

Diagnóstico morfométrico del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller 1786), con variables indicadoras "dummy".

M. E. Castellanos-Páez,
S. Marañón-Herrera y
G. Garza-Mouriño.

Depto. El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.
Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud. Coyoacán. C.P. 04960, México, D.F.

Castellanos-Páez, M.E.; S. Marañón-Herrera y G. Garza-Mouriño, 1994. Diagnóstico morfométrico del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller 1786) con variables indicadoras "dummy". *Hidrobiológica* 4 (1-2): 29-34

RESUMEN

La utilización del alimento vivo en acuicultura está directamente relacionado con su tamaño, lo cual determina su eficiencia para ser consumido, ya que una talla inapropiada reduce la probabilidad de ser depredado por el organismo de interés, repercutiendo en su crecimiento y sobrevivencia. El presente trabajo, propone un modelo potencial (morfométrico), utilizando variables indicadoras "dummy", que relacionan la longitud y el ancho de la lorica de *Brachionus plicatilis*. Los organismos utilizados pertenecen a cuatro razas asiáticas (Tailandia-Ch, Yashima-Ch, Yashima-G y Nagasaki-G), los cuales fueron cultivados bajo las mismas condiciones controladas en laboratorio. Para mostrar la utilidad del modelo propuesto, se estimó el modelo tradicional (longitud *versus* ancho), para cada raza, contrastándolos con el modelo único generado con variables indicadoras. El instrumento metodológico para seleccionar el mejor ajuste (fidelidad), fue a través del análisis de residuales estandarizados. Los resultados indican altas correlaciones en ambos métodos, que fluctúan desde 0.895 hasta 0.961 en el caso de la forma tradicional, mientras que en el segundo caso fue de 0.952. El análisis gráfico de residuales indica una gran fidelidad del modelo. La importancia del modelo radica en la integración de una variable nominal simplificando los cálculos sin perder su precisión.

Palabras clave: Rotíferos, *Brachionus plicatilis*, morfotipo, raza, modelo y variables indicadoras.

ABSTRACT

The use of living feed in aquaculture depends on several factors, one of them is the size, which determine its efficiency to be predated. If the prey size not correspond to predator needs, the probability to be consumed is low, and the growth and survival rates of the predator will be affected. The aim of this work was to get a potential morphometric model, using dummy variables, relating the length and width of *Brachionus plicatilis* from different strains; Thailand-S, Yashima-S, Yashima-L and Nagasaki-L. The experimental organisms were cultured under the same controlled environmental conditions. In order to demonstrate the model usefulness, the traditional model of length vs. width was done for each strain, and compared to the model proposed here. The analysis of standardized residuals was done to select the best fit. The results indicate high correlations in both methods from 0.895 to 0.961 with the traditional way and 0.952 with the proposed way. The graphic analysis of residuals demonstrate the high fidelity of the model presented here. The use of this model is important because it works with one nominal variable and simplify the calculations without loss its precision.

Key words: Rotifera, *Brachionus plicatilis*, morphotype, strain, model and indicator variables.

INTRODUCCIÓN

La utilización del alimento vivo en acuicultura, está en relación a su tamaño, el cual es uno de los factores que determina la eficiencia en el cultivo de interés, ya que en la relación presa-depredador un tamaño inapropiado del primero, reduce el crecimiento y la sobrevivencia del segundo (Fontaine y Revera, 1980; James *et al.*, 1983). Es así, que en las operaciones acuícolas donde se utiliza el rotífero *Brachionus plicatilis* como la fuente principal de alimento para larvas y alevines, debe considerarse además de otros factores nutricionales, el tamaño para seleccionar la raza adecuada a las necesidades del depredador y a las facilidades que se tengan para su cultivo (Lubzens, 1987; Castellanos-Páez, 1989).

Sin embargo, la variación en el tamaño de este rotífero entre diferentes razas o poblaciones no se había tomado en consideración sino hasta los años 80 (Hino, 1981; Ito, *et al.*, 1981; Fukusho y Okauchi, 1982; Yúfera y Pascual, 1982; Serra y Miracle, 1983 y 1987; Snell y Carrillo, 1984). Por lo anterior, es necesario definir las razas de *B. plicatilis* que puedan ser utilizadas en acuicultura.

