

CALIDAD NUTRICIONAL DEL ROTÍFERO *BRACHIONUS Plicatilis* (MULLER, 1786) ALIMENTADO CON DIETAS MICROALGALES.

¹MIGUEL GUEVARA, ²MANUEL MALAVÉ, ³OLGA GÓMEZ, ³ALFREDO GÓMEZ, ¹MERCEDES ACOSTA, & NELLIS MARÍN⁴.

¹ Postgrado en Ciencias Marinas, Instituto Oceanográfico de Venezuela.

² Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente.

³ Instituto de Investigaciones Científicas, Universidad de Oriente.

⁴ Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Venezuela.

RESUMEN: Una cepa del rotífero *Brachionus plicatilis*, alimentada con una dieta simple de *Chaetoceros gracilis* y una dieta mixta de *Tetraselmis chuii* + *Nannochloris oculata*, se analizó desde el punto de vista nutricional (proteínas, lípidos, ácidos grasos y carbohidratos). Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos grasos n-3 en las fases de cultivo y en las dietas ensayadas. Las concentraciones mayores de proteínas y lípidos se encontraron en la fase exponencial de la dieta mixta, con valores de 38,1 y 28,0%, respectivamente. Los carbohidratos mostraron mayores concentraciones (42,1%) en las dos fases de la dieta simple. Los ácidos grasos n-3 alcanzaron la mayor concentración (34,0%) en la fase de decrecimiento de la dieta mixta. En contraste, los ácidos grasos n-6 sólo presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en las dietas probadas, alcanzando su valor máximo (6,9%) en la dieta simple. Estos resultados evidencian el adecuado perfil nutricional de este zooplankton al ser cultivado con dietas microalgales en condiciones propias del trópico; a la vez que satisfarían las necesidades alimenticias de larvas de peces y crustáceos marinos cultivables.

ABSTRACT: A strain of rotifers *Brachionus plicatilis* fed with a simple diet of *Chaetoceros gracilis* and a mixed diet of *Tetraselmis chuii* and *Nannochloris oculata* was analyzed. Significant statistical differences ($P < 0.05$) were found in the contents of proteins, lipids, carbohydrates and fatty acids n-3 in the culture phases and in the tested diet. The higher contents of proteins and lipids were found in the exponential phase of mixed diet with values of 38.1 and 28.0%, respectively. Carbohydrates showed a higher content (42.1%) in the two phases of the simple diet. Fatty acids n-3 reached their highest concentration (34.0%) in the decreasing phase of the mixed diet. In contrast, fatty acids n-6 only presented significant statistical differences ($P < 0.05$) in the tested diet, reaching their maximum value (6.9%) with the simple diet. These results showed the adequate nutritional profile of this zooplankton when it is cultivated with microalgal diets in typical tropical conditions; at the same time it would satisfy the nutritional necessities of the fish larvae and some marine crustaceans that can be cultivated.

INTRODUCCION

En la larvicultura de peces, la alimentación de los primeros estadios larvales es una fase crítica de la cual depende gran proporción del éxito del cultivo. En esta etapa, la mayoría de las larvas son pelágicas y necesitan alimento vivo que cumpla con las demandas energéticas y los cambios anatómicos, fisiológicos y etológicos que ocurren durante su desarrollo (POUSAO-FERREIRA *et al.*, 1997a). Dentro del gran grupo de organismos vivos utilizados en la piscicultura destacan diversas especies de fitoplancton (*Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata*, *Isochrysis galbana*, *Chlorella* sp., *Chaetoceros gracilis*, *Dunaliella tertiolecta*, etc.) y de zooplankton (rotíferos, copépodos, cladóceros, branquiópodos, misidáceos, entre otros) (CAMACHO & MARTÍNEZ, 1990; OKAUCHI, 1991; HOFF & SNELL, 1993).

