



## Evaluation of growth and bromatological composition of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed different native microalgae from the Gulf of California

## Evaluación del crecimiento y composición bromatológica del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con diferentes microalgas nativas del Golfo de California

Contreras-Sillero, M. E.<sup>1</sup>, Pacheco-Vega J. M.<sup>1\*</sup>, Cadena-Roa, M. A.<sup>2</sup>, Contreras-Chavarría, J. A.<sup>2</sup>, Rangel-Dávalos, C.<sup>2</sup>, Valdez-González, F. J.<sup>1</sup>, González-Hermoso, J. P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Baja California Sur, Carretera al Sur Km 5.5., Apartado Postal 19-B, C.P. 23080, La Paz, Baja California Sur, México.

Cite this paper/Como citar este artículo: Contreras-Sillero, M. E., Pacheco-Vega J. M., Cadena-Roa, M. A., Contreras-Chavarría, J. A., Rangel-Dávalos, C., Valdez-González, F. J., González-Hermoso, J. P. (2019). Evaluation of growth and bromatological composition of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed different native microalgae from the Gulf of California. *Revista Bio Ciencias* 6, e509. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.01.17>



### ABSTRACT

In aquaculture, producing the rotifer *Brachionus plicatilis* involves a continuous input of microalgae with specific requirements of culture variables. Thus, attempts are made to find new native microalgae strains that meet the nutritional needs of *B. plicatilis* and are adapted to the local environmental conditions. In our study we isolated and identified microalgae from Bahía de La Paz, B.C.S. and the Ahome estuary, Sinaloa, Mexico. Growth and bromatological composition of three *Chaetoceros* sp. (key number LPU-2, LPU-3, and LPU-4), *Synechococcus* sp. (key number LPU-10) and *Dicrateria* sp. (key number LPU-8) were evaluated, as well as their effect on growth and composition of the rotifer *B. plicatilis*. The microalga *Isochrysis galbana* was used as control.

Rotifers were assessed in 17 L units at 22 °C during 7 days. These organisms were fed on a daily basis

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: May 9<sup>th</sup> 2018

Accepted/Aceptado: December 10<sup>th</sup> 2018

Available on line/Publicado: March 22<sup>st</sup> 2019.

### RESUMEN

En la acuicultura, la producción de *Brachionus plicatilis* implica el abasto continuo de microalgas con requerimientos específicos de control de variables de cultivo, por ello se busca proponer nuevas cepas de microalgas nativas para alimentación de *Brachionus plicatilis* que cubran sus requerimientos nutricionales y estén adaptadas a condiciones ambientales locales. En este estudio se aislaron e identificaron especies de microalgas provenientes de la Bahía de La Paz, B.C.S. y estero de Ahome, Sinaloa, México. Tres *Chaetoceros* sp. (clave interna LPU-2, LPU-3, LPU-4), *Synechococcus* sp. (clave interna LPU-10) y *Dicrateria* sp. (clave interna LPU-8), además de *Isochrysis galbana* (control) de las cuales se evaluó su crecimiento, su composición bromatológica y su efecto en el crecimiento y composición en el rotífero *B. plicatilis*.

La evaluación en rotíferos se realizó en unidades de 17 L, a 22°C por 7 días. Los rotíferos fueron alimentados diariamente, obteniendo las mayores densidades de 48 rot. mL<sup>-1</sup> con *Chaetoceros* sp. LPU-2 y con la dieta

#### \*Corresponding Author:

Juan Manuel Pacheco Vega: Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, México  
Tel: 5 311 1898403. E-mail [pachecovjm@yahoo.com.mx](mailto:pachecovjm@yahoo.com.mx). <https://orcid.org/0000-0001-9443-6849>

and reached the highest densities (48 rot. mL<sup>-1</sup>) with *Chaetoceros* sp. LPU-2 and the control diet (*I. galbana*). The bromatological composition of rotifers was modified according to the microalga ingested, the highest lipid and protein concentrations were found with the following diets: *Chaetoceros* sp. LPU-2, *Dicrateria* sp. LPU-8, and *I. galbana*. Hence, the microalga *Chaetoceros* sp. LPU-2 is suggested for culture to feed *Brachionus plicatilis*.

---

## KEY WORDS

---

Endemic microalgae, *Brachionus plicatilis*, composition, live feeds.

---

### Introduction

Rotifers are part of the microzooplankton and due to their unique characteristics, these organisms have been widely employed as an essential source of feed for fish larvae (marine and fresh water) in aquaculture (Odo *et al.*, 2015). Two thousand rotifer species have been described, most of them belong to fresh water bodies and a lesser number to marine environments (Lubzens & Zmora, 2003). From the two most important marine rotifer species in mariculture, *Brachionus plicatilis* is the most frequently used to feed several fish and crustacean species (Rehberg-Haas *et al.*, 2015), the nutrients provided by the rotifer vary according to its diet. In addition, *B. plicatilis* is not difficult to digest and easily transfers nutrients (essential amino acids and long-chain fatty acids) to the organism that feeds on it, therefore, this species is largely employed in larviculture (Zhou *et al.*, 2009).

The mass production of rotifers in commercial laboratories demands high quantities of live feed (microalgae) with high nutritional value and physiological characteristics that enable its consumption by *B. plicatilis*. However, one of the main disadvantages of microalgae mass culture is the high production costs of using traditional microalgae (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella salina*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros muelleri*, and *Thalassiosira pseudonana*) (Wikfors & Ohno, 2001). These species must be cultured under very specific controlled parameters such as light (120-170  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), salinity (32-36 UPS), temperature (19-23°C), among others. Therefore, in order to reduce production costs, alternatives are pursued through the use of new native microalgae species that are adapted to the environment of the working area. Specially microalgae from tropical

control (*I. galbana*). La composición bromatológica de los rotíferos se vio modificada por las microalgas consumidas, encontrando las mayores concentraciones de lípidos y proteínas con la dieta con las microalgas *Chaetoceros* sp. LPU-2, *Dicrateria* sp. LPU-8 e *I. galbana*. Por lo anterior, se recomienda la microalga *Chaetoceros* sp. LPU-2 para su cultivo y alimentación de *Brachionus plicatilis*.

---

## PALABRAS CLAVE

---

Microalgas endémicas, *Brachionus plicatilis*, composición, alimento vivo.

---

### Introducción

Los rotíferos pertenecen al micro-zooplankton que han sido ampliamente usados como fuente esencial de alimento en la producción de larvas de peces de agua dulce y marinos por sus características únicas (Odo *et al.*, 2015). De las 2000 especies de rotíferos descritas, la mayoría pertenecen a agua dulce y la menor proporción son marinos (Lubzens & Zmora, 2003). De las dos principales especies de rotíferos marinos, el *Brachionus plicatilis* es el más usado en maricultura como alimento de diversos peces y crustáceos (Rehberg-Haas *et al.*, 2015), variando su aporte nutricional de acuerdo al alimento consumido. Adicionalmente, es una especie con alta facilidad para la transferencia de nutrientes (aminoácidos esenciales y ácidos grasos de cadena larga) al organismo que se alimenta con este y es fácil de digerir, por todo esto es de las especies más usadas en larvicultura (Zhou *et al.*, 2009).