En el presente trabajo se caracteriza la lorica de hembras amícticas pertenecientes a cuatro razas del rotífero *B. plicatilis* cultivadas bajo las mismas condiciones experimentales en el laboratorio. Siendo el instrumento metodológico un modelo potencial con variables indicadoras "dummy", que relaciona la longitud, el ancho de la lorica y la raza del rotífero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El tamaño de la lorica (longitud y ancho) fue determinado en hembras amícticas adultas del rotífero *B. plicatilis*, pertenecientes a cuatro razas, denominadas Tailandia-Ch, Yashima-Ch, Yashima-G y Nagasaki-G.

Los organismos fueron cultivados bajo las mismas condiciones experimentales: una temperatura de 25°C, una salinidad de 25 partes por mil, un fotoperíodo de 12-L:12-O, y *Chlorella saccharophila* como alimento a una concentración de 227×10^4 cels/ml.

Con el objeto de obtener organismos experimentales procedentes de cultivos en fase exponencial, del cultivo "stock" de cada raza, se separaron 100 hembras ovígeras (cargando huevo/s adherido/s a la lorica), transfiriéndolas a matraces erlenmeyer conteniendo 100 ml de medio. A los 3 días se repitió el procedimiento para utilizar a las hembras como inóculo de un nuevo cultivo.

Los organismos fueron preservados a los 3 días con una solución de formalina al 5% final, se midió la lorica de 50 hembras de cada raza utilizando un microscopio compuesto Olympus y un juego de medición microscópica Nikon. Todas las mediciones se realizaron siguiendo los criterios definidos por Castellanos-Páez (1989).

Para evaluar la utilidad del modelo morfométrico con variables indicadoras "dummy" (Chatterjee y Price, 1977; Draper y Smith, 1981), se obtuvo la relación longitud-ancho de la lorica del rotífero, que constituye una forma indirecta de "crecimiento", en donde el ancho varía como una potencia de la longitud (Bagenal, 1978), al que se denominó "modelo tradicional" y cuya ecuación es:

$$A = \beta_0 L^{\beta_1}$$

donde:

A: Ancho de la lorica (μm)

β_0 : Ancho cuando la longitud es igual a cero

L: Longitud de la lorica (μm)

β_1 : Pendiente de la regresión.

Expresada en forma logarítmica, como:

$$\ln A = \ln \beta_0 + \beta_1 \ln L$$

El modelo con variables indicadoras "dummy" utiliza la misma ecuación citada anteriormente, pero integra una tercera variable nominal al modelo, que es la raza del rotífero, resultando:

$$\ln A = \ln \beta_0 + \beta_1 \ln L + \beta_2 Z_1 + \beta_3 Z_2 + \beta_4 Z_3$$

Z_1 , Z_2 y Z_3 son las variables indicadoras de la raza, a las que se les asignó los siguientes valores:

	Z_1	Z_2	Z_3
Nagasaki-G	1	0	0
Yashima-G	0	1	0
Tailandia-Ch	0	0	1
Yashima-Ch	0	0	0

La fidelidad de los modelos se validaron a través del análisis de residuales (Draper y Smith, 1981), de la siguiente manera:

$$\hat{\epsilon}_i = y_i - \hat{y}_i$$

donde:

$\hat{\epsilon}_i$: Error estimado.

y_i : Valor observado.

\hat{y}_i : Valor estimado.

Para tener un mayor control del error, los residuales se estandarizaron para ajustarlos a una distribución normal, en

donde, si se genera un buen modelo, al menos el 95% de los casos fluctuará entre +2 y -2 (Chatterjee y Price, 1977), de acuerdo a la siguiente relación:

$$\hat{e}_{est} = (\hat{e}_i - \hat{e}_{prom}) / S_{\hat{e}}$$

donde:

\hat{e}_{est} : Error estandarizado.

\hat{e}_i : Error estimado.

\hat{e}_{prom} : Promedio de los residuales.

$S_{\hat{e}}$: Desviación estándar de los residuales.

Para demostrar la fidelidad del procedimiento, se estimó para cada una de las razas de los rotíferos, el modelo tradicional para contrastarlo contra el modelo único generado por variables indicadoras.