Entre las dietas vivas, los rotíferos constituyen uno de los alimentos más utilizados en la larvicultura de peces marinos (WATANABE *et al.*, 1982; WATANABE *et al.*, 1983; BENGTSON *et*

al., 1991; LEMM & LEMAIRE, 1991; SORGELOOS *et al.*, 1993). Estos organismos tienen talla pequeña y son fácilmente cultivables. En la acuicultura marina, la especie más ampliamente utilizada es *Brachionus plicatilis*, la cual proporciona altos rendimientos cuando se cultiva masivamente con diferentes especies de microalgas y levaduras (COUTTEAU *et al.*, 1990; GUEVARA *et al.*, 1996). El cultivo del rotífero *B. plicatilis* data desde 1960 (ITO, 1960) y a partir de allí se ha venido empleando en la larvicultura de diversas especies de peces (THEILACKER & McMASTER, 1971; LUBZENS *et al.*, 1989; OPSTAD *et al.*, 1989; GÓMEZ *et al.*, 1992; POUSAO-FERREIRA *et al.*, 1997a, 1997b) y crustáceos (LIAO *et al.*, 1983; LEAL & GELABERT, 1986; BRAZÓN, 1990; ALVAREZ & EWALD, 1990). En Venezuela, las investigaciones sobre rotíferos han sido orientadas básicamente hacia los aspectos taxonómicos (ZOOPI, 1974; INFANTE, 1978; MARCANO, 1979; LÓPEZ & OCHOA, 1994) y de optimización de cultivo (HUNG, 1989; BRAZÓN, 1990; GUEVARA, 1993; MARÍN *et al.*, 1994; GUEVARA *et al.*, 1996) sin hacer énfasis en la calidad

nutricional de estos organismos, la cual guarda relación con el tipo de alimento que se le suministra (NICHOLS *et al.*, 1989; FROLOV *et al.*, 1991).

Para avanzar con éxito en la piscicultura es importante evaluar detalladamente la alimentación de los primeros estadios larvales. Por tal motivo, deben realizarse estudios sobre la calidad nutricional de la presa que les va a ser suministrada inicialmente. Estas investigaciones deben incluir, entre otros aspectos, análisis de proteínas, carbohidratos y lípidos.

En consecuencia, para asegurar la optimización en la larvicultura de organismos marinos es imprescindible evaluar la calidad nutricional del alimento vivo que se suministre a las larvas durante los primeros estadios de vida, lo cual redundaría en una mayor sobrevivencia larval y un mejor crecimiento y, se optimiza la producción de juveniles. Esta investigación aporta a la acuicultura porque se evaluó nutricionalmente una cepa de *B. plicatilis* cultivada en condiciones ambientales propias de los trópicos.

MATERIALES Y METODOS

CEPAS UTILIZADAS

El rotífero *Brachionus plicatilis* proviene de cepas originalmente aisladas de muestras de agua de la Península de Araya (Edo. Sucre, Venezuela) y forma parte del cepario de zooplankton del área de Acuicultura del Instituto de Investigaciones Científicas de Nueva Esparta (I.I.C.N.E.), ubicado en Boca de Río, Estado Nueva Esparta. Los inóculos iniciales de las microalgas *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata* y *Chaetoceros gracilis* fueron suministrados por el laboratorio de fitoplancton del Instituto de Investigaciones Científicas de Nueva Esparta.

PRODUCCIÓN DE LOS ROTÍFEROS *Brachionus plicatilis*.

La alimentación del rotífero *B. plicatilis* se llevó a cabo utilizando una dieta simple de *C. gracilis* y una dieta mixta formada por las microalgas *T. chuii* y *N. oculata*, las cuales han demostrado ser las mejores para su cultivo (GUEVARA *et al.*, 1996).

Los cultivos se realizaron por triplicado en una sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), en botellones de vidrio (15 l) equipados con mangueras plásticas y tapones de goma para la distribución del aire, colocados a 20 cm de la fuente de luz. Se utilizó agua de mar con una salinidad de 38 ‰, filtrada (batería de filtros de arena, antracita y carbón activado) y esterilizada utilizando lámparas de luz ultravioleta. Ambos procesos se lleva-

ron a cabo por espacio de una hora. El rotífero se inoculó a una concentración de 50 ind. ml^{-1} en un cultivo de *C. gracilis* cuando éste alcanzó una densidad celular de $1,17 \times 10^6 \text{ cél. ml}^{-1}$, lo cual equivale a $1,30 \times 10^5 \text{ mg l}^{-1}$, y en la dieta mixta una vez que se mezclaron raciones equivalentes en peso seco de $1,30 \times 10^5 \text{ mg l}^{-1}$ de las microalgas *T. chuii* ($7,45 \times 10^5 \text{ cél. ml}^{-1}$) y *N. oculata* ($11,10 \times 10^6 \text{ cél. ml}^{-1}$) siguiendo las recomendaciones de GUEVARA (1993) y GUEVARA *et al.* (1996).

