

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA

**CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE MICROALGAS
BENTÓNICAS CULTIVADAS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE
TEMPERATURA E INTENSIDAD DE LUZ**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

CECILIA FLORES VERGARA

Ensenada, Baja California, México, diciembre de 1998

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA

**CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE MICROALGAS
BENTÓNICAS CULTIVADAS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE
TEMPERATURA E INTENSIDAD DE LUZ**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

CECILIA FLORES VERGARA

Ensenada, Baja California, México, diciembre de 1998

RESUMEN de la tesis de CECILIA FLORES VERGARA presentada como requisito parcial para la obtención del grado de **MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA**. Ensenada, Baja California, México. Diciembre de 1998.

CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE MICROALGAS BENTÓNICAS CULTIVADAS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE TEMPERATURA E INTENSIDAD DE LUZ

Resumen aprobado por:

Se analizaron siete cepas de microalgas bentónicas, cuatro del género *Nitzschia*, una del género *Amphora* y dos del género *Navicula*. Estas cepas se cultivaron a tres temperaturas (15, 20 y 25°C) y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para evaluar las condiciones óptimas de cultivo y su calidad nutricional para su posible uso en acuicultura.

Las cepas de las diferentes diatomeas bentónicas se seleccionaron de acuerdo a dos criterios: 1) la fijación y formación de tapetes; 2) crecimiento a las diferentes temperaturas e intensidades de luz. A 15°C se seleccionaron *Amphora catenula* (AM-C1), *Navicula cincta* (NV-C1), *Nitzschia closterium* (NI-C1) y *Nitzschia* sp. (NI-X2 y NI-X3); a 20°C se seleccionaron además de las cinco anteriores *Nitzschia* sp. (NI-X5) y a 25°C además de las seis anteriores *Navicula cincta* (NV-C2).

Los resultados de biomasa obtenidos de las diferentes cepas de microalgas bentónicas variaron de 82.5 a 292.4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de peso seco total y de 32.0 a 128.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de peso seco orgánico; las biomásas mayores se encontraron en *N. closterium*, *A. catenula* y *Nitzschia* sp. a 20 y 25°C y a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

La composición proximal de las diferentes cepas varió de 20.2 a 39.2% de proteínas; de 4.2 a 24.9% de carbohidratos y de 5.29 a 42.7% de lípidos. Se observó un efecto significativo de la temperatura sobre la composición bioquímica de las diatomeas seleccionadas. Todas las cepas presentaron los ácidos grasos 20:4 y 22:6, esenciales para el crecimiento y sobrevivencia de moluscos y

crustáceos, con porcentajes en base al total de ácidos grasos de 0.036 a 2.51% y 0.1 a 6.21%, respectivamente.

Los resultados de crecimiento y calidad nutricional que presentan las cepas de las diatomeas bentónicas de este estudio, las hace potencialmente utilizables para suministrarlas como alimento en organismos ramoneadores, sin embargo es necesario realizar estudios de digestibilidad de éstas diatomeas.

ABSTRACT of the thesis presented by **CECILIA FLORES VERGARA**, as partial requirement to obtain the **MASTER OF SCIENCES** degree in **MARINE ECOLOGY**. Ensenada, Baja California, Mexico. December 1998.

GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF BENTHIC MICROALGAE CULTURED UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF TEMPERATURE AND LIGHT INTENSITY.

Fourteen benthic microalgae strains were analyzed in 125 ml Erlenmeyer flasks; seven of genera *Nitzschia*, four of *Amphora* and three of *Navicula*. They were cultured at three different temperatures (15, 20 and 25°C) and two light intensities (80 and 160 $\mu\text{moles photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in order to determine their optimal culture conditions, nutritional quality and their suitability for use in aquaculture.