Con objeto de caracterizar las razas estudiadas se describe gráficamente el ancho y el largo de la lorica por diagramas de caja (Hoaglin *et al.*, 1991), en donde el tamaño de la caja representa la distancia intercuartil (D_i) de Q_1 a Q_3 y la línea horizontal que divide la caja es la mediana, el límite de las cotas lo representan el valor máximo (L_{sup}) y mínimo (L_{inf}) respectivamente; en el caso de que los límites sean superiores a cualquiera de las siguientes relaciones:

$$L_{sup} = Q_3 + (D_i * 1.5) \quad \text{y} \quad L_{inf} = Q_1 - (D_i * 1.5)$$

En este último caso, los registros que caen fuera de las cotas se consideran casos extremos (outliers). Para comparar las descripciones con las de otros autores que trabajan con *B. plicatilis*, se presenta el promedio \pm desviación estándar.

Para determinar si existen diferencias significativas en el ancho y largo de la lorica se realizó el análisis de varianza ANDEVA con un criterio de clasificación (raza). Si la diferencia resultaba ser significativa, se procedió a determinar entre que razas por la prueba de Tukey, de acuerdo con Montgomery, 1984.

RESULTADOS

Se analizaron 628 casos en las cuatro razas estudiadas: Nagasaki-G (159), Yashima-G (156), Tailandia-Ch (158) y Yashima-Ch (155).

En la figura 1 se describe el tamaño de la lorica de las cuatro razas estudiadas, observándose para el caso de la longitud, que la raza de Tailandia-Ch es la única que presenta casos extremos (6 con 3 tallas distintas), pero también presenta una distribución más homogénea (caja compacta), por el contrario las 3 razas restantes presentan mayor variabilidad,

como se aprecia en la tabla 1. El promedio en longitud varió desde 135.4 μm para la raza Tailandia-Ch hasta 215.8 μm para la raza Nagasaki-G. El valor mínimo fue de 88.0 μm hasta un máximo de 280.0 μm para las mismas razas, respectivamente.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre las razas ($P < 0.001$). La prueba de Tukey indica que la raza de Tailandia-Ch es la más disímil, ya que presenta diferencias significativas con las tres razas restantes ($P < 0.001$), por el contrario las razas de Nagasaki-G y Yashima-G no presentaron significancia ($P \geq 0.58$). Por otro lado, el análisis indicó diferencia ($P < 0.001$) entre las razas de la Serie "Ch" (Tailandia-Ch y Yashima-Ch) y la Serie "G" (Nagasaki-G y Yashima-G).

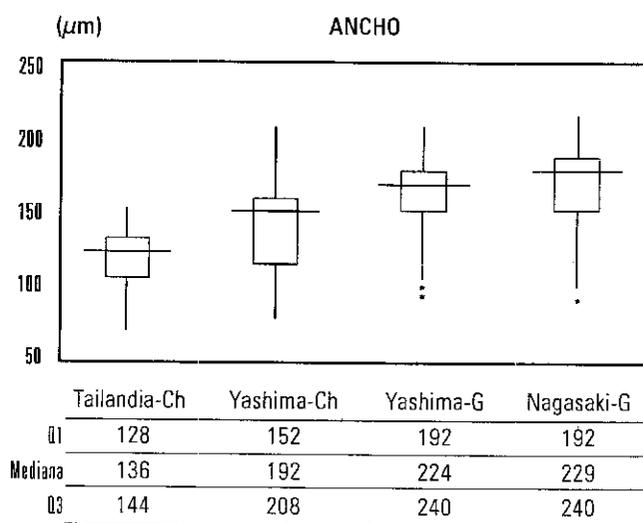
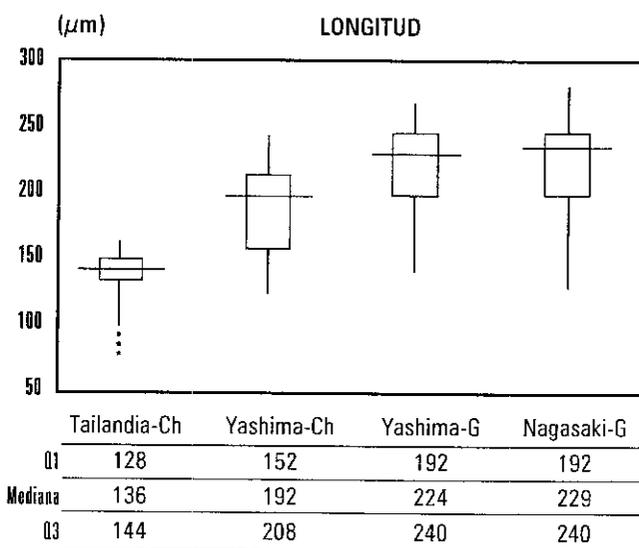


