, con la principal finalidad de reducir los costos de producción de rotíferos, se han elaborado diversos medios de cultivos algales alternativos utilizando residuos de la maricultura, habiéndose demostrado que el extracto acuoso de valvas de *Argopecten purpuratus* “concha de abanico” (EVCA) permite obtener mayores crecimiento poblacionales de la microalga *Tetraselmis suecica* en relación al medio Guillard usado como control con valores de  $3.0 \times 10^6$  y  $1,8 \times 10^6$  cél /ml<sup>-1</sup> respectivamente (Merino *et al.*, 2009); asimismo, Ocampo & Rodríguez (2011), utilizando la misma concentración del EVCA (5, 10 y 20 mL L<sup>-1</sup>) obtuvieron mayor crecimiento poblacional de *Navícula salinícola* con la concentración de 10 mL L<sup>-1</sup> y mayor contenido de lípidos (42,57%). Por otro lado, Gómez (2013), demostró que la dosificación de 10 mL L<sup>-1</sup> del extracto acuoso de caparazones del caracol *Pomacea bridgessi*, “churo” (ECHURO) en el cultivo de *Nannochloris sp*, permite obtener mayor contenido de lípidos (36.23 %); en consecuencia, es factible biotransformar las valvas y caparazones de molusco (EVCA y ECHURO) en microalgas y ser utilizados en la alimentación de rotíferos que a su vez servirán de alimento vivo para larvas de peces con la ventaja adicional de incrementar el crecimiento poblacional y contenido lipídico de las microalgas obviando el enriquecimiento de los cultivos de rotíferos con elevadas dosis de ácidos grasos esenciales (Guillaume *et al.* 2004).

El presente trabajo de investigación consiste en la utilización del EVCA como medio de cultivo de *Scenedesmus acutus* para ser utilizado como alimento del rotífero dulceacuícola *B. calyciflorus* posibilitando incrementar el contenido de lípidos del rotífero y mejorar la calidad nutricional de las larvas de peces y crustáceos que la consuman. Adicionalmente subyace la gran importancia de minimizar los efectos negativos que causan en el medio ambiente, terrestre y acuático, de los desechos de las conchas de abanico.

Asimismo la investigación propone el cultivo de la microalga *Sc. acutus* con el EVCA como una alternativa para incrementar el contenido lipídico de *B. calyciflorus* cuya producción a gran escala contribuirá al desarrollo de la piscicultura nacional como alimento; especialmente de la amazonia peruana y a mejorar la estrategias de protección del medio ambiente a través de la biotransformación de los residuos de la maricultura.

En base a los antecedentes anteriormente mencionados y la carencia de información respecto al uso de tales medios de cultivo en el rotífero de agua dulce *B. calyciflorus* nos planteamos el siguiente problema: ¿Cuál es el efecto de la concentración celular de *Sc. acutus* cultivado con EVCA en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *B. calyciflorus* en condiciones de laboratorio?

## **HIPÓTESIS**

Si en condiciones de laboratorio, utilizamos las concentraciones de 5, 10, 15 y 20  $\times 10^4$  cel.ml<sup>-1</sup> de *Sc. acutus* cultivado con EVCA con la concentración 15 $\times 10^4$  cel.ml.<sup>-1</sup> se obtendrá un mayor crecimiento poblacional y contenido de lípidos en comparación con aquellos rotíferos alimentados con *Sc. acutus* cultivados con medio f/2 de Guillard.

## **OBJETIVOS**

- **Objetivo general**

Evaluar el efecto de la concentración celular de *Sc. acutus*, cultivado con el extracto de las valvas de la concha de abanico "*A. purpuratus*" (EVCA) en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Brachionus calyciflorus* en condiciones de laboratorio.

- **Objetivos específicos**

- ✓ Determinar el crecimiento poblacional (org. mL<sup>-1</sup>) de *B. calyciflorus* alimentados con 4 concentraciones (5, 10, 15 y 20  $\times 10^4$  cél mL<sup>-1</sup>) de *Sc. acutus* cultivado con EVCA.
- ✓ Determinar el contenido de lípidos del *B. calyciflorus* en fase exponencial, alimentados con *Sc. acutus* cultivado con EVCA.

## II. MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Localidad del proyecto

El proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares del Departamento Académico de Biología, Microbiología y Biotecnología de la Universidad Nacional del Santa, situado en la Provincia del Santa, Región Ancash.

### 2.2. Material Biológico.

En los experimentos se cultivó la cepa de *B. calyciflorus* (Olivier, 1965), proporcionada por el laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa, Nuevo Chimbote, Perú. El rotífero *B. calyciflorus* se caracteriza por presentar dos trocas o ruedas ciliadas que le permite el desplazamiento y filtración constantes del alimento disponible en toda la columna de agua. (fig.1),



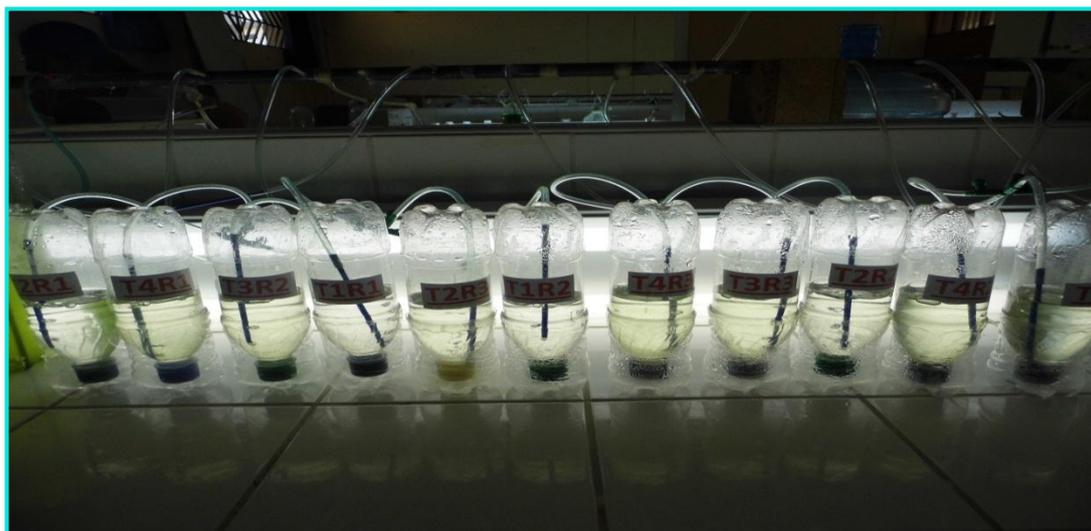
**Fig. 1** Ejemplar de *B. calyciflorus*, observada en microscopio óptico compuesto a 40x.

### 2.3. Diseño Experimental.

Se empleó el diseño experimental de estímulo creciente (Arroyo ,1984), con cuatro tratamientos ( $5, 10, 15$  y  $20 \times 10^4$  cél.  $\text{mL}^{-1}$ ) y un control alimentado con *Sc. acutus* ( $5 \times 10^4$  cél.  $\text{mL}^{-1}$ ) cultivado con medio Guillard f/2, con 3 repeticiones cada uno, según tabla 1 y fig.2.

**Tabla 1** Diseño experimental utilizado en la investigación para evaluar el efecto del alimento en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *B. calyciflorus*.

TRATAMIENTOS	MEDIO DE CULTIVO
T <sub>1</sub>	Cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> cultivado con EVCA a una concentración de $5 \times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup>
T <sub>2</sub>	Cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> cultivado con EVCA a una concentración de $10 \times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup>
T <sub>3</sub>	Cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> cultivado con EVCA a una concentración de $15 \times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup>
T <sub>4</sub>	Cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> cultivado con EVCA a una concentración de $20 \times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup>
T <sub>c</sub>	Cultivo de <i>B. calyciflorus</i> con <i>Sc. acutus</i> cultivado con Guillar f/2 a una concentración de $5 \times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup>



**Fig. 2** Unidades experimentales de los cultivos de *B. calyciflorus* en el laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa.

## 2.4. Preparación del Extracto Acuoso de Valvas de Conchas de Abanico (EVCA)

Se recolectó en un recipiente 1kg de valvas de concha de abanico de la empresa PIAGENSA FROZEN – Huarmey, y posteriormente 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 extracto acuoso de valvas de conchas de abanico EVCA como fuente de nitrógeno y carbono orgánicos para los cultivos de microalgas se realizó según la metodología propuesta por (Ocampo & Rodríguez 2011)(fig.3)



**Fig. 3** Flujo del proceso de preparación del extracto acuoso de valvas de "concha de abanico" *A. purpuratus* (Ocampo & Rodríguez 2011)

Según Ocampo & Rodríguez, (2011) el contenido de N, P y Si del EVCA mostraron valores inferiores a los del medio Guillard (Tabla 2) debido al mayor contenido de carbonatos presentes en las valvas de *A. purpuratus*.