La producción masiva de rotíferos en laboratorios comerciales demanda altas cantidades de alimento vivo (microalgas) de alto valor nutricional y con características fisiológicas que permitan su aprovechamiento por *B. plicatilis*. No obstante, una de las desventajas de la producción masiva de microalgas son los altos costos de producción que conlleva el abasto de las especies de microalgas tradicionales: *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella salina*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros muelleri* y *Thalassiosira pseudonana* (Wikfors & Ohno, 2001). El cultivo de las anteriores especies requieren de control de parámetros de cultivo muy específicos como: luz (120-170  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), salinidad (32-36 UPS), temperatura (19-23°C) entre otros. Es por ello, que se buscan alternativas para reducir los costos de producción mediante el uso de nuevas especies de microalgas nativas cuyos parámetros de cultivo se ajusten a los ambientes del área de trabajo y especialmente cepas aisladas de ambientes

and subtropical environments, given that these strains are exposed to raised levels of solar radiation and have evidenced high synthesis of antioxidants and an increased ability to transform solar light into lipids (Lim *et al.*, 2012). For a new microalgae strain to be considered live feed for rotifers, it must comprise the following characteristics: appropriate size, digestibility, planktonic habits and must be easy to culture. In addition, the biochemical composition must contain high concentration of proteins (essential amino acids), carbohydrates, and lipids (omega-3 fatty acids). It is important to note that microalgae are the source of two of the most difficult nutrients to synthesize, eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5n - 3) and docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n - 3) (Tacon & Metian, 2013).

Several species of microalgae have been used to feed *B. plicatilis*, however, this rotifer feeds on different items including several species of microalgae, bacteria, and bacteria flocculates, depending on the natural or culture environment, and feeding is limited to the size of crown and mouth respectively, thus, there are no specific microalgae species to feed *B. plicatilis* (Hino *et al.*, 1997).

Derived from the increased aquaculture activities and the need for alternative sources of lipids and proteins to feed larvae and other organisms, it is essential to suggest new microalgae species that substitute the costly traditional microalgae, mainly *Chaetoceros* spp. and *Isochrysis galbana*. This would require the isolation, characterization and assessment of microalgae strains to be used as live feed. In this study, we considered an important geographic area for aquaculture to collect microalgae. Four tropical strains were obtained and partially characterized, the nutritional input for the rotifer *Brachionus plicatilis* was evaluated in order to substitute traditional microalgae and minimize production costs.

## Materials and methods

### Microalgae isolation and purification

Seawater samples were collected at Playa Las Salinas (26° 4'13.58"N, 109°23'58.67"W), located in the northwestern portion of Ahome municipality in the state of Sinaloa, and at Bahía de La Paz (24°16'7.66"N, 110°19'29.53"W) in the state of

tropicales o sub-tropicales expuestas a altos niveles de radiación solar, que han mostrado alta síntesis de antioxidantes y alta habilidad para la transformación de luz solar a lípidos (Lim *et al.*, 2012). Un aspecto relevante al proponer nuevas especies de microalgas para alimento vivo de rotíferos, es que las células presenten características: tamaño adecuado, digestibilidad, presenten hábitos planctónicos y fácil cultivo. Adicionalmente, la composición bioquímica deben presentar una alta concentración y buena composición de proteínas (aminoácidos esenciales), carbohidratos y lípidos (ácidos grasos omega-3). De los anteriores nutrientes, los más importantes por la dificultad de sintetizar es el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5n - 3) y docosahexaenoico (DHA; 22:6n - 3), cuya fuente está dada por las microalgas (Tacon & Metian, 2013).

Muchas especies de microalgas han sido utilizadas para la alimentación de *Brachionus plicatilis*, sin embargo es necesario tomar en cuenta que la alimentación de este rotífero es diversa en su ambiente y únicamente está limitada por el tamaño de su corona y boca, por lo que no hay especies específicas de microalgas ya que además de microalgas, estos suelen consumir bacterias o flóculos de bacterias que suelen generarse en los cultivos (Hino *et al.*, 1997).

Derivado del aumento de las actividades acuícolas y la necesidad de fuentes alternativas de proteínas y lípidos para la alimentación de larvas y otros organismos, es necesario proponer nuevas especies que sustituyan a las tradicionales *Chaetoceros* spp. e *Isochrysis galbana* principalmente, esto implica aislar, caracterizar y evaluar las cepas de microalgas para su uso como alimento vivo. En este estudio se consideró como zona de muestreo para la obtención de cepas de microalgas, una región de alta importancia acuícola de la cual se obtuvieron 4 cepas de microalgas marinas adaptadas a las condiciones tropicales, que fueron caracterizadas parcialmente y evaluado su uso por su aporte nutricional para el rotífero *Brachionus plicatilis*, que permita sustituir las microalgas tradicionales y minimizar sus costos de producción.

## Material y métodos

### Aislamiento y purificación de microalgas

Fueron colectadas muestras de agua en La Playa Las Salinas (26° 4'13.58"N, 109°23'58.67"O), al Noroeste del municipio de Ahome en Sinaloa, y en la Bahía de La Paz (24°16'7.66"N, 110°19'29.53"O) México, a un metro de profundidad y de la columna de agua, ya que lo que se

Baja California Sur, Mexico. Sampling was performed to obtain plankton species at 1 m depths in the water column. Samples containing microalgae were transported to the Experimental Aquaculture Laboratory in Pichilingue unit of Universidad Autonoma de Baja California Sur (UABCS) located at kilometer 17 in the highway to Pichilingue, La Paz, B.C.S.

Samples were filtered on a WHATMAN® (1 µm) filter and rinsed with sterile seawater to reduce the presence of bacteria. Microalgae were sown into test tubes with sterile seawater and F/2 medium (Guillard, 1973) as nutrient source. Strains were isolated by different methods, such as serial dilutions and sowing in marine agar plates (DB-2216). Once mono-algal strains were obtained, 24 h baths were performed with antibiotic (gentamicin 240 mg 3 mL<sup>-1</sup>) at a concentration of 10 µL in 300 µL of culture. Microalgae were sown by streaking in marine agar medium plates to verify the absence of bacteria.

The isolated microalgae were measured and photographed with a microscope Nikon (Optiphot-2) and camera (Sight Ds-L1). These organisms were identified at the genus level according to the keys described by Tomas (1997) and O'sullivan & Reynolds (2004). The microalgae strains were cultured under controlled conditions of constant light (33.7 a µmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), continuous aeration, and average temperature of 22 ± 2°C. Taxa were morphologically identified as: *Chaetoceros* sp. (key number LPU-1), *Chaetoceros* sp. (key number LPU-3), *Synechococcus* sp. (key number LPU-10) and *Dicrateria* sp. (key number LPU-8).

Microalgae were grown in F/2 medium (Guillard, 1973) up to 17 L each. Growth curves were estimated at these volumes by daily counts using a Neubauer counting chamber. The cultures were semicontinuous with a daily renewal rate of 25 % of the culture volume. The harvested volume was used in the experimental treatments to feed *B. plicatilis* on a daily basis.

#### Evaluation of diet in *Brachionus plicatilis*

The assessment of live feed for *B. plicatilis* was performed in 19 L propylene containers. The

pretendía era obtener especies planctónicas. Las muestra de agua que contenían las microalgas fueron trasportadas al Laboratorio Experimental de Acuicultura Unidad Pichilingue.