En los dos cultivos de rotíferos (alimentado con dieta simple y mixta) la toma de las muestras se realizó en las fases de crecimiento exponencial y de decrecimiento, debido a que es en éstas donde se presenta la mayor densidad poblacional del microorganismo (GUEVARA *et al.*, 1996). Los rotíferos se recolectaron en un tamiz de $40 \mu\text{m}$, después se lavaron con abundante agua de mar filtrada, con la finalidad de eliminar restos de microalgas. Se concentraron en filtros de fibra de vidrio (GFC) y se guardaron en cajas de Petri a temperatura de -10°C para los análisis nutricionales posteriores.

DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

La toma de muestras y los análisis nutricionales se realizaron por triplicado y sobre la base de su peso seco.

Análisis de los lípidos: extracción, caracterización y cuantificación:

La extracción de los lípidos totales se realizó según procedimiento de OVERTURF & DRYER (1967). De acuerdo al método de Brokerhoff descrito en CARTER (1993) se obtuvieron los ésteres metílicos de los ácidos grasos a partir de los extractos lipídicos, los cuales se analizaron por cromatografía de gases (CHRISTIE, 1973; BENIGER, 1984; SHANTHA & NAPOLITANO, 1992; LIU, 1994).

CUANTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS Y LOS CARBOHIDRATOS TOTALES:

La cuantificación de los carbohidratos totales se realizó por el método colorimétrico del fenol en ácido sulfúrico descrito por DUBOIS *et al.* (1956) y las proteínas según el método del reactivo Folin-fenol descrito por LOWRY *et al.* (1951).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizaron análisis de varianza de dos factores (SOKAL & ROLF, 1981) para evidenciar las diferencias existentes en el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y concentración total de los ácidos grasos n-3 y n-6.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presenta la composición porcentual de proteínas, carbohidratos y lípidos totales de los rotíferos alimentados con la dieta simple y con la dieta mixta. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el contenido de estos nutrientes en las fases y dietas ensayadas. Se aprecia que la mayor proporción de proteínas se encontró en los rotíferos alimentados con la dieta mixta, la cual fue de un 38,1%. En las dietas empleadas, la fase de crecimiento exponencial (24-48 horas) contiene la mayor concentración de proteínas, lo cual puede deberse a que en esta fase existe abundancia de alimento y, además, se encuentra la mayor proporción de rotíferos ovados. Observaciones similares fueron encontradas por FROLOV *et al.* (1991), los cuales apreciaron, en esta fase de cultivo, un aumento de proteínas desde 46,2 hasta 49,7% en aproximadamente 12-24 horas. WATANABE *et al.* (1983), usaron como alimento *Chlorella minutissima* y reportaron valores de proteínas en el rango de 58,0-72,0%. DENDRINOS & THORPE (1987) alimentaron al rotífero con dietas simples de *Isobrysis galbana*, *N. oculata* y levadura *Saccharomyces cerevisiae* y encontraron concentraciones de proteínas de 36,3%; 34,5% y 41,6%, respectivamente. BEN-AMOTZ *et al.* (1987) reportaron valores de proteínas de 32,0% con *C. gracilis*; 28,1% al usar *C. stigmatophora*; 29,1% con *I. galbana*; 28,0% al emplear *Nannochloropsis salina* y 55,0% al alimentar con *Phaeodactylum tricornutum* y *S. cerevisiae*. HOSSAIN *et al.* (1989) reportan cifras de proteínas de 70,4% con *Chlorella* sp. y de 55,0 a 67,3% con *S. cerevisiae*. FROLOV *et al.* (1991) al usar como alimento *P. tricornutum*, *S. cerevisiae*, *N. salina* y *Monochrysis lutheri* encontraron valores de proteínas de 57,2; 46,4; 50,2 y 48,1%, respectivamente. OTE *et al.* (1997) obtuvieron contenidos de proteínas entre 33,6 y 36,4% usando *S. cerevisiae* y alimento artificial.