**Tabla 2** Composición química de EVCA.

ELEMENTOS	GUILLARD	CONCENTRACIÓN DE EVCA (ml l <sup>-1</sup> )					
		10	20	30	40	50	60
	f /2						
N (mg l <sup>-1</sup> )	12,35	0,07	0,14	0,21	0,28	0,35	0,42
P (mg l <sup>-1</sup> )	1,123	0,9185	1,837	2,755	3,674	45,925	5,511
Si (mg l <sup>-1</sup> )	2,96	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8

Fuente: Ocampo & Rodríguez, (2011).

## 2.5. Preparación del cultivo de *Sc. acutus*.

Los cultivos de *Sc. acutus* utilizados en los ensayos procedieron de aquellos dosificado con 10 mL L<sup>-1</sup> de EVCA según Ocampo & Rodríguez, (2011).



**Fig. 4** Cultivo de microalga *Sc. acutus*.

## 2.6. Preparación del Medio de Cultivo Guillard f/2

El medio Guillard f/2 (Guillard, 1975) para el cultivo de *Sc. acutus* fue preparado utilizando reactivos químicamente puros (tabla 4) según protocolo establecidos por FAO (1989).

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

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN (mg L-1)
Nutrientes Mayores	75,0000
NaNO3	5,0000
NaH2PO4.H2O	
Micronutrientes	4,3600
Na2EDTA	3,1500
FeCl3 6H2O	0,0098
CuSO4 5H2O	0,0220
ZnSO4 7H2O	0,0100
CoCl2 6H2O	0,1800
MnCl2 4H2O	0,0063
Na2MnO4 2H2O	
Vitaminas	0,1000
Tiamina	0,5000
Biotina	0,5000
Cianocobalamina	

### 2.7. Acondicionamiento de las unidades experimentales para el cultivo de *B. calyciflorus*.

Durante los ensayos se utilizaron 15 botellas de plástico de 500 mL de capacidad y 300 mL de volumen efectivo de cultivo colocado de forma invertida (fig. 2) con aireación e iluminación constantes. Todos los cultivos del rotífero *B. calyciflorus* fueron iniciados con una densidad de 5 org. mL<sup>-1</sup> y las botellas correspondientes a las repeticiones de los cuatro tratamientos y el control fueron dispuestos alternadamente con la finalidad de minimizar interferencias de la iluminación.

### 2.8. Registros de parámetros ambientales del cultivo de *B. calyciflorus*.

Se hicieron registros diarios de temperatura, usando un termómetro digital Hanna ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ); de pH –ímetro digital Tester ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ); y de oxígeno disuelto con un oxímetro digital (0.01mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>).

### 2.9. Dosificación de *Sc. acutus* a los cultivos de *B. calyciflorus*.

Las dosificaciones de la microalga *Sc. acutus* (5, 10, 15 y 20 x 10<sup>4</sup>cél. mL<sup>-1</sup>) a los cultivos de *B. calyciflorus* fueron realizados diariamente a la misma hora (18:00 h) y con la finalidad de mantener constantes las concentraciones algales, se procedió a reponer las algas consumidas durante el día previo conteo de las algas en cada uno de los cultivos de *B. calyciflorus* ensayados.

## 2.10. Determinación de curvas de crecimiento.

Las densidades poblacionales de los cultivos de *B. calyciflorus* fueron obtenidas mediante conteos diarios utilizando cámara de Sedgwick- Rafter conteniendo 1mLy microscopio binocular marca Nikon con un aumento de 40x; asimismo, con los valores de estas densidades se graficaron las curvas de crecimiento con la finalidad de determinar el día en que los cultivos alcanzan la parte final de la fase exponencial del crecimiento y proceder a los análisis de proteínas y lípidos.

También, se determinaron la tasa específica de crecimiento poblacional por día ( $\mu$ ) y el tiempo de duplicación diaria (TD), ambos al quinto día de cultivo y según la fórmula siguiente:

$$\mu = \ln(N_f/N_o) / T_f - T_o$$

$$TD = \ln 2 / \mu$$

Donde  $N_o$  y  $N_f$  corresponden al número de organismos por mL en los tiempos  $T_o$  y  $T_f$ , respectivamente.

## 2.11. Determinación de lípidos.

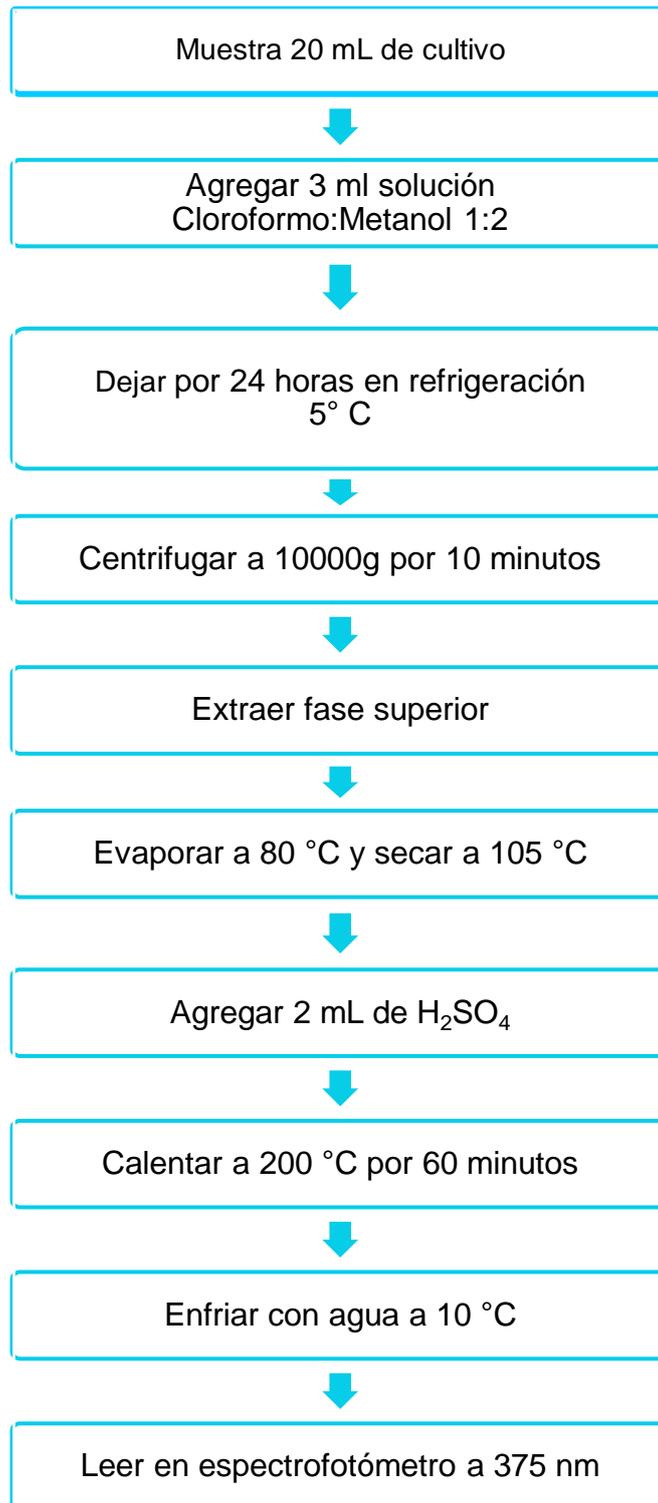
Al sexto día de cultivo, de cada unidad experimental se tomó una muestra de 100 ml y se filtró con una malla de 50 micras. Luego cada filtrado se colocó en placa de Petri y se llevó al secado en estufa eléctrica a 60 °C por 6 horas, obteniéndose las muestras secas para los correspondientes análisis de lípidos.

$$\text{concentración de lípidos (\%)} = \frac{\text{ABSORBANCIA}}{\text{peso muestra}} \times 100$$

**DONDE:**

**K1=** 1,8851 (Pendiente promedio obtenida de las curvas de calibración)

**FAO (1989)**



**Fig. 5** Flujograma para el contenido de lípidos de *B. calyciflorus* según Blight & Dyer (1959); por Marsh & Weinstein (1966).