Localizado en el kilómetro 17 de la carretera a Pichilingue en La Paz Baja California Sur; posteriormente las muestras se tamizaron con un filtro WHATMAN® (1 µm), después se realizó un lavado con agua marina estéril para disminuir la carga bacteriana que pudieran contener, una vez teniendo la muestra se resembraron en tubos de ensaye con agua marina estéril y medio F/2 (Guillard, 1973) como fuente de nutrientes. Las cepas se aislaron mediante el desarrollo de diferentes métodos, como diluciones seriadas y siembra en placa empleando medio en agar marino (DB-2216). Una vez obtenidas cepas unialgales se procedió a la aplicación de baños por 24 h con una solución a partir de antibiótico (Gentamicina 240 mg 3 mL<sup>-1</sup>), a concentraciones de 10 µL de antibiótico en 300 µL de cultivo, realizando posteriormente siembras estriadas en placa en medio agar marino para verificar la ausencia de bacterias. Para poder identificar las microalgas aisladas se tomaron mediciones y fotografías con ayuda de un microscopio Nikon (Optiphot-2) con cámara (Sight Ds-L1) e identificaron los géneros siguiendo las claves descritas en Tomas (1997) y O'sullivan & Reynolds (2004) obteniendo tres géneros de microalgas y una de cianobacterias procedentes de la boca del estero la Chicura, Ahome Sinaloa, y otra especie de microalga de Bahía de La Paz B.C.S. Posteriormente las cepas fueron cultivadas en condiciones controlada de iluminación constante (33.7 a µmol fotón m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), aireación continua, y temperatura promedio de 22 ± 2°C., las microalgas fueron medidas e identificadas morfológicamente como: *Chaetoceros* sp.(clave interna de laboratorio LPU-1), *Chaetoceros* sp. (clave interna LPU-3), *Synechococcus* sp. (clave interna LPU-10) y *Dicrateria* sp. (clave interna LPU-8).

Una vez identificadas las microalgas, se cultivaron en medio F/2 (Guillard, 1973) hasta con 17 L C/U, la curva de crecimiento se estimó en este volumen mediante conteos diarios con la ayuda de una cámara Neubauer. Los cultivos se mantuvieron de manera semicontinua con una tasa de dilución del 25 % por día, utilizando el volumen de cosecha para alimentación diaria de los tratamientos experimentales con *B. plicatilis*.

#### Evaluación de la dieta en *Brachionus plicatilis*

La evaluación del alimento vivo en *B. plicatilis* se realizó en garrafones de propileno de 19 L. Se inició a una

experiment started at a concentration of  $6.3 \pm 0.4$  rot mL<sup>-1</sup>. The wasted feed and rotifer concentration before feeding were recorded daily using a hemocytometer and Sedgewick-Rafter counting-slide, respectively. The concentration of feed for *B. plicatilis* was constant (80 000–100 000 cell mL<sup>-1</sup>) at all treatments. *Isochrysis galbana* (T-ISO) was used as control since it is one of the most commonly employed microalgae to feed *B. plicatilis* and was available in the strain collection of the Microalgae Laboratory of UABCS. Cultures were maintained in triplicate for seven days. After this period, the total of each microalga and rotifer culture was harvested by centrifugation at 4000 rpm for 30 min (IEC, model GP8R) and using a 40 µm mesh sieve, respectively. All harvests were rinsed with ammonium formate (5 %) to reduce salts. Samples were frozen at -40 °C and lyophilized for 48 h (Virtis Co, mod 12525) for bromatological analysis.

The bromatological composition of microalgae and rotifers was determined in triplicate employing spectrophotometric techniques (Beckman model DU® 640). Protein content was established according to the method suggested by Lowry *et al.* (1952), Lactalbumin (99 % pure) was employed to build the calibration curve. For total lipids, the method suggested by Bligh & Dyer (1959) was used, tripalmin (99 % pure) was employed to build the calibration curve. Ashes were determined by calcination at 480°C for 24 h in a Thermolyne muffle. Weight comparisons were performed to establish ashes content.

### Statistical analyses

Percentage data of the bromatological components (proteins, carbohydrates, and lipids) of microalgae and rotifers fed different diets were transformed (arcsin) for normalization. A one-way (ANOVA) was conducted to determine statistical differences among treatments. A Tukey's test was employed for statistical comparisons among treatments. All statistical analyses were performed in STATISTICA 7 software.

concentración de  $6.3 \pm 0.4$  rot mL<sup>-1</sup>, evaluando diariamente el alimento residual y concentración de los rotíferos antes de su alimentación con ayuda de un hematocitómetro y con una cámara Reuter respectivamente. La concentración de alimento para *B. plicatilis* fue la misma en todos los tratamientos, manteniendo una concentración algal constante de 80 000–100 000 células mL<sup>-1</sup>. Se utilizó la microalga *Isochrysis galbana* (T-ISO) como alimento control debido a que es una de las especies de mayor uso en alimentación de *B. plicatilis*, y que forma parte del cepario del laboratorio de microalgas de la UABCS. Los cultivos se mantuvieron por triplicado durante siete días, posteriormente se cosecharon en su totalidad, tanto el cultivo de las microalgas como el cultivo de los rotíferos, para esto se utilizó un tamiz de luz de malla de 40 µm para el caso de los rotíferos y mediante centrifugación a 4000 rpm por 30 min (IEC, modelo GP8R) para las microalgas, finalmente en ambos casos se realizó un lavado con una solución de formiato de amonio al 5 % para reducir las sales. Una vez obtenido el concentrado de microalgas y rotíferos, las muestras fueron congeladas a -40 °C y se liofilizaron por 48 h (Virtis Co, mod 12525) para su posterior análisis bromatológico.

La composición bromatológica en microalgas y rotíferos fue determinada por triplicado siguiendo técnicas espectrofotométricas (Beckman modelo DU® 640). El contenido de proteínas fue determinado con el método de Lowry *et al.* (1952), se utilizó albumina (99 % de pureza) de leche para realizar la curva de calibración. Para la determinación de carbohidratos se siguió el método de White (1987) y se utilizó glucosa anhidrica (99 % de pureza) para la curva de calibración. La terminación de lípidos totales se realizó mediante el método de Bligh & Dyer (1959) y se utilizó tripalmina (99 % de pureza) para la elaboración de la curva de calibración. Para la determinación de cenizas se utilizó el método de calcinación a 480°C por 24 horas con la mufla marca Thermolyne y por diferencia de pesos se terminó el contenido de cenizas.

### Análisis estadístico

Los datos de los porcentajes obtenidos en los constituyentes bromatológicos: proteínas, carbohidratos y lípidos en microalgas, y rotíferos alimentados con las diferentes dietas, fueron transformados a valores angulares (ángulo = arco seno) para acercar los datos a la distribución normal. Para determinar diferencias significativas en los constituyentes bromatológicos, se realizaron pruebas de análisis de varianza de una vía (ANOVA), posteriormente se realizó una prueba Tukey que permitiera establecer las comparaciones estadísticas entre los tratamientos. Para estos análisis estadísticos se utilizó el programa STATISTICA 7.

## Results and Discussion

In this research we isolated local microalgae from Bahía de La Paz and Sinaloa, the weather in this geographic area varies considerably, water temperature ranges 21-31°C throughout the year (Castro *et al.*, 2000). This environmental variation requires microalgae to adapt and/or produce biochemical compounds that guarantee their survival (Duong *et al.*, 2015). The population growth of the different microalgae isolated in our study evidences that these species adapt to culture under laboratory conditions for mass production (Figure 1). Despite the fact that in this research microalgae were not cultured outdoors, according to Pacheco-Vega *et al.* (2015), tropical endemic microalgae present a wide plasticity that enables them to respond to variations caused by external factors during culture, favoring the mass production of microalgae.

Each microalga species follows a specific pattern of standard growth (Huesemann *et al.*, 2016), thus, our results indicate that the differences found are due to the presence of different taxa. The population growth among species exhibited the different phases and periods for each microalga; in addition, the maximum densities for each group were observed, *Synechococcus* sp. and *Dicrateria* sp. presented the highest cell densities with 50 240 000 cell mL<sup>-1</sup> and 10 231 250 cell mL<sup>-1</sup>, respectively.