Figura 1: Distribución por diagramas de caja de la longitud y el ancho de la lorica de cuatro razas de *B. plicatilis* (*indica presencia de casos extremos "outliers")

Tabla 1. Promedio y desviación estandar (st) del tamaño de la lorica de hembras amícticas del rotífero *Brachionus plicatilis*. Se presentan los rangos de las estimaciones

Raza	Longitud (μm)		ancho (μm)	
	$\mu \pm \text{st}$		$\mu \pm \text{st}$	
	Min.	Max.	Min.	Max.
Tailandia-Ch	135.4 ± 15.7		116.0 ± 14.9	
	80.0	160.0	72.0	144.0
Yashima-Ch	179.8 ± 31.1		134.1 ± 27.1	
	120.0	232.0	80.0	192.0
Yashima-G	211.5 ± 31.0		154.7 ± 22.2	
	136.0	264.0	96.0	192.0
Nagasaki-G	215.8 ± 37.2		158.5 ± 25.0	
	120.0	280.0	88.0	200.0

En lo que respecta al ancho de la lorica, en la figura 1 se puede observar la presencia de casos extremos; en la raza de Nagasaki-G (un caso), Yashima-G (7 con 2 tallas distintas), mientras que la raza de Yashima-Ch es la que presenta mayor variabilidad, como se puede apreciar por el tamaño de la caja y las estimaciones dadas en la tabla 1. La raza de Tailandia-Ch es la más pequeña y presenta la menor variabilidad.

La variación en el ancho de la lorica siguió un patrón similar al de la longitud, siendo el promedio menor para la raza Tailandia-Ch con $116.0 \mu\text{m}$ y el mayor para la raza Nagasaki-G con $158.5 \mu\text{m}$. El registro más pequeño fue de $112.0 \mu\text{m}$ y el mayor fue de $200.0 \mu\text{m}$ para las mismas razas, respectivamente.

El análisis de varianza y la prueba de Tukey para el ancho, indican que los resultados son similares a los obtenidos para la longitud, pero con una menor discrepancia.

La figura 2, muestra que los dos procedimientos para aplicar los modelos de crecimiento son adecuados, ya que describen con propiedad la relación longitud-ancho de la lorica de *B. plicatilis*, siendo parecidos los valores estimados, particularmente para la raza Tailandia-Ch. El análisis para determinar diferencia significativa entre los coeficientes de regresión (pendientes) de las cuatro razas, indica que existen diferencias significativas ($P < 0.05$), particularmente en las de la Serie "Ch"; pero entre las razas de la Serie "G" no existen diferencias para una ($P \geq 0.01$), pero si para una ($P < 0.05$).

La tabla 2, muestra que existe una fuerte asociación entre la longitud y el ancho de la lorica, en ambos procedimientos. En el modelo tradicional el coeficiente de correlación fluctúa entre 0.895 y 0.961, mientras que en el modelo con variables indicadoras la correlación única fue de 0.951. El modelo general muestra la ecuación de donde se derivan los modelos para cada raza por la vía de las variables indicadoras.