### **2.12. Análisis estadísticos de datos.**

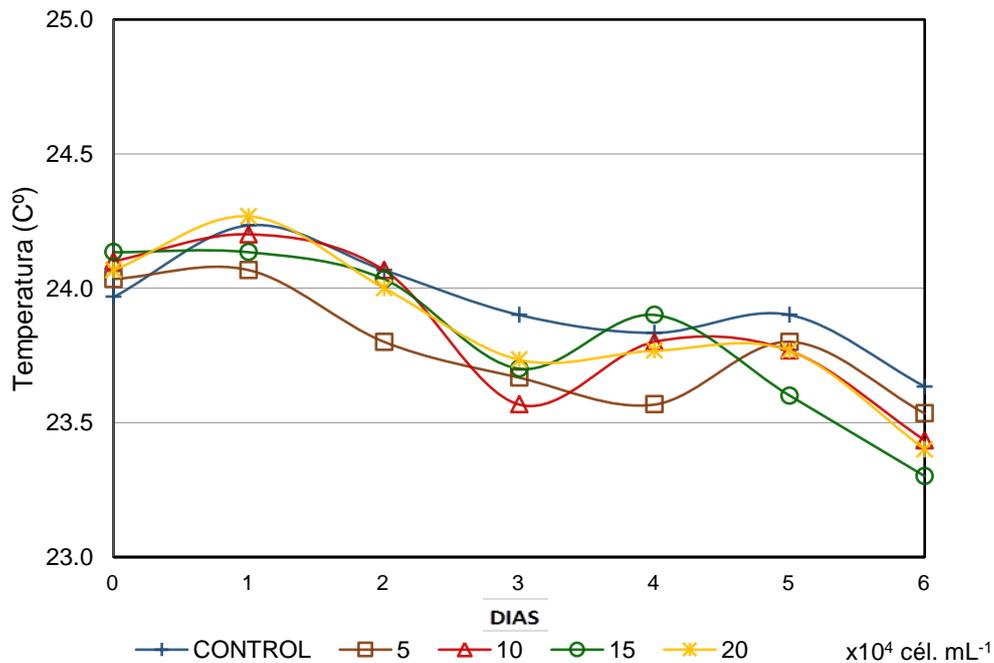
A los datos de crecimiento poblacional (densidad poblacional, tasa específica de crecimiento y tasa de duplicación diaria), y lípidos, se les aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey HSD para establecer diferencias significativas entre los tratamientos y obtener los mejores rendimientos. En todos los casos se utilizó un nivel de significancia de 0,05. Todo el proceso estadístico fue desarrollado utilizando los programas Microsoft Office Excel 2010 y SPSS 18.0 para Microsoft Windows 7.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Registro de Parámetros del cultivo de *B. calyciflorus*

##### 3.1.1. Temperatura del cultivo de *B. calyciflorus*

En la Fig. 6, se muestran los valores de la temperatura de los cultivos de *B. calyciflorus* durante el experimento realizado utilizando diferentes concentraciones de *Sc. acutus*.

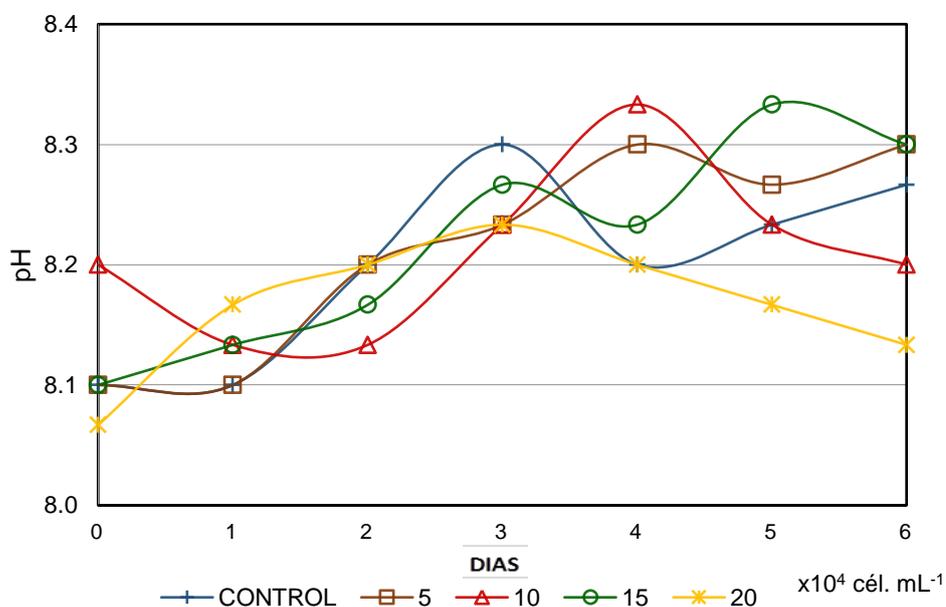


**Fig. 6** Variación de la temperatura promedio (°C) en los cultivos de *B. calyciflorus* dosificados con diferentes concentraciones de *Sc. acutus*.

La temperatura promedio en los cultivos de *B. calyciflorus* durante el experimento se presentó desde un mínimo a 23,2 °C a un máximo de 24,4 °C (Fig. 6), para todos los tratamientos. Los mismos presentaron valores promedios diarios significativamente similares ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.2. pH del cultivo de *B. calyciflorus*

Se observa en la Fig. 7, y Anexo 1, los valores del pH en los cultivos de *B. calyciflorus* durante los días del experimento en todos los tratamientos.

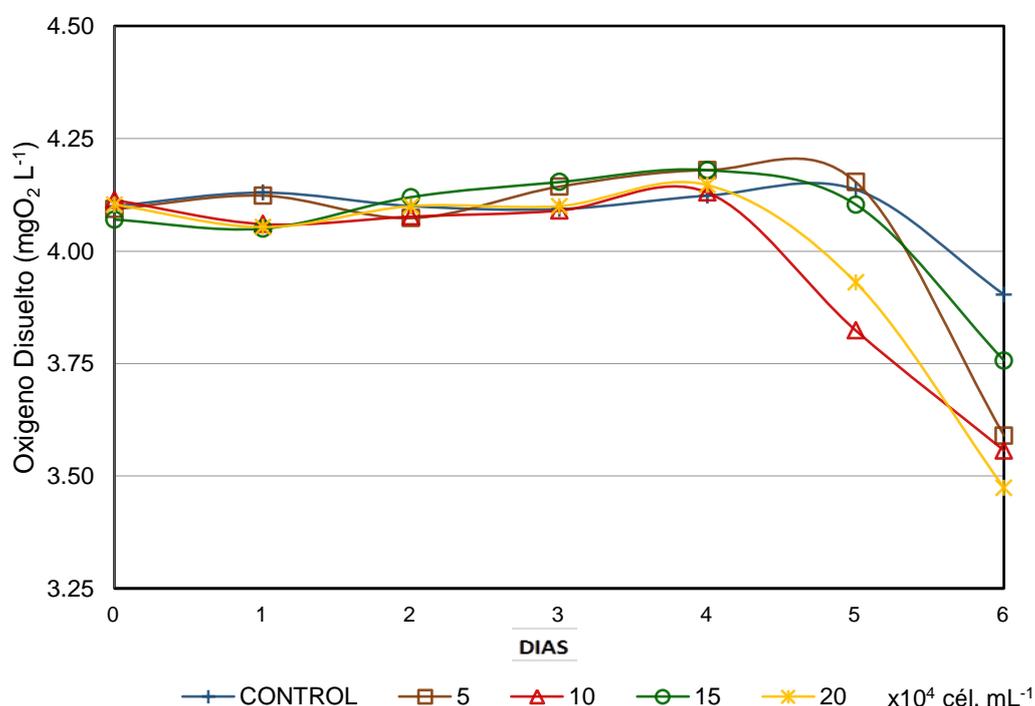


**Fig. 7** Variación promedio del pH de los cultivos de *B. calyciflorus* dosificados con diferentes concentraciones de *Sc. acutus*.

Los valores de pH se iniciaron con promedios similares ( $p > 0,05$ ) entre 8,07 y 8,20 unidades (Fig. 7; Anexo 1), los que presentaron un ligero aumento con el transcurrir de los días de cultivo los que no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre cada día de cultivo. Aunque estas variaciones fueron muy pequeñas, encontrándose valores promedio de pH entre 8,13 y 8,30 unidades (Fig. 7; Anexo 1).

### 3.1.3. Oxígeno disuelto del cultivo de *B. calyciflorus*

Se observa en la Fig. 8, los valores del oxígeno disuelto en los cultivos de *B. calyciflorus* durante los días del experimento.



**Fig. 8** Variación del oxígeno disuelto promedio ( $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1}$ ) en los cultivos de *B. calyciflorus* dosificados con diferentes concentraciones de *Sc. acutus*.

Los promedios de oxígeno disuelto estuvieron entre  $3,45$  y  $4,34 \text{ mgO}_2 \text{L}^{-1}$  (Fig. 8), presentando valores significativos diarios similares ( $p > 0,05$ ) entre el inicio de la experiencia hasta el quinto día. Al final de la experiencia, los mayores valores significativos ( $p < 0,05$ ) se presentaron en el control y el tratamiento T3, con  $3,90$  y  $3,76 \text{ mgO}_2 \text{L}^{-1}$ , respectivamente; mientras que el menor valor fue encontrado en el tratamiento T4 con  $3,47 \text{ mgO}_2 \text{L}^{-1}$ . La tendencia de la disminución de los tenores de oxígeno observada a finales de las experiencias, al parecer, sería consecuencia de la sedimentación y muerte de las algas.

### 3.2. Crecimiento poblacional de *B. calyciflorus*

#### 3.2.1. Curva de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus*

Las densidades poblacionales de los cultivos de *B. calyciflorus* se muestran en la Tabla 4, figura 9 y Anexo 2.