Most microalgae strains can successfully grow under laboratory conditions; however, optimal growth may vary according to each strain. Therefore, performing a single culture method might not ensure good growth in all of the strains due to the varied requirements of light, temperature, nutrients, and other water conditions among species (Huesemann *et al.*, 2016). In figure 1-A it is shown that the cyanobacteria *Synechococcus* sp. reached a higher cell density than microalgae, this is because the growth rate in cyanobacteria is higher than in microalgae (Sánchez-Alejandro and Sánchez-Saavedra 2015). Rosales-Loaiza *et al.* (2008) reported densities up to 406.13 X 10<sup>6</sup> ± 21.74 at 27 °C, while in our study, the maximum density was 56.54 x 10<sup>6</sup>, this divergence

## Resultados y Discusión

El clima en donde se aislaron las microalgas locales en la bahía de La Paz y Sinaloa es cambiante pues llega a presentarse temperaturas en el agua de 21-31°C a lo largo del año (Castro *et al.*, 2000), por lo que dichos cambios requieren que las microalgas se adapten y/o produzcan más productos bioquímicos para asegurar su supervivencia (Duong *et al.*, 2015). En la Figura 1 se observa el crecimiento poblacional de las especies de microalgas de reciente aislamiento, mostrando que son capaces de adaptarse al cultivo en laboratorio para su producción masiva. Aunque en este trabajo los cultivos de las microalgas no se realizaron al exterior, de acuerdo a trabajos previos (Pacheco-Vega *et al.*, 2015), se ha visto que especies de microalgas de ambientes tropicales de origen endémico, generalmente cuentan con esta plasticidad a variaciones de factores externos de cultivo, siendo favorable para la producción masiva de cultivos microalgales.

Cada especie de microalga tiene un característico patrón de crecimiento estándar (Huesemann *et al.*, 2016) por lo que los resultados mostrados en este estudio evidencian esas diferencias por pertenecer a especies diferentes. El crecimiento poblacional en las diferentes especies además de mostrar las fases poblacionales y su duración, mostraron las densidades máximas alcanzadas, siendo en *Synechococcus* sp. y *Dicrateria* sp. donde se registraron las mayores densidades celulares 50 240 000 células mL<sup>-1</sup> y 10 231 250 células mL<sup>-1</sup> respectivamente.

Aunque la mayoría de las cepas microalgales pueda crecer de manera satisfactoria en condiciones de laboratorio, cada una de ellas puede presentar diferentes condiciones óptimas de crecimiento, por lo que con una sola condición de cultivo para todas ellas no se asegura que presenten un crecimiento satisfactorio en todos los cultivos, debido a lo ya mencionado y a que algunas especies pueden presentar fluctuaciones en los requerimientos de luz, temperatura, nutrientes y otras condiciones del agua (Huesemann *et al.*, 2016). En la figura 1-A se observa que la cianobacteria *Synechococcus* sp. alcanza mayor densidad celular que las microalgas, esto debido a que generalmente las cianobacterias suelen presentar una mayor tasa de crecimiento que las microalgas (Sánchez-Alejandro & Sánchez-Saavedra 2015), para la cual Rosales-Loaiza *et al.*, (2008) reportan densidades de hasta 406.13 X 10<sup>6</sup> ± 21.74 a temperatura de 27 °C, mientras que en este trabajo se reporta una densidad máxima de 56.54 x 10<sup>6</sup>, atribuyéndose esta diferencia a las condiciones de cultivo, principalmente a que la temperatura del agua registrada en el cuerpo de agua donde

is explained by differences in the culture conditions employed in both researches, mainly temperature (26.5 °C and 23°C, respectively). In addition, microalgal growth is influenced by variations of organic nutrients and this is reflected in the bromatological composition of microalgae (Prieto *et al.*, 2005). *Synechococcus* sp. and *Dicrateria* sp. are small sized-cells, hence these microorganisms reproduce faster than larger cells, such as *Chaetoceros* sp. in this study, which reached exponential stage at day two with a density of  $5 \times 10^6$  cell mL<sup>-1</sup>. Similar values were revealed by Rosales-Loaiza *et al.* (2012) in a semicontinuous culture of *Chaetoceros* sp., with a maximum density of  $6.1 \times 10^6$  cell mL<sup>-1</sup>, growth stages were also coincident with our research.

se extrajo, ya que era de 26.5 °C y en este estudio se evaluó en el laboratorio a 23°C. Adicionalmente, se ha demostrado que el crecimiento de las microalgas se ve influenciado por la presencia de diferentes nutrientes orgánicos y si estos llegaran a modificarse, habría una variación en la composición bromatológica de las microalgas (Prieto *et al.*, 2005). Hay que mencionar que tanto *Synechococcus* sp. y *Dicrateria* sp. al ser células de menor tamaño, se reproducen a mayor velocidad que las células o en este caso de las microalgas del genero *Chaetoceros* sp; que alcanzaron su etapa exponenciales en el segundo día y con densidades de  $5 \times 10^6$  cél mL<sup>-1</sup>, lo que coincide con lo reportado por Rosales-Loaiza *et al.* (2012) en un cultivo semi-continuo de *Chaetoceros* sp. que obtuvieron una densidad máxima de  $6.1 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> con semejanza en las etapas de crecimiento poblacional a lo aquí reportado.

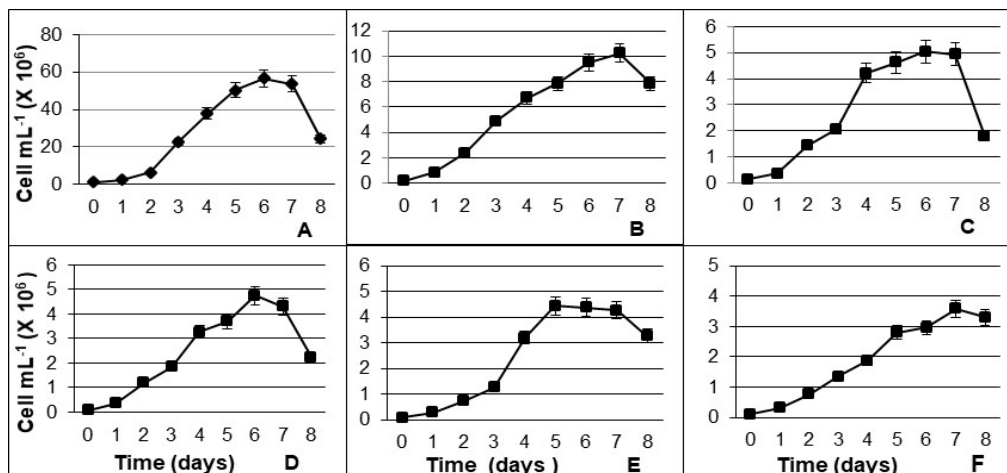


Figure 1. Growth of microalgae under controlled laboratory conditions. A) *Synechococcus* sp. (LPU-10), B) *Dicrateria* sp. (LPU-8), C) *Chaetoceros* sp. (LPU-2), D) *Chaetoceros* sp. (LPU-3), E) *Chaetoceros* sp. (LPU-4), and F) *Isochrysis galbana*. Data are mean  $\pm$  SDs.

Figura 1. Crecimiento de las microalgas bajo condiciones controladas de laboratorio. A) *Synechococcus* sp. (LPU-10), B) *Dicrateria* sp. (LPU-8), C) *Chaetoceros* sp. (LPU-2), D) *Chaetoceros* sp. (LPU-3), E) *Chaetoceros* sp. (LPU-4) and F) *Isochrysis galbana*. Los resultados representan la media  $\pm$  SDs.

With regard to population growth of the rotifer *B. plicatilis* in this study, the best diets ( $p > 0.05$ ) were *Chaetoceros* sp. (LPU-2) and control (Figure 2), followed by *Chaetoceros* sp. (LPU-3). The least favorable diets were *Chaetoceros* sp. (LPU-4), *Synechococcus* sp. (LPU-10) and *Dicrateria* sp. (LPU-8) (Figure 2).