Tabla 1. Valores ($X \pm SD$) de proteínas, lípidos y carbohidratos totales (% en base a peso seco) del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con una dieta simple (*Chaetoceros gracilis*) y una dieta mixta (*Tetraselmis chuii*+*Nannochloris oculata*). a,b,c,d: superíndices iguales en una misma fila indican diferencias no significativas ($P > 0,05$).

	DIETA SIMPLE		DIETA MIXTA	
	<i>Chaetoceros gracilis</i>		<i>Tetraselmis chuii</i> + <i>Nannochloris oculata</i>	
	FASE DE EXPONENCIAL	FASE DE DECREMENTO	FASE DE EXPONENCIAL	FASE DE DECREMENTO
Proteínas	35,4 $\pm$ 0,4 ^a	30,7 $\pm$ 0,9 ^b	38,1 $\pm$ 0,1 ^c	35,1 $\pm$ 0,6 ^d
Lípidos	21,3 $\pm$ 0,0 ^a	19,5 $\pm$ 0,6 ^b	28,0 $\pm$ 0,1 ^c	20,6 $\pm$ 0,3 ^d
Carbohidratos	42,1 $\pm$ 1,1 ^a	42,1 $\pm$ 0,7 ^b	30,9 $\pm$ 0,8 ^c	28,9 $\pm$ 0,3 ^d

Los carbohidratos totales presentaron las concentraciones más elevadas en la fase exponencial de las dietas probadas (Tabla 1), siendo la dieta simple la que soportó las concentraciones mayores de éstos (42,1%). Este resultado concuerda con los obtenidos por BEN-AMOTZ *et al.* (1987) quienes cultivaron a *B. plicatilis* con *Chaetoceros gracilis* y obtuvieron un 44,9% de carbohidratos. Otras dietas utilizadas por los autores anteriores fueron: *Chlorella stigmatophora*, *Isobrysis galbana*, *Nannochloropsis salina*, *Phaeodactylum tricornutum* y *Saccharomyces cerevisiae*, y obtuvieron concentraciones de 44,9; 10,0; 7,0; 24,1; 13,5 y 28,0%, respectivamente. FROLOV *et al.* (1991) reportaron concentraciones de carbohidratos inferiores a las alcanzadas en esta investigación, las cuales fueron 26,8% con *P. tricornutum*, 20,7% con *Monochrysis lutheri*, 20,5% con *Nephrochloris salina* y 17,4% con *S. cerevisiae*. Igualmente, reportan una correlación negativa entre los carbohidratos y los lípidos totales; condición ésta que pudiera estar sucediendo en este trabajo, debido a que se encontraron valores altos de carbohidratos y bajos de lípidos al tercer día de cultivo, lo cual, a juicio de FROLOV *et al.* (1991), puede estar asociado con la reconstrucción bioquímica de los tejidos de los rotíferos. En peces y crustáceos no se ha establecido un requerimiento absoluto de carbohidratos en la dieta, debido a que éstos son considerados nutrientes no esenciales para su alimentación (FAO, 1989). No obstante, rotíferos con una buena concentración de carbohidratos pueden favorecer el levante larval, ya que su uso puede representar un ahorro en lo referente a la utilización de las proteínas como energía, compuesto éste que debe ser utilizado para el crecimiento.

El contenido de lípidos totales de *B. plicatilis* alcanzó sus máximos valores en la fase de crecimiento exponencial de ambas dietas (Tabla 1), siendo la concentración mayor en la dieta mixta (28,0%). WATANABE *et al.* (1983) al utilizar como alimento *S. cerevisiae*, *C. minutissima* y una mezcla de ambas encontraron concentraciones de lípidos de 15,0-21,0; 21,0-31,0 y 20,0-22,0%, respectivamente. BEN-AMOTZ *et al.* (1987) reportaron valores de lípidos totales variables al utilizar diferentes fuentes alimenticias, entre los cuales se mencionan: *C. gracilis* (20,1%), *C. stigmatophora* (7,4%), *I. galbana* (11,1%), *N. salina* (16,4%), *P. tricornutum* (8,9%) y *S. cerevisiae* (4,5%). DENDRINOS & THORPE (1987) ensayaron el cultivo de *B. plicatilis* con *I. galbana*, *N. oculata* y *S. cerevisiae*, encontrando concentraciones de lípidos de 21,1; 21,4 y 14,0%, respectivamente. HOSSAIN *et al.* (1989) encontraron concentraciones de lípidos desde 18,1 hasta 19,6% con *S. cerevisiae* y 22,4% con *C. minutissima*. FROLOV *et al.* (1991) al utilizar como alimento *P. tricornutum*, *S. cerevisiae*, *Nephrochloris salina* y *Monochrysis lutheri*, obtuvieron concentraciones de lípidos de 8,7; 11,8; 13,6 y 20,4%, respectivamen-