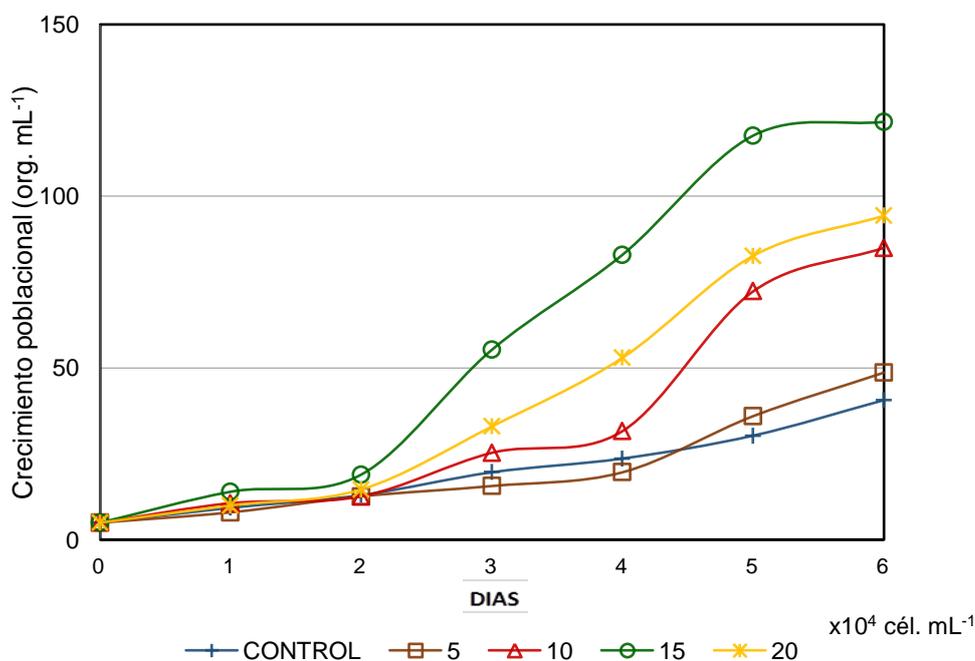
**Tabla 4** Crecimiento poblacional promedio (org. mL<sup>-1</sup>) en los cultivos de *B. calyciflorus*.

DIA	CONTROL		<i>Sc. acutus</i> (x10 <sup>4</sup> cél. mL <sup>-1</sup> )							
			5		10		15		20	
0	5,0	±0,0a	5,0	±0,0a	5,0	±0,0a	5,0	±0,0a	5,0	±0,0a
1	9,3	±1,5b	8,0	±1,0b	10,7	±0,6b	14,0	±1,7a	10,0	±1,0b
2	13,0	±1,0b	12,7	±1,5b	12,7	±1,2b	19,0	±3,0a	14,7	±1,5ab
3	19,7	±2,1cd	15,7	±2,1d	25,3	±3,1bc	55,3	±6,0a	33,0	±2,6b
4	23,7	±3,5c	19,7	±1,5c	31,7	±2,5c	83,0	±10,5a	53,0	±7,0b
5	30,3	±1,5c	36,0	±2,6c	72,3	±4,0b	117,7	±12,1a	82,7	±4,7b
6	40,7	±2,1c	48,7	±2,3c	85,0	±2,0b	121,7	±9,2a	94,3	±6,1b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa (p<0,05).

Todos los ensayos se iniciaron con la densidad poblacional promedio de 5org. mL<sup>-1</sup> los que mostraron incrementos de acuerdo a las dosificaciones del alimento. En tal sentido durante los días 1 y 2 todos los cultivos no presentaron diferencias estadísticas, excepto aquellos tratados con 15 y 20 x10<sup>4</sup>cél. mL<sup>-1</sup> (Tabla 4).

A partir del día 3, los crecimientos muestran diferencias estadísticas siendo mayores aquellos dosificados con 15 x10<sup>4</sup>cél. mL<sup>-1</sup> (Fig. 9) que se hacen más notorias a partir del cuarto día de cultivo, en la que los menores valores estadísticamente diferentes (p<0,05) fueron determinados en el control y los tratamientos T1 y T2 (23.7; 19.7 y 31.7 org. mL<sup>-1</sup>) y los valores más altos en los tratamientos T3 y T4 (83 y 53,0 org. mL<sup>-1</sup>).



**Fig. 9** Curvas de crecimiento poblacional promedio en los cultivos de *B. calyciflorus*.

En el quinto día de cultivo, se presentaron densidades poblacionales estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) teniendo los menores promedios el control y el tratamiento T1 ( $30,3$  y  $36,0$  org.  $\text{mL}^{-1}$ ); los valores intermedios se presentaron en los tratamientos T2 y T4 ( $72,3$  y  $82,7$  org.  $\text{mL}^{-1}$ ) y el mayor valor se encontró en el tratamiento T3 ( $117,7$  org.  $\text{mL}^{-1}$ ).

Al final del cultivo (día 6), se presentaron densidades poblacionales estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) con la misma tendencia que el día 5, teniendo los menores promedios el control y el tratamiento T1 ( $40,7$  y  $48,7$  org.  $\text{mL}^{-1}$ ); los valores intermedios se presentaron en los tratamientos T2 y T4 ( $85,0$  y  $94,3$  org.  $\text{mL}^{-1}$ ) y mientras que el mayor valor se encontró en el tratamiento T3 con  $121,7$  org.  $\text{mL}^{-1}$ .

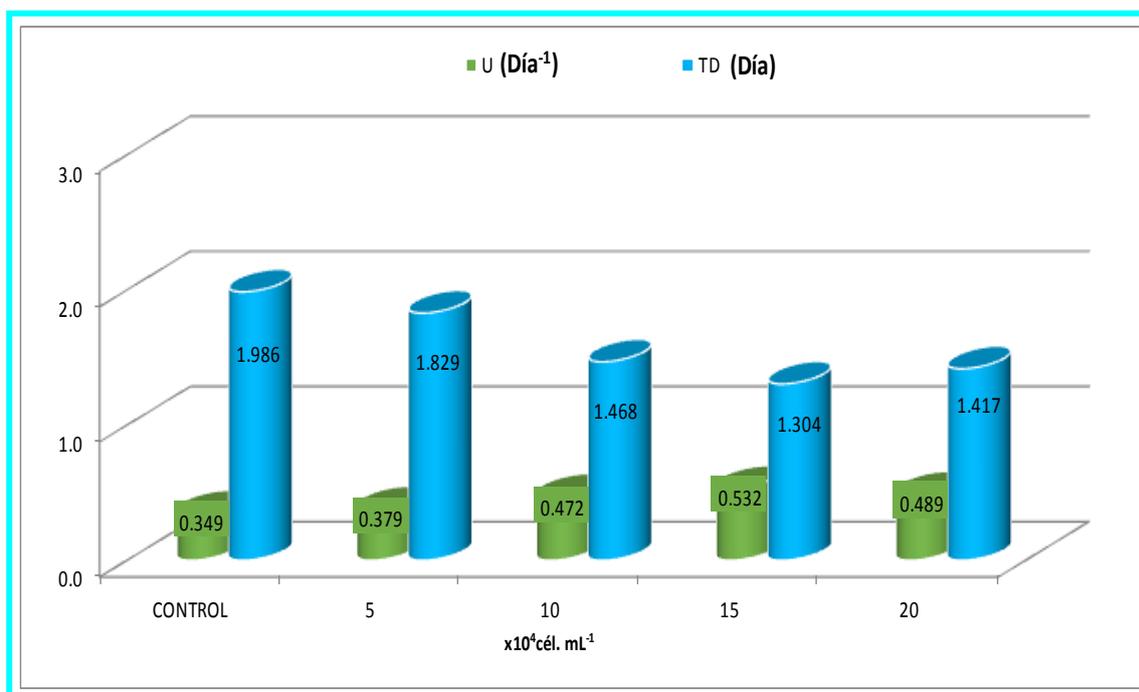
### 3.2.2. Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación poblacional de *B. calyciflorus*

Se muestra en la Tabla 5 y Fig. 10 la tasa de crecimiento y tiempo de duplicación poblacional promedio de *B. calyciflorus* al sexto día de cultivo en todos los tratamientos.

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

PARÁMETRO	CONTROL		<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL $^{-1}$ )							
			5		10		15		20	
$N_0$ (org. mL $^{-1}$ )	5,0	$\pm 0,0$	5,0	$\pm 0,0$	5,0	$\pm 0,0$	5,0	$\pm 0,0$	5,0	$\pm 0,0$
$N_f$ (org. mL $^{-1}$ )	40,7	$\pm 2,1$	48,7	$\pm 2,3$	85,0	$\pm 2,0$	121,7	$\pm 9,2$	94,3	$\pm 6,1$
$\Delta t$ (día)	6		6		6		6		6	
$\mu$ (día $^{-1}$ )	0,349	$\pm 0,008d$	0,379	$\pm 0,008c$	0,472	$\pm 0,004b$	0,532	$\pm 0,013a$	0,489	$\pm 0,011b$
TD (día)	1,986	$\pm 0,048d$	1,829	$\pm 0,039c$	1,468	$\pm 0,012b$	1,304	$\pm 0,032a$	1,417	$\pm 0,031b$

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



**Fig. 10** Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) poblacional promedio al sexto día en los cultivos de *B. calyciflorus*.