Los resultados de crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus plicatilis* mostraron que las mejores ( $p > 0.05$ ) dietas para la alimentación fueron con *Chaetoceros* sp. (LPU-2) y seguido de *Chaetoceros* sp. (LPU-3). Las dietas menos favorables fueron con *Chaetoceros* sp. (LPU-4), *Synechococcus* sp. (LPU-10) y *Dicrateria* sp. (LPU-8) (Figura 2).

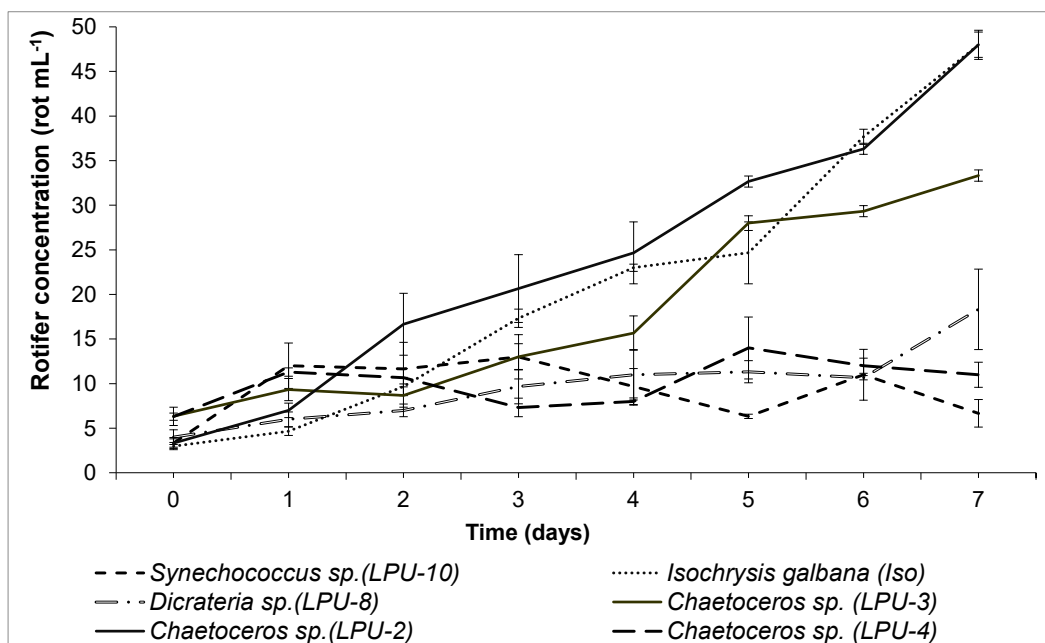


Figure 2. Population growth of the rotifer *B. plicatilis* fed different diets of microalgae. Data are mean  $\pm$  SDs.

Figura 2. Crecimiento poblacional de rotíferos *B. plicatilis* alimentados con diferentes dietas de microalgas. Los resultados representan la media  $\pm$  SDs.

Before choosing a diet for a given organism, the nutritional requirements of that particular species must be considered, in this case, *B. plicatilis* presents general nutritional requirements of proteins, lipids, and carbohydrates in a specific microalgal size. Abou-Shanab *et al.* (2016) noted that species of the genus *Brachionus* are filter feeders that select the particles to be ingested. Hotos (2002) evidenced the selective capacity of *B. plicatilis* for feeding, the author compared several microalgae as feed and found that the rotifer preferred the microalga *Asteromonas gracilis* ranging 20-25  $\mu$ m. In this study, LPU-2, with which *B. plicatilis* presented the best population growth, was smaller (5.1-5.7  $\mu$ m) than the size reported by Hotos (2002). In addition to good particle size, in this research, similar bromatological compounds were detected between *Chaetoceros sp.* (LPU-2) and *I. galbana*, which confirms the relevance of *Chaetoceros sp.* (LPU-2) as feed for *B. plicatilis*.

Al elegir un alimento se deben considerar las necesidades de la especie a alimentar, en este caso *B. plicatilis* tiene requerimientos nutricionales generales de proteínas, lípidos y carbohidratos de tamaño de apropiado de la microalga. Abou-Shanab *et al.*, (2016) menciona que los integrantes del género *Brachionus* como filtrador puede ser selectivo con las partículas ingeridas. Adicionalmente, Hotos (2002) muestra la capacidad para la selectividad de alimento en *B. plicatilis* al ser alimentado con varias mezclas de microalgas, encontrando una preferencias de por la microalga *Asteromonas gracilis*, con tamaños de partículas de 20-25  $\mu$ m. En este trabajo la microalga con clave LPU-2 con la que se obtuvo mejor crecimiento poblacional el rotífero *B. plicatilis*, presentó un tamaño de 5.1 – 5.7  $\mu$ m, siendo menor a lo reportando por Hotos (2002). Sin embargo, en nuestro trabajo además del tamaño de las células, podemos observar la similitud de algunos constituyentes bromatológicos que se asemejan a los encontrados en *I. galbana* y fue por esto que se obtuvieran resultados semejantes con esta dieta control, por lo que además del tamaño del alimento, resulta relevante la composición bromatológica del mismo.



### Bromatological composition of microalgae and rotifers

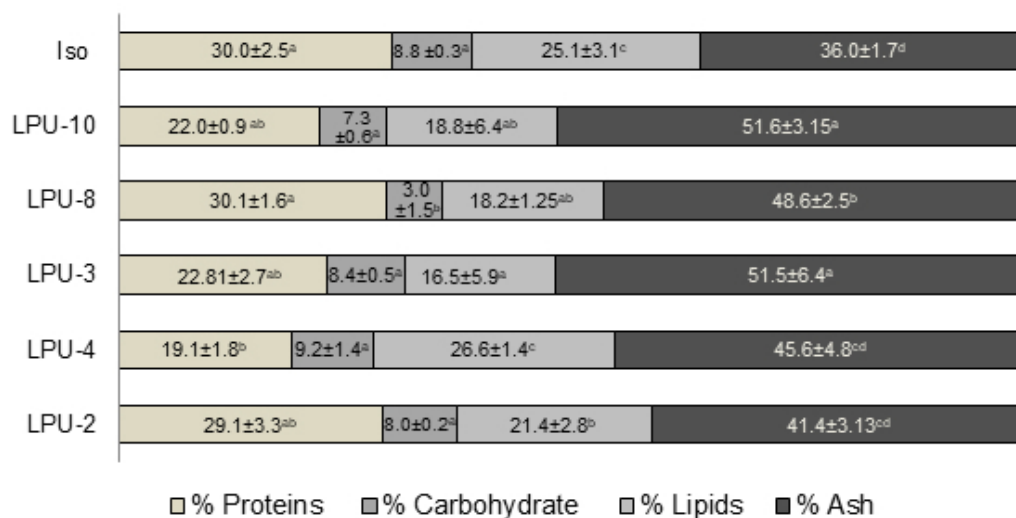
In order to be considered as good quality feeds, the microalgae employed in aquaculture must present favorable chemical composition, size, acceptability, and digestibility, as well as being manageable under culture conditions. The bromatological composition of the microalgae evaluated in this study varied ( $p>0.05$ ) according to each genus (Figure 3). Among the bromatological constituents, proteins were found in a larger proportion. *Chaetoceros* sp. (LPU-2) was statistically similar to *I. galbana* with an average protein content of 31.7 % and 31.8 %, respectively. These percentages are relatively consistent with what was detected by Jamali *et al.* (2015) for *Chaetoceros muelleri* (39.8 %) and *I. galbana* (30.3 %), the slight differences are explained by particularities in age and conditions of each culture. The concentrations of these constituents enhanced the population growth of *B. plicatilis*.