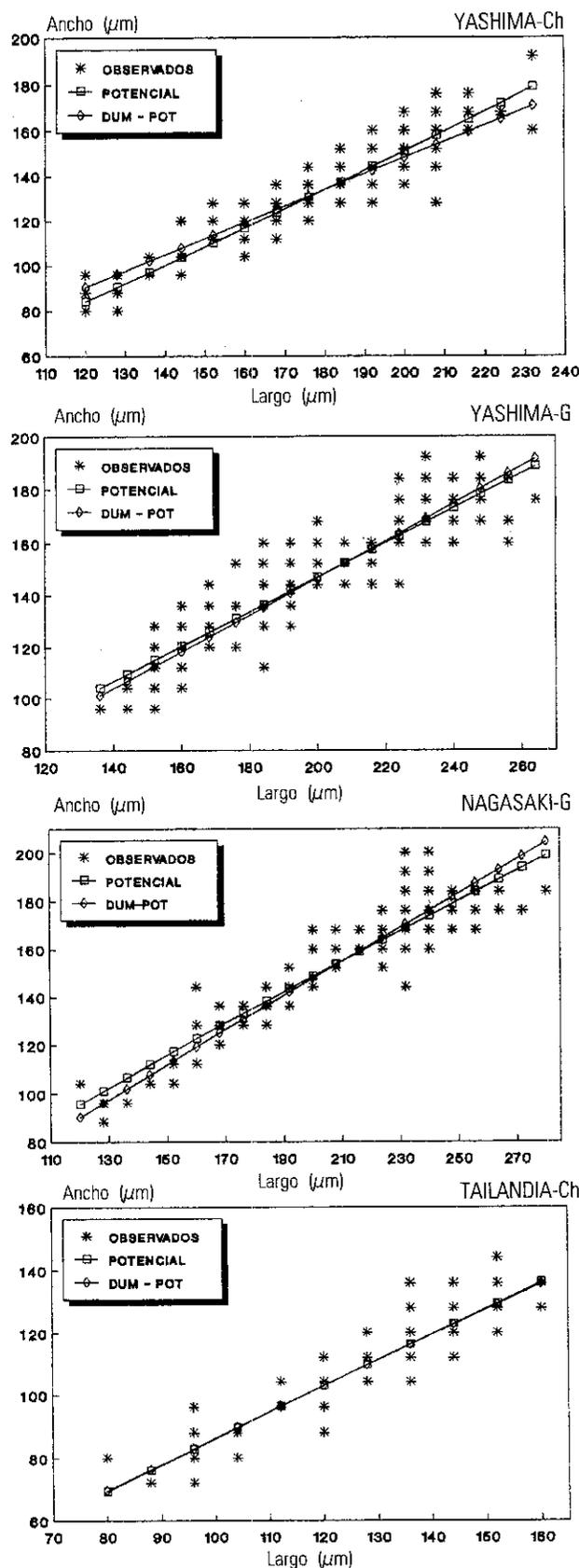


Figura 1: Contraste del modelo tradicional versus el modelo con variables "dummy".

Tabla 2. Contraste de los parámetros de crecimiento del rotífero *Brachionus plicatilis* en el modelo tradicional versus modelo con variables indicadoras "dummy".

Raza	Tradicional		Var. indicadoras*	
	Ecuación	"r"	Ecuación	"r"
Tailandia-Ch	0.956 * L ^{0.977}	0.895	1.013 * L ^{0.965}	
Yashima-Ch	0.344 * L ^{1.148}	0.961	0.890 * L ^{0.965}	0.951
Yashima-G	1.272 * L ^{0.896}	0.904	0.881 * L ^{0.965}	
Nagasaki-G	1.513 * L ^{0.865}	0.943	0.887 * L ^{0.965}	

* Modelo General:

$$\ln \hat{A} = -0.116 + 0.965 \ln L - 0.003 Z_1 - 0.010 Z_2 + 0.129 Z_3$$

La figura 3, muestra únicamente los residuales estandarizados del modelo con variables indicadoras, ya que fue el que presentó el menor error de los dos procedimientos. La imagen resulta reveladora al mostrar que, al menos el 95 % de los casos se encuentran entre el rango de +2 a -2, sin importar de que raza se trate.

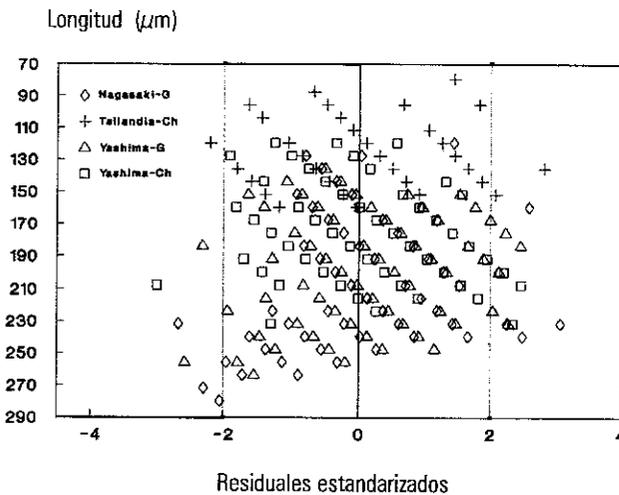


Figura 3. Confirmación del modelo potencial de *Brachionus plicatilis* utilizando variables indicadoras "dummy". Los símbolos representan los residuales estandarizados para cada una de las razas.