Se observa que al sexto día de cultivo (Tabla 5; Fig. 10), el menor promedio significativo ( $p < 0,05$ ) de la tasa de crecimiento específico poblacional ( $\mu$ ) se

presentó en el control seguido del tratamiento T1 (0,349 y 0,379 día<sup>-1</sup>) y el mayor promedio se presentó en el tratamiento T3 (0,532 día<sup>-1</sup>); mientras que los tratamientos T2 y T4 presentaron valores intermedios (0,472 y 0,489 día<sup>-1</sup>).

Para el tiempo de duplicación (TD) se encontró que al sexto día de cultivo (Tabla 5), el menor promedio ( $p < 0,05$ ) se presentó en el tratamiento T3 (1,304 día<sup>-1</sup>) y los tratamientos T2 y T4 presentaron valores intermedios (1,468 y 1,417 día<sup>-1</sup>); mientras que los mayores promedios se presentaron en el tratamiento T1 y el control (1,829 y 1,986 día<sup>-1</sup>).

### 3.3. Contenido de lípidos de *B. calyciflorus*

Se presentan en la siguiente Tabla 6 y Fig. 11 los porcentajes y biomasa promedio de lípidos en *B. calyciflorus* al sexto día del experimento; asimismo, se consignan en la tabla 7 los incrementos porcentuales superiores de todos los cultivos de *B. calyciflorus* alimentados con *Sc. acutus* procedentes de cultivos dosificados con EVCA en comparación a los cultivados con Guillard.

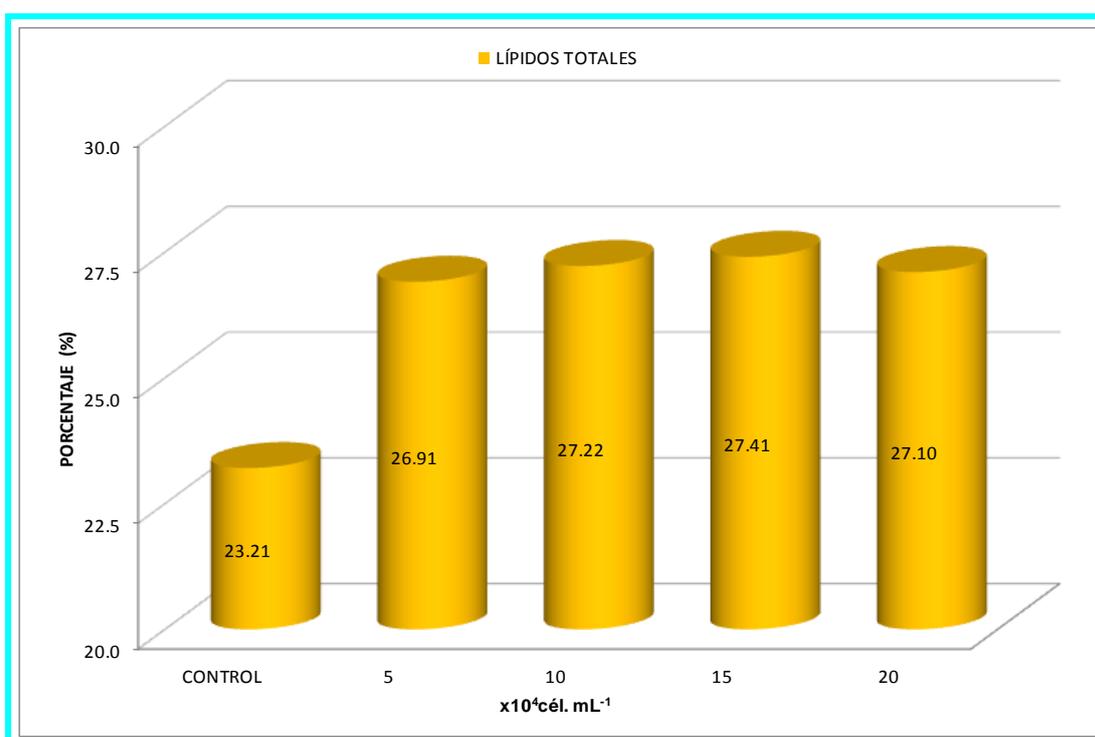
**Tabla 6** Porcentaje promedio de los lípidos en *B. calyciflorus* al quinto día de cultivo en todos los tratamientos.

PARÁMETRO	CONTROL		<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> )							
			5		10		15		20	
Lípidos (%)	23,21	±0,47b	26,91	±0,44a	27,22	±2,26a	27,41	±0,86a	27,10	±1,36a
Lípidos (mg L <sup>-1</sup> )	5,41	±0,35c	7,43	±0,47c	13,27	±0,83b	19,29	±1,92a	14,84	±0,82b

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

**Tabla 7** Valores porcentuales del contenido de lípidos de los cultivos de *B. calyciflorus* alimentados con diferentes concentraciones de *Sc. acutus*.

PARÁMETRO	CONTROL	<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> )			
		5	10	15	20
Lípidos (%)	23,21	26,91	27,22	27,41	27,10
Incremento (%)	0,00	15,94	17,19	18,05	16,76



**Fig. 11** Porcentajes promedio (%) de lípidos en *B. calyciflorus* al sexto día de cultivo.

Al sexto día de cultivo de *B. calyciflorus* (Tabla 7; Fig. 11) el menor promedio significativo ( $p < 0,05$ ) del porcentaje de lípidos totales se presentó en el control con un valor de 23,21 %; mientras que los mayores promedios ( $p < 0,05$ ) se presentaron en los tratamientos T1, T2, T3 y T4 con valores de 26,91; 27,22; 27,41 y 27,10 %, respectivamente.

## IV. DISCUSIÓN

Los parámetros del cultivo, tales como la temperatura (23,2 °C - 24,4 °C), pH (7.3 – 7.6) y oxígeno disuelto (3,45 y 4,34 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), se mantuvieron a niveles normales recomendados por FAO (1989) para el cultivo de *B. plicatilis*, cuyos valores aceptables son de 25°C, 6-8 y encima de 2 mg.l<sup>-1</sup>, respectivamente por lo que consideramos que los referidos parámetros no han interferido con la dinámica del crecimiento de los rotíferos.

Es sabido que *Brachionus* es un organismo filtrador que no selecciona su alimento (polífago), ingiere partículas de diámetro de 12 –15 µm y se alimenta básicamente de microalgas, bacterias y levaduras (FAO, 1989). El problema de la alimentación de los rotíferos del género *Brachionus* ha sido ampliamente estudiado (Sarma *et al.*, 2001; Fernández-Araiza *et al.*, 2005); encontrándose que la cantidad de alimento y su contenido nutricional en relación a la dieta es el factor más significativo que determina el tamaño poblacional de los rotíferos puesto que *Brachionus* sometida a diferentes niveles de alimento cambia sus patrones reproductivos y la duración de su vida (Yoshinaga *et al.*, 2003).

También es conocido que las densidades de los cultivos de *Brachionus* pueden variar en relación al tamaño de la cepa registrándose densidades entre 100 a 200 org. mL<sup>-1</sup> (Hirata *et al.*, 1985), no obstante Fukusho (1989) y Pfeiffer & Ludwig (2002), encontraron densidades mayores a 1000 org. mL<sup>-1</sup>; sin embargo, se ha demostrado el efecto del alimento en las densidades habiendo reportada CENAIM (1999), valores de 150 a 800 org. mL<sup>-1</sup>. Otros autores, tales como Prieto & Espitia (2001) obtuvieron densidades de 142.58 a 268.5 org. mL<sup>-1</sup> en los cultivos masivos de *Brachionus patulus* y King (1977), reportó densidades de 200 a 400 org. mL<sup>-1</sup>; asimismo Torres *et al.* (2012), menciona el tipo de alimento con diferentes medios eficientes como alimento al *Brachionus rotundiformis* donde obtuvieron densidades de 96.75 a 132.5 org. mL<sup>-1</sup>.

El presente trabajo, (Tabla 4 y Fig. 9), encontramos al sexto día, las mayores densidades de 121.7 y 94.3 org. mL<sup>-1</sup>, correspondientes a los tratamientos dosificados con 15 y 20 x 10<sup>4</sup> cel.mL de *Sc. acutus* cultivada con EVCA están

dentro del rango de densidades reportados por Hirata *et al.* (1985) y Torres *et al.* (2012).

El crecimiento poblacional del rotífero depende también de la capacidad de ingestión del alimento suministrado en el medio de cultivo de dichos organismos y del tamaño, considerando De la Cruz (1995), que el tamaño más apropiado es de 6 micrómetros con preferencia entre 4 a 10  $\mu\text{m}$ , asimismo, el CENAIM (1999), sostiene que los rotíferos del género *Brachionus* pueden ingerir partículas de 20 a 30  $\mu\text{m}$ , *Scenedesmus* y que naturalmente consumen microalgas unicelulares de 18  $\mu\text{m}$ , además de bacterias, levaduras y protozoarios. Desde el punto de vista de su producción masiva, es preferible el uso de microalgas a las levaduras de panificación *Saccharomyces cerevisiae*, como lo ha demostrado, Caric *et al.* (1993), al comparar el contenido de lípidos totales de *B. plicatilis* alimentados con *Nannochloropsis sp.* y levaduras cuyos valores son de 11,1 a 17,2 % y de 10,3 a 19,4% respectivamente. Por otro lado, los resultados similares del contenido de lípidos (12,6 %) obtenidos por Sánchez *et al.* (2008), utilizando dietas balanceadas en la alimentación de rotíferos y microalgas (*Nannochloropsis sp.*) hacen necesaria la realización de investigaciones respecto a optimizar tanto la producción como el contenido lipídico de las microalgas a utilizar como alimento para la producción masiva de rotíferos que a su vez servirán como alimento vivo para larvas de peces y crustáceos.