The carbohydrate concentration was similar between the control (*I. galbana*) and *Chaetoceros* sp. (LPU-2), although the highest values were obtained with the cyanobacteria *Synechococcus* sp. (LPU-10), averaging 35 %, which is concordant with Brown *et al.* (1997), who noted that chlorophytes are carbohydrate-rich microalgae. As mentioned earlier, the composition of microalgae is important for rotifer feeding, especially the protein: carbohydrate proportion, one example is the rotifer *Brachionus manjavacas* that was fed microalgae with high content of protein and low content of carbohydrates, the life period and reproduction of the rotifer increased (Snell, 2014). In the results of our study, the highest protein: carbohydrate proportions were detected in diets *Chaetoceros* sp. (LPU-2) and *I. galbana* (control), therefore, the highest population growth for *B. plicatilis* were found with these diets.

### Composición bromatológica de microalgas y rotíferos

Las microalgas utilizadas para alimento acuícola deben tener una adecuada composición química, tamaño, aceptabilidad y digestibilidad para ser consideradas de buena calidad alimenticia, paralelamente las diferentes especies deben tener facilidad de manejo bajo condiciones de cultivo. La composición bromatológica de las microalgas evaluadas fue diferente ( $p>0.05$ ), variando sus constituyentes en función del género de microalga (Figura 3). Dentro de los constituyentes bromatológicos, el contenido de proteínas en microalgas fueron las que representaron la mayor proporción, siendo en la *Chaetoceros* sp. (LPU-2) estadísticamente similar a *I. galbana*, con un promedio de 31.7 % y 31.8 % respectivamente. Estos porcentajes son cercanos a los reportados por Jamali *et al.* (2015) con concentraciones de proteína de 39.8 % en *Chaetoceros muelleri* y de 30.3 % en *I. galbana*, pudiendo tener variaciones de estos constituyentes en función de las condiciones y edad del cultivo. Las concentraciones de esos constituyentes favorecieron el crecimiento poblacional del rotífero *B. plicatilis*.

La concentración de carbohidratos en las microalgas mostró similitud entre la microalga control (*I. galbana*) y la microalga *Chaetoceros* sp.-LPU-2, sin embargo la mayor concentración de carbohidratos se obtuvo en la cianobacterias *Synechococcus* sp. (LPU-10) con un promedio de 35 %, esto coincide con lo reportado por Brown *et al.*, (1997) quien menciona que en microalgas las clorofitas son ricas en carbohidratos. En la alimentación de los rotíferos, es importante la composición de estos constituyentes alimenticios (microalgas) y especialmente la proporción proteína:carbohidratos, ya que se ha encontrado que entre mayor sea esta (alto contenido de proteína y bajo porcentaje de carbohidratos), se logra extender el periodo de vida en el rotífero *Brachionus manjavacas* (Snell, 2014), incrementándose las reproducciones en rotíferos. En los resultados aquí obtenidos, las mayores proporciones proteínas:carbohidratos se presentaron en las dietas con *Chaetoceros* sp. (LPU-2) e *I. galbana* (control), razón por lo cual se le atribuye las más altas poblaciones de *B. plicatilis* con estas dietas.



**Figure 3. Bromatological composition of different microalgae: *Isochrysis galbana* (Iso), *Synechococcus* sp. (LPU-10), *Dicrateria* sp. (LPU-8), *Chaetoceros* sp. (LPU-2), *Chaetoceros* sp. (LPU-4), *Chaetoceros* sp. (LPU-3). Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's test). Data are mean±SDs.**

**Figura 3. Composición bromatológica de diferentes microalgas: *Isochrysis galbana* (Iso), *Synechococcus* sp. (LPU-10), *Dicrateria* sp. (LPU-8), *Chaetoceros* sp. (LPU-2), *Chaetoceros* sp. (LPU-4), *Chaetoceros* sp. (LPU-3). Letras diferentes en los renglones representan diferencias significativas (prueba de Tukey). Los resultados representan la media ±SDs.**

The ash content varied among species. *Chaetoceros* spp. (LPU-2, LPU-3, and LPU-4) are diatoms, and given their frustules made of silica, these microalgae presented the greatest quantity of ashes. In concordance with Martínez-Córdova *et al.* (2012), who found ash concentrations ranging 34-46 % for *C. muelleri*, our results ranged 34-42.3 %.

Lipids act directly on rotifer development, hence, lipid deficiencies during culture may cause problems in reproductive processes, loss of vision, anemia and mortality, mainly derived from a decrease in the performance of phospholipids within the central nervous system and brain (Glencross, 2009). Therefore, in addition to high protein content, an increased lipid concentration is required for feeds and rotifers cultured in the laboratory. The content of lipids, proteins and carbohydrates in *B. plicatilis* is directly influenced by ingested feed (Cabrera *et al.*, 2005). This statement is consistent with the results obtained in this study, the maximum lipid value recorded for *B. plicatilis* was 26

El contenido de cenizas de microalgas varió entre especies, estos resultados reafirman que las *Chaetoceros* spp. (LPU-2, LPU-3 y LPU-4) al ser diatomeas, resentan mayor cantidad de cenizas debido a su esqueleto de sílice que presentan este género, coincidiendo con lo reportado por Martínez-Córdova *et al.* (2012), quienes reportan para la microalga *Chaetoceros muelleri* concentraciones de cenizas entre un 34 hasta un 46 %, mientras que en este trabajo se obtuvieron para este mismo género concentraciones de 34 a 42.3 %.

Los lípidos tienen función específica en el desarrollo de los rotíferos, deficiencias de estos puede ocasionar problemas en los procesos reproductivos, disminución de visión, anemia y mortalidad durante su cultivo, principalmente derivado de disminución de las funciones de fosfolípidos en el sistema nervioso central y en el cerebro (Glencross, 2009). Por estas razones, se busca que tanto el alimento suministrado como los rotíferos cultivados en laboratorio, además del contenido de proteínas contengan alta concentración de lípidos. En resumen, este contenido lipídico, proteínas y carbohidratos en *B. plicatilis* está influenciado directamente por el alimento consumido (Cabrera *et al.*, 2005). Esto coincide con los resultados obtenidos en este estudio, en donde se muestra que la máxima cantidad

% when fed *Chaetoceros* sp. (LPU-3), which was one of the diatoms with greatest lipid content (Figure 4). In addition, our result is concordant with the value reported by Campaña-Torres *et al.* (2012) for *B. rotundiformis* (21 % lipid content) fed *Nannochloropsis oculata*. Moreover, Melo Costa *et al.* (2009) used *C. calcitrans* to feed *B. plicatilis* and the population growth of the rotifer was equivalent to the values obtained at day 7 in the present study. This is attributed to the fact that the protein and lipid content is similar between *Chaetoceros* sp. (LPU-2) and *C. calcitrans*, these characteristics are essential components of structural functions within cells, nutrient transport, among others; otherwise a low content of lipids would hinder the population density due to a decrease in the hatching rate.

de lípidos registrada en *B. plicatilis* fue de 26 %, usando como alimento la diatomea *Chaetoceros* sp. (LPU-3) que también es una de las diatomeas que mayor cantidad de lípidos presentó (Figura 4). Estos resultados son muy próximos a los reportados por Campaña-Torres *et al.* (2012) con *B. rotundiformis* con un 21 % de lípidos alimentados con *Nannochloropsis oculata*. Por otra parte, resultados obtenidos por Melo Costa *et al.* (2009) con una dieta de *Chaetoceros calcitrans* para *B. plicatilis* mostraron un crecimiento poblacional similar a los reportados en este trabajo (día 7 de cultivo). Esto se le atribuye a que la microalga *Chaetoceros* sp. (LPU-2) presenta similitudes a *C. calcitrans* en contenido de proteínas y lípidos, ya que un alimento algal con bajo contenido de lípidos impediría un aumento en la densidad poblacional de los rotíferos debido a la disminución de su tasa eclosión, siendo constituyentes esenciales en funciones estructurales de las células, transporte de nutrientes, entre otras funciones.