te. Concentraciones de lípidos totales de 14,4 a 21,2% fueron reportadas por OIE *et al.* (1997) al utilizar como alimento *I. galbana* y *S. cerevisiae*. Se aprecia que los valores de lípidos totales obtenidos en esta investigación son mayores que los reportados por la mayoría de los autores anteriormente mencionados.

Una de las características bioquímicas más importantes, a la cual se le brinda especial atención al realizar la selección del alimento para organismos marinos, es la composición de los ácidos grasos de los lípidos. Existe mucha documentación con relación a las funciones que cumplen los ácidos grasos, de importancia para el desarrollo y mantenimiento de los procesos fisiológicos. En esta investigación el rotífero *B. plicatilis* mostró una mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados en las fases de decrecimiento de las dos dietas probadas (Fig. 1). En ambas dietas la mayor proporción de ácidos grasos n-3 se presentó en las fases de decrecimiento (Fig. 1) y se detectaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en las dietas y fases de cultivo analizadas. Las concentraciones máximas de los ácidos grasos n-3 se alcanzaron en la dieta mixta (32,9 y 34,0%). Estos valores son mayores a los reportados en la literatura revisada. Así se tiene que LUBZENS *et al.* (1985) reportan cifras de 22,1 y 14,1% cuando alimentaron a *B. plicatilis* con dietas simples de *Chlorella* sp. e *Isochrysis* sp., respectivamente. HOSSAI *et al.* (1989) obtuvieron 21,1% al alimentar con *Chlorella* sp.; BARCLAY & ZELLER (1996) utilizando una dieta enriquecida

con *Schizochytrium* sp. reportan concentraciones de 21,2%. TAMARU *et al.* (1993) encontraron 1,6 y 1,2% utilizando *Nannochloropsis oculata* y *Tetraselmis tetrahele*.

Por su parte, los ácidos grasos n-6 presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) solamente en las dietas probadas (Fig. 1); alcanzando mayor proporción en la dieta simple (6,9%). Al comparar las concentraciones obtenidas en esta investigación con las reportadas en la literatura se aprecia que cada autor señala concentraciones diferentes de ácidos grasos n-6. NICHOLS *et al.* (1985) obtuvieron 3,8% usando *Pavlova* sp., LUBZENS *et al.* (1985) al alimentar con dietas simples de *Chlorella* sp. e *Isochrysis* sp. encontraron valores de 14,5 y 7,6%, respectivamente. HOSSAIN *et al.* (1989) reportaron concentraciones de 14,4% al utilizar *Chlorella* sp.; BARCLAY & ZELLER (1996) obtuvieron 16,8% al alimentar con una dieta enriquecida de *Schizochytrium* sp.

Es importante destacar que las dietas ensayadas en esta investigación brindaron concentraciones de ácidos grasos n-3 y n-6 superiores a 19,0 y 3,0%, respectivamente, debido a que la deficiencia de estos ácidos puede interferir en el éxito de la larvicultura de organismos marinos cultivables, como lo han señalado recientes investigaciones (WATANABE, 1993; RODRÍGUEZ *et al.*, 1993; KOWEN *et al.*, 1993; KANAZAWA, 1993; TAKEUCHI, 1997). Finalmente, queda evidenciado que las diferencias en los reportes de las concentraciones de proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos grasos n-3 y n-6 en las diferentes publicaciones y los hallados en esta investigación son producto del alimento utilizado y de las condiciones empleadas en el cultivo de *B. plicatilis*, tal como lo señala WATANABE *et al.* (1983).