La figura 4, muestra que la relación ancho-longitud de la lorica es proporcional en las cuatro razas, a pesar de que el análisis de varianza indica diferencias; en especial entre las razas de Tailandia-Ch y las del archipiélago Japonés (los dos morfotipos de la raza Yashima y la raza de Nagasaki-G), se observa que las curvas de las razas japonesas se sobre-

ponen, a pesar de que la raza Yashima-Ch presenta la mayor pendiente y la menor ordenada al origen. Lo único que las diferencia son los valores de sus rangos (crecimiento). Los individuos de la raza Tailandia-Ch son de menor tamaño, pero su crecimiento es ligeramente superior a las de las otras tres razas estudiadas.

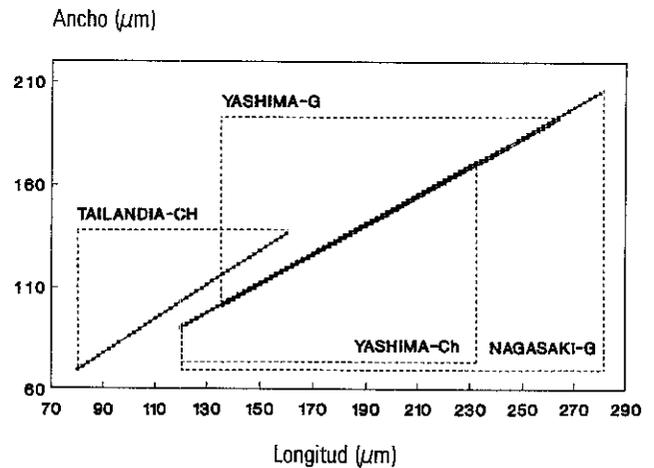


Figura 4. Modelo con variables indicadoras "dummy" para *Brachionus plicatilis*. Las líneas punteadas representan los intervalos estimados del ancho para cada una de las razas de los rotíferos.

DISCUSIÓN

Para organismos de la especie *B. plicatilis* colectados en ambientes naturales, se ha reportado un amplio rango de variación en la longitud de la lorica, que va de 125.0 a 440.0 µm (Walker, 1981). El intervalo para individuos cultivados es menor, de 123.0 a 320 µm en longitud y de 114.0 a 199 µm en el ancho de la lorica (Theilacker y McMaster, 1971; Ito et al., 1981; Yúfera y Pascual, 1982; Fukusho y Okauchi, 1982; Snell y Carrillo, 1984; Serra y Miracle, 1987).

Los intervalos de la talla obtenidos en este estudio, van de 135.4 a 280.0 µm en la longitud y de 116.0 a 200.0 µm en el ancho, los cuales concuerdan con los reportados por los autores antes citados. Los resultados presentados demuestran que, cuando razas diferentes son cultivadas bajo las mismas condiciones ambientales, las diferencias de la talla de la lorica persisten, estos resultados concuerdan con los reportados por Snell y Carrillo, 1984 para trece razas cultivadas bajo condiciones similares a las establecidas para el presente trabajo.

Con respecto a la relación longitud-ancho de la lorica, las referencias al respecto son escasas. Sin embargo, Sokal

por Rohlf, 1969 señalan que cuando el coeficiente de regresión es igual a uno, el crecimiento es isométrico. Es decir, se conserva una relación fija entre la longitud y el ancho sin importar si alguna de las razas crece más que las otras. En el presente estudio $\beta_1 < 1$ en tres de las cuatro razas, pero sus valores son cercanos a uno, incluso en la figura 4 se puede apreciar que las proporciones se conservan muy parecidas no importando a que morfotipo o raza pertenezca el rotífero.

Serra y Miracle, 1983, mencionan que el estudio de las relaciones alométricas han sido reconocidas como el mejor criterio para estudios de taxonomía y que podrían explicar la dinámica del desarrollo ontogénico, además de los avances adaptativos registrados con las distintas proporciones morfológicas.

En relación a la generación de los coeficientes con variables indicadoras, es conveniente señalar que el procedimiento es adecuado para generar los parámetros de las cuatro razas, pero además cumple con la premisa de que un "modelo armónico" es aquel que pondera sencillez y precisión, en donde la integración de la variable raza al modelo, simplifica los cálculos sin perder la precisión.