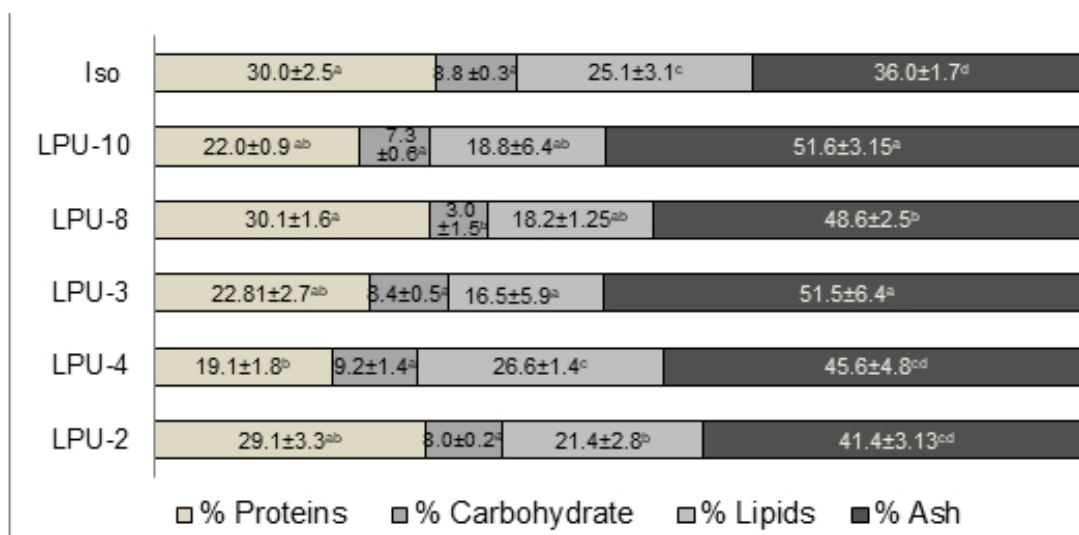


Figure 4. Bromatological composition in the rotifer *B. plicatilis* fed during 8 days with different microalgae: *Isochrysis galbana* (Iso), *Synechococcus* sp. (LPU-10), *Dicrateria* sp. (LPU-8), *Chaetoceros* sp. (LPU-2), *Chaetoceros* sp. (LPU-4), *Chaetoceros* sp. (LPU-3). Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's test). Data are mean±SDs.

Figura 4. Composición bromatológica en rotíferos *B. plicatilis* alimentados por 8 días con diferentes microalgas: *Isochrysis galbana* (Iso), *Synechococcus* sp. (LPU-10), *Dicrateria* sp. (LPU-8), *Chaetoceros* sp. (LPU-2), *Chaetoceros* sp. (LPU-4), *Chaetoceros* sp. (LPU-3). Letras diferentes en los renglones representan diferencias significativas (prueba de Tukey). Los resultados representan la media ±SDs.

## Conclusions

The microalgae and cyanobacteria isolated from Ahome, Sinaloa and Bahía de La Paz, B.C.S., and identified as *Synechococcus* sp. (LPU-10), *Dicrateria* sp. (LPU-8), *Chaetoceros* sp. (LPU-2), *Chaetoceros* sp. (LPU-4) and *Chaetoceros* sp. (LPU-3) are feasible for management and culture under laboratory conditions. In addition, the composition of *B. plicatilis* varies according to each microalga. *Chaetoceros* sp. (LPU-2) presents the highest protein content, and similar to the control diet (*Isochrysis galbana*), the population growth of *B. plicatilis* is 48 rotifers mL<sup>-1</sup> at day 7 when fed this microalga. Hence, *Chaetoceros* sp. (LPU-2) is suggested for culture to feed *Brachionus plicatilis*.

## Conclusiones

Las microalgas y una cianobacteria aislada de Ahome Sin. y la Bahía de La Paz, BCS., e identificadas como: *Synechococcus* sp. (LPU-10), *Dicrateria* sp. (LPU-8), *Chaetoceros* sp. (LPU-2), *Chaetoceros* sp. (LPU-4) y *Chaetoceros* sp. (LPU-3) presentan facilidad de manejo y cultivo en laboratorio. Adicionalmente, la composición de *B. plicatilis* puede variar de la misma forma al ser alimentadas con estas diferentes microalgas, de las cuales la microalga *Chaetoceros* sp. (LPU-2) es la que además de presentar un mayor contenido de proteína, logra un crecimiento poblacional de 48 rotíferos mL<sup>-1</sup> de *B. plicatilis* en 7 días de cultivo, similar a la dieta control con *Isochrysis galbana*. Por lo anterior, se recomienda la microalga *Chaetoceros* sp. (LPU-2) para su cultivo y alimentación de *Brachionus plicatilis*.

## References

- Abou-Shanab, R. A., Singh, M., Rivera-Cruz, A., Power, G., Bagby-Moon, T. and Das, K. (2016). Effect of *Brachionus rubens* on the growth characteristics of various species of microalgae. *Electronic Journal of Biotechnology*, 19(4): 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.06.005>
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W. J., Volkman, K. and Dunstan, G. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151(1-4): 315-331. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01501-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01501-3)
- Cabrera, T., Hee Bae, J., Sungchul, C. and Sung Bumm, H. (2005). Effects of microalgae and salinity on the growth of three types of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Ficheries Science and Tecnology*, 8(2): 70-75. <https://doi.org/10.5657/fas.2005.8.2.070>
- Campaña-Torres, A., Martínez-Córdova, L. R., Martínez-Porchas, M., López-Elías, J. A. and Porchas-Cornejo, M. A. (2012). Productive response of *Nannochloropsis oculata*, cultured in different media and their efficiency as food for the rotifer *Brachionus rotundiformis*. *International Journal of Experimental Botany*, 81: 45-50. <http://www.scielo.org.ar/img/revistas/phyton/v81n1/html/v81n1a07.htm>
- Castro, R., Mascarenhas, A. S., Durazo, R. and Collins, C. A. (2000). Variación estacional de la temperatura y salinidad en la entrada del Golfo de California, México. *Ciencias Marinas*, 26(4): 561-583 <https://www.redalyc.org/html/480/48002602/>
- Duong, V. T., Thomas-Hall, S. R. and Schenk, P. M. (2015). Growth and lipid accumulation of microalgae from fluctuating brackish and sea water locations in South East Queensland—Australia. *Frontiers in plant science*, 6 (May), 359. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00359>
- Glencross, B. D. (2009). Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Review Aquaculture*, 1: 71-124. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1753-5131.2009.01006.x>
- Guillard, R. (1973). Methods for microflagellates and nanoplankton. *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements*, Cambridge University Press, Cambridge 69-85.
- Hino, A., Aoki, S. and Ushiro, M. (1997). Nitrogen-flow in the rotifer *Brachionus rotundiformis* and its significance in mass cultures. *Hydrobiologia*, 358(1-3): 77-82. <https://doi.org/10.1023/A:1003128305910>
- Hotos, G. H. (2002). Selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed mixtures of algal species with various cell volumes and cell densities. *Aquaculture Research*, Vol, 33 12, 949-957. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00746.x>