CONCLUSIONES

La dieta mixta (*Tetraselmis chuii* + *Nannochloris oculata*) utilizada en la alimentación de *Brachionus plicatilis* aportó las concentraciones mayores de proteínas, lípidos y ácidos grasos n-3, mientras que con la dieta simple (*Chaetoceros gracilis*) se obtuvo los valores más altos de carbohidratos y ácidos grasos n-6.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (CI-4-1701-0759/96-97) por el financiamiento parcial de esta investigación. De igual forma se agradece la colaboración prestada por el Instituto de Investigaciones Científicas y al Laboratorio de Lípidos del Departamento de Química de la Universidad de Oriente.

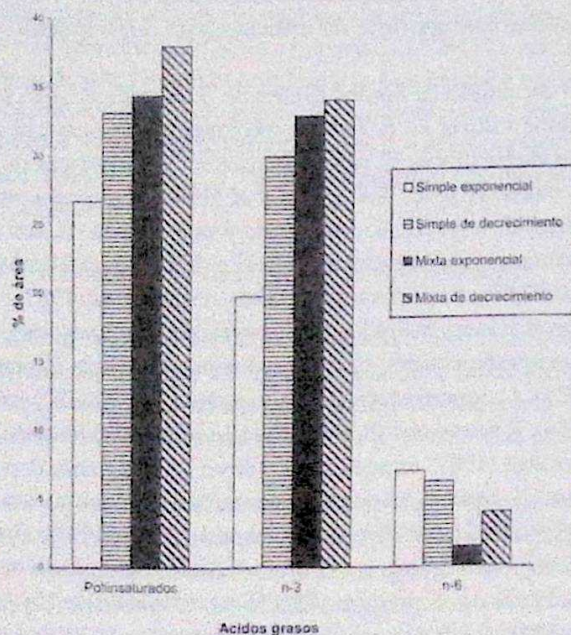


Fig. 1. Composición de ácidos grasos (HUFA, n-3, n-6) del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con una dieta simple (*Chaetoceros gracilis*) y una dieta mixta (*Tetraselmis chuii* + *Nannochloris oculata*).

REFERENCIAS

- ALVAREZ, Z. & J. EWALD. 1990. Efectos de la salinidad y la dieta sobre el desarrollo larvario de *Sesarma ricordi* (Milne Edwards, 1853) (Decapoda, Grapsidae). *Scient. Mar.* 54 (1): 55 – 60.
- BARCLAY, W. & S. ZELLER. 1996. Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and *Artemia* nauplii by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. *J. World Aquac. Soc.* 27 (3): 314 – 322.
- BEN-AMOTZ, A., R. FISHLER & A. SCHINELLER. 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. *Mar. Biol.* 95: 31 – 36.
- BENGTON, D., P. LEGER & P. SORGELOOS. 1991. *Use of Artemia as a food source for aquaculture*. En: *Artemia Biology*. Eds. Brown, R., Sorgeloos, P. & Trotman, C. Florida, USA, 374 – 376.
- BENIGER, P. 1984. Seasonal variation of mayor lipids classes in relation to the reproductive activity of two species of clams raised in a common habitat: *Tapes decussatus* and *T. philippinarum*. *J. exp. Mar. Biol. & Ecol.* 79: 79 – 80.
- BRAZÓN, P. 1990. *Cultivo masivo de alimento para las larvas del camarón blanco Penaeus schmitti*, Burkenroad, 1936. Trab. Grad. Lic. Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 83 pp.
- CAMACHO, E. & M. MARTÍNEZ. 1990. Continuous culture of the marine microalgae *Tetraselmis* spp. Productivity analysis. *Aquaculture* 90: 75 – 84.
- CARTER, L. 1993. *Analysis of triglycerides*. Academic Press, New York. U.S.A. 569 pp.
- CHRISTIE, W. 1973. *Lipids analysis*. 1 th Edition. Pergamon Press. New York. 979 pp.
- COUTTEAU, P., P. LAVENS & P. SORGELOOS. 1990. Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: *Artemia* as a case study. *J. World Aquac. Soc.* 21 (1): 1 – 9.
- DENDRINOS, P. & J. THORPE. 1987. Experiments on the artificial regulation of the amino acid and fatty acid contents of food organism to meet assessed nutritive requirements of larval, post-larval and juvenile dover fish (*Solea solea* L.). *Aquaculture* 61: 121 – 154.
- DUBOIS, M., K. GILLES, J. HAMILTON, P. REBERS & F. SMITH. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350 – 356.
- FAO, 1989. *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados*. Manual de capacitación. Proyecto GCP/RLA/102/ITAL. Brasil. 516 pp.
- FROLOV, A., S. PANKOV, K. GERADZE, S. PANKOVA & L. SPEKTROVA. 1991. Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 97: 181 – 202.
- GÓMEZ, A., Y. RODRIGUEZ, O. GÓMEZ, J. MILLÁN & Y. MARANTE. 1992. Ensayo de levante de larvas de *Archosargus rhomboidalis* (Pisces: Sparidae) en la isla de Margarita. *Memorias VII Simposio Latinoamericano de Acuicultura. II Encuentro Venezolano de Acuicultura*. 235–240. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Venezuela.
- GUEVARA, M. 1993. *Influencia de la dieta sobre el crecimiento del rotífero Brachionus plicatilis* (MULLER, 1786). Trab. Grad. Lic. Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 105 pp.
- GUEVARA, M., A. GÓMEZ & N. MARÍN. 1996. Utilización de microalgas y levadura en el cultivo de una cepa de *Brachionus plicatilis* (O: F. MULLER, 1786) (Rotifera: Monogonta) de las salinas de Araya, Venezuela. *Act. Cient. Ven.* 47(4): 255 – 261.
- HOFF, F. & T. SNELL. 1993. *Plankton culture manual*. 3th edition. Florida Aqua Farms, Inc. Florida. USA. 979 pp.
- HOSSAIN, M., M. FURICHI & Y. YONE. 1989. Propagation, proximate and fatty acid compositions of *Brachionus plicatilis* fed on yeast cultured in sea water containing liquid from mackerel waste juice. *Nipp. Suis. Gak.* 55 (1): 87 – 89.
- HUNG, M. 1989. Ensayo de cultivo de una cepa del rotífero *Brachionus plicatilis* aislada en Venezuela. *Rev. Lat. Acuicult.* 40: 85 – 112.