The different benthic diatoms were selected on the basis of two criteria: 1) settlement and films formation; 2) growth at different temperatures and light intensities. At 15 °C *A. catenula* (AM-C1), *N. cincta* (NV-C1), *N. Closterium* (NI-C1) and *Nitzschia* sp. (NI-X2 and NI-X3) were selected. At 20 °C, *Nitzschia* sp. (NI-X5) and the five above were chosen, and at 25 °C, *N. cincta* (NV-C2) was added to all of the other mentioned above.

The microalgal biomass ranged from 82.5 to 292.4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ and 32.0 to 128.0 μgml^{-1} for total and organic weight, respectively. The largest biomass were produced with *N.closterium*, *A. catenula* and *Nitzschia* sp. maintained at 20 and 25 °C, /160 $\mu\text{moles photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

The proximal composition of the diatoms strains varied between 20.2 and 39.2 % for protein, 4.2 and 24.9% for carbohydrate and 5.29 and 42.7 for lipid. A significant effect of the temperature on cellular biochemical gross composition was observed. The fatty acids araquidonic acid (20:4) and docosahexanoic acid (22:6), which are essential for the organism's growth and survival, were present in all the cultured strains, in proportions ranging from 0.036 to 2.51% and 0.1 to 6.21% of total fatty acids, respectively.

The growth and nutritional quality obtained with the different strains assayed, proved that they are suitable for aquaculture use. However, further studies are still necessary on their rate of digestibility by cultured organism's.

key words: diatoms, benthic, biochemical composition, culture, growth.

DEDICATORIA

A mi madre **Margarita Vergara Ávila**, porque su fortaleza y valores me han enseñado a seguir siempre adelante, sin importar los obstáculos. Junto a ella, siempre seré una niña que tiene algo que aprender.

Con especial cariño a mi amigo y compañero **León David Olivera Gómez**, con quien el destino me unió, logrando así un ensamble perfecto para vivir armoniosa y amorosamente.

Con mucho amor a **Pablito**, fruto del amor, regalo de la vida, quien junto con Leo solía esperarme por las tardes a las puertas del CICESE, colectando piedras por el cerro o finalmente cansados en el carro.

Con gran ternura y amor al retoño que vibra dentro de mí y a quien ya deseamos estrechar en nuestros brazos.

A mis hermanos, que tanto quiero y extraño Rosario, Vicente, Juan, Humberto, J.Ramón Margarita y Abraham.

Con mucho cariño a mis suegros: Enrique y Josefa, y a sus hijos Adi, Lauri, Dani, Luis y Cuauh.

A las familias: Vergara-Gutierrez e hijos (Monterrey); Vergara-Sosa, Vergara-Gutierrez, Reyes-Vergara e hijos (Morelos) y Monroy-Vergara (en especial a Rubén).

A mis cuñadas: Elizabeth, Yori y Evelia.

A mis sobrinos: Varuni, Memo, Yaret, Diana, Magsalena, Daisy, Lauri, Juan Fco, Ernesto , Enrique, Melisa y la niña de Cuauh.

A mis amigos: Victor, Armando, Alma, Milli, Rosa, Lupita, Tere, Silvia, Chela, Toño y Sonia.

AGRADECIMIENTOS

Con especial cariño a mi directora de tesis la Dra. Beatriz Cordero Esquivel, porque además de todo es una gran amiga, quien creyó en mí y siempre me apoyó en todos los aspectos de la realización de esta tesis y en mi formación durante la maestría. GRACIAS.

A la Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega, porque su participación fue fundamental para la elaboración de este trabajo, sobre todo por su dirección en la determinación de los ácidos grasos, en el laboratorio de Biología Experimental de la unidad del CIBNOR de La Paz, B.C.

A la Dra. Roxana Rico Mora, por sus acertadas observaciones durante el desarrollo de esta tesis, en el trabajo experimental, análisis de datos y redacción del manuscrito final.

A la Dra. Diana Tentori Santacruz, por su impulso constante para la concretización de esta tesis.

A la Dra. Teresa Lamela Pérez, por sus observaciones y críticas para el mejoramiento de este trabajo. Muchas gracias por su amistad.