Torres *et al.* (2012) utilizando la microalgas *Nannochloropsis oculata* cultivada en distintos medios (Guillard f/2, un fertilizante agrícola, y fertilizante acuícola) evaluaron la respuesta productiva y composición proximal del rotífero *B. rotundiformis* (30.24 ,24.84 ,27% de lípidos) determinando que la composición química de las microalgas es influenciada por el medio de cultivo utilizado. Estos resultados permiten asumir que los cultivos de *Sc. acutus* dosificados con 5 y 15 x 10<sup>4</sup> cel. mL<sup>-1</sup> de EVCA y utilizados como alimento de *B. calyciflorus*, permitirán mejorar su calidad nutricional debido a los mayores porcentajes de lípidos, 26.91 y 27.41 %, respectivamente, en comparación de aquellos alimentados con *Sc. acutus* cultivados con medio f/2 de Guillard (23.21 %).

Dentro de los parámetros que son necesarios conocer en el cultivo de organismos como *Brachionus*, se encuentra la tasa de crecimiento poblacional, parámetro que mide la tasa neta de cambio del tamaño poblacional y representa el balance entre adición por reproducción y pérdidas por mortalidad. Este parámetro solo o en conjunto con otros nos da información para poder entender las causas de los cambios en los tamaños de las poblaciones. Más aún, la tasa de crecimiento poblacional sintetiza todos los parámetros de las tablas de vida, porque combina supervivencia, fecundidad, tiempo de desarrollo y reproducción (Miracle & Serra, 1989).

En cuanto al crecimiento poblacional de rotíferos, Suchar & Chigbu (2006), mencionan que existe una fuerte correlación entre las tasas de crecimiento poblacional de los rotíferos y la abundancia de alimento. La densidad algal afecta las tasas de crecimiento poblacionales al influir sobre las tasas de alimentación e ingestión (Yoshinaga *et al.*, 2003).

La máxima producción de rotíferos obtenida por Sarma *et al.* (2001), fue de  $241 \pm 48 \text{ org. ml}^{-1}$  utilizando la microalga *Chlorella* cultivado en aguas residuales similar al logrado por Gómez & Gómez (1997) cuando alimentaron a *B. calyciflorus* con *Chlorella vulgaris* y levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae*; sin embargo son superiores a las obtenidas por Navarro & Yúfera (1998) y Romero *et al.* (2006), cuando alimentaron a los rotíferos con pasta de *Chlorella sp.* y polvo liofilizado de *Nannochloropsis oculata*, 214 y  $250 \text{ org. mL}^{-1}$  respectivamente Romero & Otero (2004). Esto demostraría la capacidad que tiene *B. calyciflorus* de aprovechar a la levadura como alimento eficaz a bajas concentraciones para complementar los requerimientos nutricionales de los rotíferos.

Respecto a la tasa de crecimiento ( $\mu$ ), Cabrera (2008), determinó en cultivos quimiostáticos de dos cámaras de *B. rotundiformis* valores de  $1,2 \text{ día}^{-1}$  en la fase de transición, cercana a  $1,35 \text{ día}^{-1}$  reportados por otros autores en cultivos cerrados (Pascual & Yúfera 1983; Snell, 1986; Hirayama *et al.*, 1989; Yoshimura *et al.*, 1997; Gama-Flores *et al.*, 2005). De igual manera, se hallaron valores de  $\mu$  obtenido en la fase estacionaria fue  $1,09 \text{ día}^{-1}$ , encontrándose entre los valores más altos reportados para *B. rotundiformis* en condiciones de

cultivo continuo; valores  $\mu$  similares fueron obtenidos por James & Abu-Rezeq (1989) y Aoki & Hino (1996), para *B. rotundiformis* en la misma fase en sistemas de cultivo continuo con valores de  $0,6 \text{ día}^{-1}$  y  $1,33 \text{ día}^{-1}$ , respectivamente. Por otro lado, Sarma *et al.* (2001) determinaron valores de  $\mu$  de  $0,63 \text{ día}^{-1}$  y  $0,13 \text{ día}^{-1}$  para *B. calyciflorus*.

Por otro lado, Lurling (2006), menciona que el medio de cultivo para las microalgas es eficiente y que la calidad del alimento influye en el crecimiento de los rotíferos, en tal sentido demostró que la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ), de *B. calyciflorus* alimentados con *Sc. pectinatus* procedentes de cultivos con y sin limitaciones de nitrógeno y fósforo, se obtuvieron valores de  $1,25 \text{ día}^{-1}$ ,  $0,85 \text{ día}^{-1}$  y  $0,75 \text{ día}^{-1}$  respectivamente; en consecuencia, es posible afirmar que la calidad del *Scenedesmus* como alimento de *B. calyciflorus* está influenciado por la composición del medio de cultivo.

En nuestra investigación, encontramos que al sexto día de cultivo, la mayor tasa específica de crecimiento se obtuvo con el tratamiento con  $15 \times 10^4 \text{ cél. mL}^{-1}$  de *Sc. acutus* cultivado con EVCA (Tabla 5 y Fig. 10) con un valor promedio de  $0,532 \text{ día}^{-1}$ , debido probablemente a que la calidad y cantidad de alimento fueron adecuadas y por consiguiente permitieron un crecimiento poblacional continuo del rotífero.

Boraas (1983) y Rothaup (1985), trabajando en sistemas continuos con *B. calyciflorus* y *B. Rubens* obtuvieron tasas de crecimiento de  $1,18$  y  $0,18 \text{ día}^{-1}$ , respectivamente, durante la fase estacionaria. Estas diferencias reflejan las particularidades de la ecología evolutiva de las especies, así como, el efecto de emplear distintos alimentos y condiciones experimentales (Cabrera, 2008); existiendo diferencias en los valores de la tasa específica de crecimiento al utilizar un sistema de cultivo con los tenores propuestos en nuestros tratamientos, a fin de precisar la dosis más adecuada de EVCA.

En el caso del tiempo de duplicación, Ahmed *et al.* (2010), trabajando con *B. calyciflorus*, encontraron que en la fase logarítmica, la tasa de duplicación (TD) presentó un valor de  $2,26 \text{ día}$ , esto significaba que la población demoraba más

de dos días en promedio para duplicar su población de cultivo. Generalmente los rotíferos llegan a ser adultos después de 0,5 a 1,5 días, a partir de esta edad, las hembras empiezan a producir huevos cada cuatro horas aproximadamente. Además, el CENAIM (1999) sostiene que las hembras pueden producir diez generaciones de progenie antes que ellas eventualmente mueran y que la actividad reproductiva depende también de la temperatura ambiental; siendo una condición para el aumento poblacional en el cultivo de *B. plicatilis*. En el experimento se encontró valores cercanos a los mencionados por Ahmed *et al.* (2010), Teniendo el menor promedio ( $p < 0,05$ ) al sexto día del cultivo en el tratamiento T3 con 1,304 día, Esto quiere decir que en promedio demoraba menos de dos días en duplicar su población (Tabla 5 y Fig. 10), por lo que la dosificación del alimento es la adecuada y presentaba una buena calidad nutritiva, el mismo que permitió obtener buenos incrementos poblacionales. El caso contrario, los resultados obtenidos con los tratamientos T1 y el control con valores de 1,829 y 1,986 día, respectivamente evidenciando que no ha sido la mejor dosis de alimento, debido probablemente a que las cantidades no fueron adecuadas, siendo pequeña a una concentración de  $5 \times 10^4 \text{cél. mL}^{-1}$  de *Scenedesmus acutus*.

De acuerdo a diversos autores (Guevara *et al.*, 2011; Lubzens *et al.*, 1995; Dhert *et al.*, 2001), la composición bioquímica de los rotíferos estará relacionada con la calidad nutricional de la microalga utilizada en su alimentación. Así tenemos los resultados obtenidos por Torres *et al.* (2012), demostraron que el rotífero *B. rotundiformis*, alimentada con *Nannochloris oculata* previamente cultivado en tres medios diferentes como Guillard F/2 (control), Fertilizante agrícola (T-Agrí) y el fertilizante acuícola (T-Aqua), obtuvieron 24.12, 21.76 y 21.04% de lípidos totales en peso seco respectivamente.