- INFANTE, A. 1978. Natural food of herbivorous zooplankton of Valencia's lake (Venezuela). *Arch. Hydrobiol.* 93: 194 – 208.
- ITO, T. 1960. On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller in the sea water. *Report. Fac. Fish.* 3(3): 708 – 739.
- KANAZAWA, A. 1993. Importance of dietary docosahexaenoic acid on growth and survival of fish larvae. En: *Finfish hatchery in Asia: Proceedings of finfish hatchery in Asia '91. TML Conference Proceedings* 3. Eds. LEE, C.; SU, M. & LIAO, I. Taiwan, 87 – 95.
- KOWEN, W., A. TANDLER, D. SKLAM & G. KISASL. 1993. The association of eicosapentanoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different age *Sparus aurata* larvae with growth. *Aquaculture* 116: 71 – 82.
- LEAL, S. & R. GELABERT. 1986. Uso del rotífero *Brachionus plicatilis* concentrado y congelado en la alimentación de mysis de camarón en cultivo. *Rev. Inv. Mar.* 7 (3): 37 – 45.
- LIAO, I., H. SU & J. LIN. 1983. *Larval foods for penaeid prawns*. En: *C.R.C. Handbook of Mariculture*. Mcvey, J. Eds. C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida. U.S.A., 43 – 69.
- LIU, K. 1994. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic. Analysis of lipids in biological materials. *J. Ann. Oil Chem. Soc.* 71 (11): 1179 – 1187.
- LÓPEZ, C. & E. OCHOA. 1994. Algunos rotíferos de la península de Paraguaná, Venezuela. *Act. Cient. Ven.* 45 (3): 214 – 217.
- LOWRY, O., N. ROSEBROUGH, A. FVC & R. RANDLL. 1951. Protein measurement with the foulín phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265 – 275.
- LUBZENS, E., A. MARKO & A. TIETZ. 1985. De novo synthesis of fatty acids in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 47: 27 – 37.
- LUBZENS, E., A. TANDER & G. MENKOFF. 1989. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia* 186/187: 387 – 400.
- MARCANO, G. 1979. Composición y distribución del zooplankton en la región Nor-oriental del lago de Maracaibo. *Serie Inf. Científicos D.G.I.I.A./ I.C./ 01, M.A.R.N.R.*
- MARÍN, N., C. LODEIROS & R. VERGINELLI. 1994. Cultivo de microalgas y el rotífero *Brachionus plicatilis* a gran escala. *Act. Cient. Ven.* 45 (3): 226 – 230.
- NICHOLS, P., D. HOLDSWORTH, J. VOLKMAN, M. DANTYH & S. ALLAMSON. 1989. High incorporation of essential fatty acids by the rotifer *Brachionus plicatilis* fed on the Prymnesiophyte alga *Pavlova lutheri*. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 40: 645 – 655.
- OIE, G., P. MAKRIDIS, K. REITAN & Y. OLSEN. 1997. Protein and carbon utilization of rotifers (*Brachionus plicatilis*) in first feeding of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 153: 103 – 122.
- OKAUCHI, M. 1991. *The status of phytoplankton production in Japan*. En: *Rotifer and microalgae culture systems*. Eds. FOLKS, W. & MAIN, K. Proc. US-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Hawaii, 247 – 256.
- OPSTAD, I., B. STARNO, I. HUSE & O. GRANTU-JJELDSTO. 1989. Laboratory studies on the use rotifers (*Brachionus plicatilis* O.F. Muller) as start-feed for Cod larvae (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture* 79: 345 – 351.
- OVERTURE, M. & R. DRYER. 1967. *Experiments in Physiology and Biochemistry*. Tomo II. Academic Press. N.Y. U.S.A. 630 pp.
- POUSAO-FERREIRA, P., F. CAIRRAO, F. NERY & L. NARCISO. 1997a. El perfil de los ácidos grasos de larvas de *Sparus aurata* se correlacionan con la composición de dietas de enriquecimientos de *Brachionus plicatilis* y *Artemia* sp. *Cienc. Mar.* 23 (1): 83 – 92.
- POUSAO-FERREIRA, P., E. DORES, O. LUIS, A. PASSOS & L. NARCISO. 1997b. Fatty acid profile of enriched *Brachionus plicatilis* on different commercial oils and emulsions for the sea bream (*Sparus aurata*) larvae. En: *Island Aquaculture and tropical aquaculture. Short communications and abstracts. Martinique* 243 – 245.
- RODRIGUEZ, C., J. PÉREZ, M. IZQUIERDO, J. MORA, A. LORENZO & H. HERNÁNDEZ. 1993. Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.) *Aquac. Fish. Manag.* 24: 295 – 304.
- SHANTHA, N. & E. NAPOLITANO. 1992. Gas chromatography of fatty acids. *J. Chromatogr.* 624: 37 – 51.