CONCLUSIONES

El tamaño de las hembras amícticas adultas del rotífero *B. plicatilis* es una característica intrínseca de cada raza.

Los individuos de la raza Tailandia-Ch presentaron la talla más pequeña y los de Nagasaki-G la talla más grande.

Existe una proporción cercana a la isometría, entre la longitud y el ancho de la lorica de las hembras amícticas pertenecientes a las cuatro razas estudiadas, a pesar de que su crecimiento es distinto.

El procedimiento con variables indicadoras fue aceptable, ya que integró una variable nominal que simplificó los cálculos, sin perder su precisión.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a Hachiro Hirata, Investigador de la Universidad de Kagoshima, Japón por facilitarnos inóculos de las cepas de *Chlorella saccharophila*, y rotíferos de las razas Yashima (morfotipos Ch y G); así como también a Kazutsugu Hirayama, Investigador de la Universidad de Nagasaki, Japón por proporcionarnos organismos de las razas Tailandia-Ch y Nagasaki-G.

LITERATURA CITADA

BAGENAL, T., 1978. *Fish production in fresh waters*. IBP Handbook N° 3. Blackwell-Scientific. 365 p.

- CASTELLANO-PÁEZ, M.E., 1989. A biological characterization of different strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Tesis Doctoral. Universidad de Hiroshima, Japón. 86 p.
- CHATTERJEE, S. y B. PRICE, 1977. *Regression Analysis by example*. John Wiley and Sons Inc. New York. 228 p.
- DRAPER, N. y H. SMITH, 1981. *Applied regression analysis*. John Wiley and Sons Inc. New York. 709 p.
- FONTAINE, C. T. y D.B. REVERA, 1980. The mass culture of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, for use as foodstuff in aquaculture. *11*: 211-218.
- FUKUSHO, K. y M. OKAUCHI, 1982. Strain and size of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, being cultured in Southeast Asian countries. *Bulletine of National Research Institute of Aquaculture 3*: 107-109.
- HINO, A., 1981. Taxonomical position, variation, and life history of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Saibai-gyogyo-kaihatsu-kenkyu 10*: 109-123.
- HOAGLIN, D. C., F. MOSTELLER y J.W. TUKEY, 1991. *Fundamentals of Exploratory Analysis of Variance*. John Wiley and Sons Inc. New York. 527 p.
- ITO, S., SAKAMOTO, H., HORI, M. y HIRAYAMA, K., 1981. Morphological characteristics and suitable temperature for the growth of several strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Nagasaki University 51*: 9-16.
- JAMES, C. M., M. BOU-ABBAS, A.M. AL-KHARS, S. AL-HINTY y A.E. SALMAN, 1983. Production of the rotifer *Brachionus plicatilis* for aquaculture in Kuwait. *Hydrobiologia 104*: 77-84.
- LUBZENS, E., 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia 147*: 245-255.
- MONTGOMERY, D. C., 1984. *Design and analysis of experimental*. Second edition. John Wiley and Sons Inc. New York. 538 p.
- SERRA, M. y M.R. MIRACLE, 1983. Biometric analysis of *Brachionus plicatilis* ecotypes from Spanish lagoons. *Hydrobiologia 194*: 279-291.
- SERRA, M. y M.R. MIRACLE, 1987. Biometric analysis in three strains of *Brachionus plicatilis* ecotypes from Spanish lagoons. *Hydrobiologia 147*: 83-89.
- SNELL, T. y K. CARRILLO, 1984. Body size variation among strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture 37*: 359-367.
- SOKAL, R.R. y F.J. ROHLF, 1969. *Biometry*. Freeman. San Francisco. 832 p.
- THEILACKER, G. H. y M.F. McMASTER, 1971. Mass cultivation of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Marine Biology 10*: 183-188.
- WALKER, K. F., 1981. A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller 1786). *Hydrobiologia 81*: 159-167.
- YÚFERA, M. y E. PASCUAL, 1982. Morphometric characterization of a small-sized strain of *Brachionus plicatilis* in culture. *Aquaculture 27*: 55-61.

Recibido: 27 de septiembre de 1994.

Aceptado: 14 de noviembre de 1994.