Respecto a nuestros resultados, los cultivos de *B. calyciflorus* dosificados con *Sc. acutus* muestran mayores contenidos promedio significativo ( $p < 0,05$ ) de lípidos que los cultivos control con valores que varían de 26,91 a 27,41, mientras que el control alcanza valor de 23,21 % (tabla 6 y fig. 11) debido al mayor contenido de lípidos de *Sc. acutus* cultivadas con EVCA ya que los medio de cultivo con menores tenores de nitrógeno permiten incrementar el

contenido de lípidos (Ocampo & Rodríguez, 2011). Es importante considerar que el mayor contenido de nitrógeno del medio Guillard en comparación al EVCA (Tabla 2) explicaría los mayores y similares contenidos de lípidos de los cultivos de *B. calyciflorus* alimentados con *Sc. acutus* procedentes de cultivos dosificados con EVCA (Tabla 6) que llegan a ser incrementados en aproximadamente 18% (Tabla 7).

A la luz de nuestros resultados, es posible inferir que el uso de medios de cultivos algales alternativos con bajo contenido de nitrógeno basados en residuos de la acuicultura (Gómez 2013) y maricultura (Ocampo & Rodríguez 2011) por propiciar el incremento de lípidos de los rotíferos que la consuman, posibilitan abaratar costos de producción masiva de tan importante alimento vivo aunado a la minimización de los impactos negativos que tales residuos ocasionan en el medio ambiente.

## V. CONCLUSIONES

- Las mayores densidades poblacionales de *B. calyciflorus* fueron obtenidas cuando son alimentadas con la microalga *Sc. acutus* cultivadas con EVCA, siendo  $15 \times 10^4$  cél. mL<sup>-1</sup> la mejor dosificación obteniéndose valores de 121,7 org. mL<sup>-1</sup>; asimismo, permitió obtener los mayores valores de la tasa específica de crecimiento (u) y tasa de duplicación (TD) con valores de 0,532 día<sup>-1</sup> y 1,304 día<sup>-1</sup>, respectivamente.
- Todos los cultivos dosificados con EVCA mostraron mayores contenidos de lípidos respecto al control y los cultivos de *B. calyciflorus* alimentados con  $15 \times 10^4$  cél. mL<sup>-1</sup> de *Sc. acutus* presentaron hasta 18,05% más que el control, 27,41 y 23,21%, respectivamente.
- Las variaciones de la temperatura, pH y oxígeno de los cultivos de *B. calyciflorus* alimentados con *Sc. acutus* no afectaron la dinámica del crecimiento de los rotíferos por estar dentro de sus rangos adecuados.

## VI. RECOMENDACIONES

- Determinar el perfil de aminoácidos y ácidos grasos del rotífero *B. calyciflorus* alimentados con *Sc. acutus* cultivados con residuos de la maricultura, acuicultura e industriales.
- Realizar estudios de las tasas de ingestión y asimilación del rotífero *B. calyciflorus* alimentados con *Sc. acutus* procedentes de cultivos utilizando residuos de la pesquería, de la agroindustria y lodos residuales.
- Desarrollar un sistema del cultivo integrado microalgas- rotíferos en el contexto de reciclar residuos que coadyuven a minimizar los actuales impactos negativos que tales residuos ocasionan al ambiente acuático y terrestre, así como propiciar la producción masiva de rotíferos para su uso como alimento vivo de animales, peces y crustáceos, de interés económico.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Agh, N. & P. Sorgeloos. 2005. Handbook of protocols and guidelines for culture and 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.
- Aoki, S. & A. Hino. 1996. Nitrogen flow in a chemostat culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fish. Sci.* 62:8-14.
- Arroyo, R. 1984. Curso de estadística aplicada a la investigación: Diseños experimentales. Instituto de la investigación de la Amazonia. Iquitos, Perú. 160 p.
- Boraas, M.E. 1983. Population dynamics of food limited rotifers in two-stage chemostat culture. *Limnol. Oceanogr.* 28:546-563.
- Bligh, E. & W. Dyer. 1959. A rapid method 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.
- Caric, M.; J. Sanko-Njire & B. Skamuca. 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller). *Aquaculture*. 110:141-150.
- 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>>. Accedido: 26 de enero del 2012.

- Castro, T., R. De Lara., G. Castro., J. Castro & A. Malpica. 2003. Alimento vivo en la acuicultura. Departamento El Hombre y su Ambiente. División de CBS. UAM Unidad Xochimilco.
- 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.; Rombaut, G.; Suantika, G. & P. Sorgeloos. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*. 200:129-146.
- Duran, G. 2002. Evaluación de la producción y uso del rotífero *Brachionus plicatilis* en la larvicultura de *Litopenaus vanamei*. Tesis de grado. Magister en Ciencias. Escuela Politécnica de Litoral. Guayaquil.
- FAO. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Documento de campo N° 12. Programa Cooperativo Gubernamental FAO – Italia. 90 p.
- Fernández-Araiza, M., S. Sarma & S. Nandini. 2005. Combined effects of food concentration and temperature on competition among four species of *Brachionus* (Rotifera). *Hydrobiologia* 546: 519-534.
- Fukusho, K. 1989. Biology and mass production of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Int J Aquacult Fish Technol.*, 1, 232-240.
- 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.
- Gómez, C.2013. Efecto de tres concentraciones de extracto acuoso de caparazones del caracol *pomácea bridgesii* churo en el crecimiento y contenido de lípidos de *Nannochloris sp.* en condiciones de laboratorio, Tesis. Universidad Nacional del Santa - Nuevo Chimbote.40p
- Guevara, M.; Bastardo, L.; Cortez, R.; Arredondo-Vega, B.; Romero, L. & 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 *Culture of Marine Invertebrates* Smith W.I and Chanley M.H (eds). Animals. Plenum Press. New York, USA. pp 29 - 60.
- Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot & R. Metailler. 2004. Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Ediciones: Mundi-Prensa. Madrid-España.
- Hirata, H.; Mavrikos, A. & 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.; Maruyama, I. & T. Maeda. 1989. Nutritional effect of freshwater *Chlorella* on growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*.186/187:39-42.
- Izquierdo, M.S. 2004. Nutritional Requirements for Finfish Larvae. The Second Hatchery Feeds and Technology Workshop, Sydney, Australia. 8-16pp.

- James, C.M. & T. Abu-Rezeq. 1989. Intensive rotifer cultures using chemostats. *Hydrobiologia*.186/187:423-430.
- Klekot, L. & H. Klimowicz. 1981. Comunidades de rotíferos de estanques suministran con agua después de los residuos. *Ecol.* 4: 1981. 208-214.
- King, C. 1977. Genetics of reproduction, variation and adaptation in rotifers. *Archiv. Für Hydrobiologie Beiheft.* 8:187-201.
- Lubzens, E.; Gibson, O.& A. Sukenik. 1995. Potential advantages of frozen algae (*Nanochloropsis* sp.) for rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*. 133:295-309.
- Lubzens, E.; Tandler, A. & G.Minkoff.1989.rotifers as food in aquaculture *hydrobiologia*.186/187:387-400.
- Lubzens, E; Zmora, O. & Y. Barr. 2001. Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Developments in Hydrobiology*. Volume 153: 337-353pp.
- Lürling M. 2006. Investigation of rotifer (*Brachionus calyciflorus*)-green alga (*Scenedesmus pectinatus*) interaction under non-and nutrient-limited conditions. 42(1), 9-17.
- Marsh, J. & D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. lipid Res.* 7:574- 576.
- Merino, F., G. Montenegro., A. López & R. Ramos.2009.Revista de la Escuela de Biología en Acuicultura. 1(1):63-76.
- Miracle, M. & M. Serra. 1989. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia* 186/187: 81-102.

- Navarro, N. & M. Yúfera. 1998. Influence of the foodration and individual density on production efficiency of semicontinuous cultures of *Brachionus* fed microalgae dry powder. *Hydrobiologia*. 387/388:483-487.
- Ocampo, M.& J, Rodríguez, J. 2011.Efecto del extracto acuoso de valvas de “concha de abanico” *Argopecten purpuratus* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Navícula salinícola*, en condiciones de laboratorio, Tesis. Universidad Nacional del Santa - Nuevo Chimbote.p.23.
- Olivier, R.1965.Rotíferos plantónicos de Argentina con clave de las principales especies, datos biológicos y distribución geográfica. Revista del museo de la plata. Facultad de ciencias naturales y muese. Tomo VII.Zoología N°63.Universidad Nacional de la Plata. La Plata - República argentina.pp-193
- 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.
- Prieto, G & P, Espitia. 2001. Proporción óptima de alimento en el mantenimiento de la cepa del rotífero *Brachionus patulus* (Müller, 1786), bajo condiciones de laboratorio. MVZ-CÓRDOBA 2001; 6(1), 37-42.
- Prieto, G & P. Espitia. 2008. Zooplancton en La Larvicultura de Peces Neotropicales. Rev. MVZ Córdoba 13(2):1415-1425, 2008.
- Romero, T. & C. Otero. 2004. *Chlorella* sp. 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: 19 de marzo del 2012.