- SOKAL, R. & F. ROLF. 1981. *Biometry*. 2th edition. FREEMAN, W. (ed.), San Francisco. California., USA., 833 pp.
- SORGELOOS, P., P. LAVENS, P. LEGER & W. TACKAER. 1993. The use of *Artemia* in marine fish larviculture. En: *Finfish hatchery in Asia: Proceedings of finfish hatchery in Asia'91. TML Conference Proceedings*. Ed. LEE, C.; SU, M. & LIAO, C. Taiwan, 73 – 86.
- TAKEUCHI, T. 1997. Essential fatty acid requirements of aquatic animals with emphasis on fish larvae and fingerlings. *Rev. Fish. Sci.* 5 (1): 1 – 25.
- TAMARU, C., H. AKO, C. LEE & P. BASS. 1993. Fatty acid composition of rotifers cultured on various combinations of phytoplankton and baker's yeast and its effect on the growth and survival of larval milkfish (*Chanos chanos*). En: *Finfish hatchery in Asia: Proceedings of finfish hatchery in Asia'91. TML Conference Proceedings*. Ed. LEE, C.; SU, M. & LIAO, C. Taiwan, 97 – 108.
- THEILACKER, G. & M. McMASTER. 1971. Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food larval anchovies. *Mar. Biol.* 10: 183 – 188.
- WATANABE, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquac. Soc.* 24 (2): 152 – 161.
- C. KITAJIMA & S. FUJITA. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish. *Aquaculture* 34: 115 – 143.
- M. OHTA, C. KITAJIMA. & S. FUJITA. 1982. Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on w3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 48: 1775 – 1782.
- ZOOPI, E. 1974. Comparación de algunas características del plánton entre las lagunas costeras de Tacarigua y Unare, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente* 13 (1&2): 129 – 146.