- Huesemann, M., Crowe, B., Waller, P., Chavis, A., Hobbs, S., Edmundson, S. and Wigmosta, M. (2016). A validated model to predict microalgae growth in outdoor pond cultures subjected to fluctuating light intensities and water temperatures. *Algal Research*, 13: 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.11.008>
- Jamali, H., Ahmadifard, N. and Abdollahi, D. (2015). Evaluation of growth, survival and body composition of larval white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed the combination of three types of algae. *International Aquatic Research*, 7(2): 115-122. <https://doi.org/10.1007/s40071-015-0095-9>
- Lim, D. K., Garg, S., Timmins, M., Zhang, E. S., Thomas-Hall, S. R., Schuhmann, H. and Schenk, P. M. (2012). Isolation and evaluation of oil-producing microalgae from subtropical coastal and brackish waters. *Artículo de investigación*, 7(7): e40751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040751>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1): 265-275. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19511404458>
- Lubzens, E. & Zmora, O. (2003). Production and nutritional value of rotifers. In: Stottrup, J. G., L. A. McEvoy (Eds.), *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell Scientific Publications Ltd, Oxford, pp. 17–64. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=nZodkTLNOPsC&oi=fnd&pg=PA17&dq=Production+and+nutritional+value+of+rotifers.+In:+Stottrup,+J.+G.,+L.+A.+McEvoy+\(Eds.\),+Live+Feeds+in+Marine+Aquaculture&ots=TirJHwdkiP&ig=KCG9Uca4akGISzeVEmlstH1ZXk#v=onepage&q=Production%20and%20nutritional%20value%20of%20rotifers.%20In%3A%20Stottrup%2C%20J.%20G.%2C%20L.%20A.%20McEvoy%20\(Eds.\)%2C%20Live%20Feeds%20in%20Marine%20Aquaculture&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=nZodkTLNOPsC&oi=fnd&pg=PA17&dq=Production+and+nutritional+value+of+rotifers.+In:+Stottrup,+J.+G.,+L.+A.+McEvoy+(Eds.),+Live+Feeds+in+Marine+Aquaculture&ots=TirJHwdkiP&ig=KCG9Uca4akGISzeVEmlstH1ZXk#v=onepage&q=Production%20and%20nutritional%20value%20of%20rotifers.%20In%3A%20Stottrup%2C%20J.%20G.%2C%20L.%20A.%20McEvoy%20(Eds.)%2C%20Live%20Feeds%20in%20Marine%20Aquaculture&f=false)
- Martínez-Córdova, L. R., Campana-Torres, A., Martínez-Porchas, M., López-Elias, J. A. and García-Sifuentes, C. O. (2012). Effect of alternative mediums on production and proximate composition of the microalgae *Chaetoceros muelleri* as food in culture of the copepod *Acartia* sp. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(1): 169–76. <http://www.org/10.3856/vol40-issue1-fulltext-16>
- Melo Costa, W., de Albuquerque, J. C. C., Figueiredo, M. B., Cavalcanti, A. M. A., da Silva, G. A. D. B., Gálvez, A. O. and de Oliveira, I. B. (2009). Cultivo de rotífero *Brachionus plicatilis* (müller, 1786) com diferentes espécies de microalgas e dieta formulada. *Arquivos de Ciências do Mar*, 42(2): 68-73. <http://www.periodicos.ufc.br/index.php/arquivosdecienciadomar/article/viewFile/6027/4243>
- Odo, G. E., Agwu, J. E., Iyaji, F. O., Madu, J. C., Ossai, N. I. and Allison, L. N. (2015). Mass production of rotifer (*Branchionus calyciflorus*) for aquaculture in south-eastern Nigeria. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 7(9), 151-159. <https://doi.org/10.5897/IJFA15.0497>
- O'sullivan, P. E. & Reynolds. (2004). *The Lakes Handbook*. C.S. (Edited). Volume 1 limnology and limnetic ecology. Blackwell Science Ltd. 710 pp.
- Pacheco-Vega, J. M., Cadena-Roa, M. A., Ascencio, F., Rangel-Dávalos, C. and Rojas-Contreras, M. (2015). Evaluación del potencial de microalgas endémicas para el cultivo de *Artemia franciscana*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(1): 23-32. <http://dx.doi.org/10.3856/vol43-issue1-fulltext-3>
- Prieto, M. J., Mogollon, M. J., Castro, A. L. and Sierra, L. A. (2005). Efecto del medio y condiciones de cultivo en la productividad de tres diatomeas marinas con potencial acuícola. *Revista MVZ Córdoba*, 10(1): 544-554 <http://www.redalyc.org/html/693/69310104/>
- Rehberg-Haas, S., Meyer, S. Lippemeier, S. and Schulz, C. (2015). A comparison among different *Pavlova* sp. products for cultivation of *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 435: 424–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.029>
- Rosales-Loaiza, N., Guevara, M., Lodeiros, C. and Morales, E. (2008). Crecimiento y producción de metabolitos de la cianobacteria marina *Synechococcus* sp. (Chroococcales) en función de la irradiancia. *Revista de Biología Tropical*, 56(2): 421–429. <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v56n2/art01v56n2.pdf>
- Rosales-Loaiza, N., Zambrano, H., Guevara, M., Lodeiros, C. and Morales, E. (2012). Productividad de las microalgas marinas *Chaetoceros* sp. LAEP-35 y *Chroomonas* sp. MOF-03 en cultivos semicontinuos de interés en acuicultura. *Ciencia*, 20(2): 90-97 [https://www.researchgate.net/profile/Nestor\\_Rosales\\_Loaiza2/publication/292996852\\_Productividad\\_de\\_las\\_microalgas\\_marinas\\_Chaetoceros\\_sp\\_LAEP-35\\_y\\_Chroomonas\\_sp\\_MOF-03\\_en\\_cultivos\\_semicontinuos\\_de\\_interes\\_en\\_acuicultura/links/56b53f6008ae5ad360578e79/Productividad-de-las-microalgas-marinas-Chetoceros-sp-LAEP-35-y-Chroomonas-sp-MOF-03-en-cultivos-semicontinuos-de-interes-en-acuicultura.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Nestor_Rosales_Loaiza2/publication/292996852_Productividad_de_las_microalgas_marinas_Chaetoceros_sp_LAEP-35_y_Chroomonas_sp_MOF-03_en_cultivos_semicontinuos_de_interes_en_acuicultura/links/56b53f6008ae5ad360578e79/Productividad-de-las-microalgas-marinas-Chetoceros-sp-LAEP-35-y-Chroomonas-sp-MOF-03-en-cultivos-semicontinuos-de-interes-en-acuicultura.pdf)

- Sánchez-Alejandro, F. & Sánchez-Saavedra, M. P. (2015). Characterization of the growth, biochemical composition, and nutrient utilization of the cyanobacterium *Geitlerinema lemmermannii*. *Journal of applied phycology*, 27(3): 1177-1184. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0416-1>
- Snell, T. W. (2014). Rotifers as models for the biology of aging. *International review of hydrobiology*, 99(1-2): 84-95. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24791148>
- Tacon, A. G. J. & Metian, M. (2013). Fish matters: importance of aquatic foods in human nutrition and global food supply. *Reviews in Fisheries Science*, 21(1): pp. 22-38. <https://doi.org/10.1080/10641262.2012.753405>
- Tomas, C. (1997). Identifying marine phytoplankton. San Diego, California: Academic Press. Primera edición. 858 pp.
- White, J. (1987). Biochemical composition and energy content of six species. of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 60(3-4): 231-241. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90290-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90290-0)
- Wikfors, G. & Ohno, M. (2001). Impact algae research in Aquaculture. *Journal of phycology*, 37(6): 968-974. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.01136.x>
- Zhou, W., Tang, X., Qiao, X., Wang, Y., Wang, R. and Feng, L. (2009). Ingestion of *Brachionus plicatilis* under different microalgae conditions. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 27(3): 473-479. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00343-009-9208-x.pdf>