- Romero, T.; Y. Villarreal & M. Guerra. 2006. Determinación de condiciones óptimas de cultivo de *Brachionus plicatilis*: salinidad y aireación del medio. Bondades de *Chlorella sp.* 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: 19 de marzo del 2012.
- Rothaup, K.O. 1985. A model approach to the population dynamics of the rotifer *Brachionus rubens* in two stage chemostat culture. *Oecol.* 65:252-259.
- Sánchez, L. 2011. Alimento nutritivo, colorido y en movimiento: Los cultivos de apoyo en Acuicultura. *Ciencia y Mar* 2011, XV (43): 55-60
- Sánchez, T.; Juscamaita, M.; Vargas, C.& R. Oliveros. 2008. Producción de La Microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en Medios Enriquecidos con Ensilado Biológico de Pescado. *Ecol. apl.* Vol. 7(1,2), pp.149-158.
- Sarma, L. & S. Nandini. 2001. Efecto de tres tipos de alimentos en el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* (rotíferos: Brachionidae). *Revista de Biología Tropical* 49:1
- Snell, T.W. 1986. Effect of temperature, salinity and food level on sexual and asexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Mar. Biol.*92:157-162.

- Suchar, V. & P. Chigbu. 2006. The effects of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 337 (1):96-102.
- Treece, G. & A. Davis. 2000. Culture of Small Zooplankters for the Feeding of Larval Fish. Southern Regional Aquaculture Center.
- Torres, C.; Córdova, M.; Porchas, M.; Elías, L. & C. Porchas. 2012. Respuesta productiva de *Nannochloropsis oculata*, cultivada en diferentes medios y su eficiencia como alimento para el rotífero *Brachionus rotundiformis*. *Revista Internacional de Botánica Experimental*. México. 81:45-50pp.
- Yoshimura, K.; Hagiwara, A.; Yoshimatsu, T. & 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.
- Yoshinaga, T.; Hagiwara, A. & K. Tsukamoto. 2003. Life history response and age-specific tolerance to starvation in *Brachionus plicatilis* O.F. Muller (Rotifera). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 287:261-271.

# **ANEXO**

## VIII. ANEXOS

**Anexo 1.** pH promedio en todas las unidades experimentales durante el cultivo de *B. calyciflorus* con *Sc. acutus*.

Día	CONTROL		<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> )							
			5		10		15		20	
0	8,10	±0,10a	8,10	±0,17a	8,20	±0,26a	8,10	±0,20a	8,07	±0,15a
1	8,10	±0,20a	8,10	±0,10a	8,13	±0,15a	8,13	±0,06a	8,17	±0,25a
2	8,20	±0,10a	8,20	±0,00a	8,13	±0,12a	8,17	±0,06a	8,20	±0,10a
3	8,30	±0,10a	8,23	±0,06a	8,23	±0,06a	8,27	±0,06a	8,23	±0,06a
4	8,20	±0,10a	8,30	±0,10a	8,33	±0,06a	8,23	±0,06a	8,20	±0,10a
5	8,23	±0,06a	8,27	±0,06a	8,23	±0,06a	8,33	±0,12a	8,17	±0,06a
6	8,27	±0,12a	8,30	±0,10a	8,20	±0,10a	8,30	±0,10a	8,13	±0,15a

**Anexo 2.** Crecimiento poblacional ( $\times 10^4$  cél. mL<sup>-1</sup>) en todas las unidades experimentales durante el cultivo de *B. calyciflorus* con *Sc. acutus*.

Día	CONTROL			<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> )											
				5			10			15			20		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
1	8,0	11,0	9,0	7,0	9,0	8,0	11,0	11,0	10,0	13,0	16,0	13,0	10,0	9,0	11,0
2	12,0	14,0	13,0	11,0	14,0	13,0	12,0	12,0	14,0	16,0	19,0	22,0	16,0	15,0	13,0
3	18,0	19,0	22,0	14,0	18,0	15,0	26,0	28,0	22,0	56,0	49,0	61,0	36,0	32,0	31,0
4	24,0	20,0	27,0	18,0	21,0	20,0	34,0	29,0	32,0	84,0	72,0	93,0	58,0	45,0	56,0
5	29,0	30,0	32,0	35,0	39,0	34,0	73,0	76,0	68,0	119,0	129,0	105,0	88,0	79,0	81,0
6	40,0	43,0	39,0	46,0	50,0	50,0	85,0	87,0	83,0	127,0	127,0	111,0	93,0	89,0	101,0

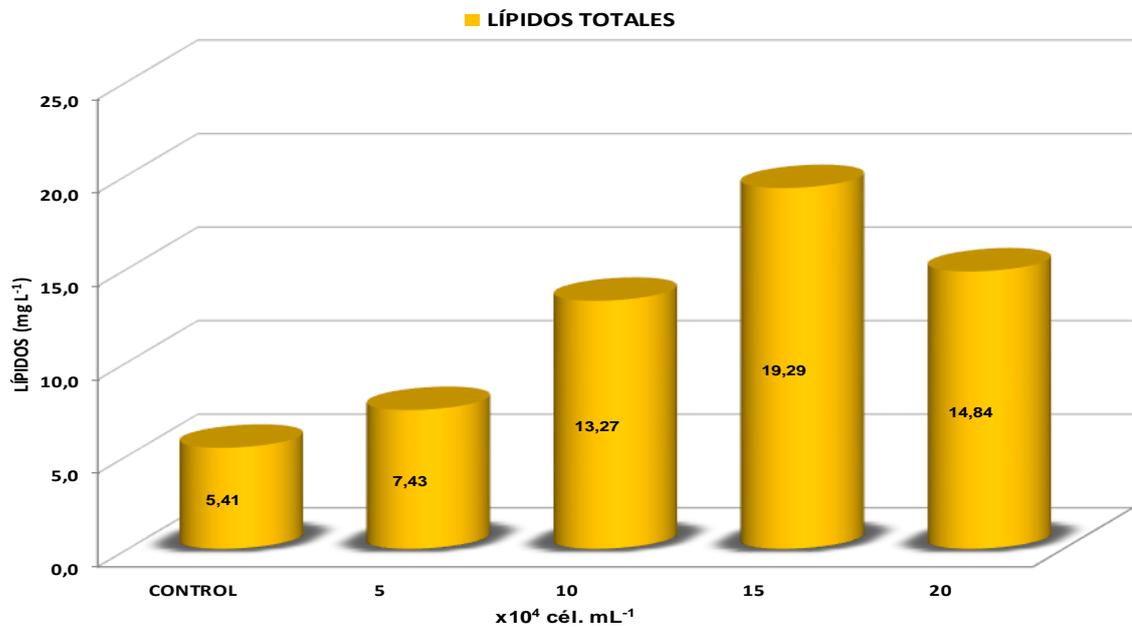
**Anexo 3.** Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación (TD) en todas las unidades experimentales durante el cultivo de *B. calyciflorus* con *Sc. acutus*.

PARÁMETRO	<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> )																	
	CONTROL			5			10			15			20					
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
N <sub>0</sub> (org. mL <sup>-1</sup> )	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	# 5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0		
N <sub>f</sub> (org. mL <sup>-1</sup> )	40,0	43,0	39,0	46,0	50,0	50,0	85,0	87,0	83,0	127,0	127,0	111,0	93,0	89,0	101,0			
$\Delta t$ (día)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
$\mu$ (día <sup>-1</sup> )	0,347	0,359	0,342	0,370	0,384	0,384	0,472	0,476	0,468	0,539	0,539	0,517	0,487	0,480	0,501			
TD (día)	2,000	1,933	2,025	1,874	1,806	1,806	1,468	1,456	1,480	1,286	1,286	1,342	1,423	1,444	1,384			

**Anexo 4.** Biomasa promedio de lípidos (mg L<sup>-1</sup>) en las unidades experimentales durante el cultivo de *B. calyciflorus* con *Sc. acutus*.

PARÁMETRO	<i>Sc. acutus</i> ( $\times 10^4$ cél. mL <sup>-1</sup> )																	
	CONTROL			5			10			15			20					
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Biomasa Muestra (mg)	2,29	2,46	2,23	2,61	2,84	2,84	4,88	4,99	4,76	7,34	7,34	6,42	5,40	5,17	5,87			
Biomasa Total (mg L <sup>-1</sup> )	22,92	24,64	22,35	26,08	28,35	28,35	48,79	49,94	47,64	73,41	73,41	64,16	54,03	51,71	58,68			
Absorbancia	0,153	0,171	0,153	0,203	0,228	0,226	0,372	0,381	0,418	0,586	0,613	0,505	0,454	0,409	0,447			
Lípidos (%)	22,70	23,62	23,31	26,42	27,27	27,03	25,90	25,94	29,83	27,12	28,37	26,72	28,56	26,88	25,87			
Lípidos (mg L <sup>-1</sup> )	5,20	5,82	5,21	6,89	7,73	7,66	12,64	12,95	14,21	19,91	20,83	17,15	15,43	13,90	15,18			

**Anexo 5.** Grafica de biomasa promedio de lípidos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) en los cultivos de *B. calyciflorus* al sexto día en los tratamientos.



Letras diferentes en los tratamientos indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

**Anexo 6.** Grafica de Curva de Calibración de lípidos ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

N	C. L.	A	B
0	0,000	0,000	0,000
16	0,050	0,210	0,174
17	0,100	0,426	0,386
18	0,150	0,711	0,643
19	0,200	0,923	0,871