A la Dra. Ma. del Refugio González, por su valiosa ayuda y tiempo dedicado para el pulimiento de esta tesis, con las fotografías tomadas en microscopio electrónico. También porque siempre me impulso a seguir adelante.

A todos los investigadores del C.I.C.E.S.E., que de alguna manera facilitaron el trabajo de tesis, con especial agradecimiento a aquellos que fueron mis profesores.

A los técnicos: Biól. Norberto Flores y Biól. Patricia Ascencio, porque su ayuda fue fundamental. Gracias también a José Espinoza, Eduardo Morales y Francisco Valenzuela.

Al M en C. Enrique Valenzuela (UABC) porque proporcionó el agua de mar para el trabajo experimental.

Un especial agradecimiento a Luis Gradilla, técnico de la División de Ciencias de la tierra, del C.I.C.E.S.E., por la ayuda prestada para tomar las fotos de las diatomeas en el microscopio electrónico y la realización de las diapositivas para la exposición.

Al personal administrativo, en especial a Margarita Jaúregui, Citlali Romero e Ivon Best.
A las encargadas de la biblioteca, especialmente a Guadalupe Morales y Patricia Solórzano por su gran ayuda y compañerismo.

A mis amigos: Rosa, Ana, Wenceslao, Tania, Carlos, Benjamín, Diana, Saúl, Gabriel y Alberto, por las horas que compartimos y la gran amistad que nos une.

A Ma. Elena, Bibiana y Ceci, por la ayuda otorgada y las atenciones que tuvieron conmigo.

Al C.I.C.E.S.E., por las facilidades prestadas para mi formación como Maestro en Ciencias. También por la beca (Proy. 623102) proporcionada durante los meses de septiembre y octubre de 1998..

Al CIBNOR de La Paz, B.C. por las facilidades prestadas durante la estancia en el mes de junio de 1998, para la determinación de los ácidos grasos.

Al CONACYT, por el apoyo económico proporcionado a través de una beca-crédito, durante la realización de esta maestría.

Por último, gracias a todos aquellos que quizá en este momento paso por alto.

CONTENIDO	Página
I. INTRODUCCION	1
II OBJETIVOS	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	10
III.1. Cultivo	10
III.2. Análisis de las muestras	13
III.2.1. Peso seco total y peso seco orgánico	14
III.2.2. Composición bioquímica	14
III.2.2.1. Proteínas, Carbohidratos y Lípidos	14
III.2.2.2. Ácidos grasos	15
III. 3. Análisis Estadísticos	17
IV. RESULTADOS	19
IV. 1. Tamaño celular	19
IV. 2. Crecimiento y fijación	19
IV. 3. <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C1)	22
IV. 3. 1. Densidad celular y apariencia	22
IV. 3. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	22
IV. 3. 3. Composición bioquímica	23
IV. 3. 3. 1. Proteínas, Carbohidratos y Lípidos	23
IV. 3. 3. 4. Cenizas	24
IV. 3. 3. 5. Ácidos grasos	24
IV. 4. <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C2)	26
IV. 4. 1. Densidad celular y apariencia	26
IV. 4. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	27
IV. 4. 3. Composición bioquímica	29
IV. 4. 3. 1. Proteínas	29
IV. 4. 3. 2. Carbohidratos	30
IV. 4. 3. 3. Lípidos	31
IV. 4. 3. 4. Cenizas	31
IV. 4. 3. 5. Ácidos grasos	32
IV. 5. <i>Amphora catenula</i> (AM-C1)	33
IV. 5. 1. Densidad celular y apariencia	33
IV. 5. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	34
IV. 5. 3. Composición bioquímica	36
IV. 5. 3. 1. Proteínas	36
IV. 5. 3. 2. Carbohidratos	36

CONTENIDO (continuación)	Pág.
IV. 5. 3. 3. Lípidos	37
IV. 5. 3. 4. Cenizas	37
IV. 5. 3. 4. Ácidos grasos	38
 IV. 6. <i>Nitzschia closterium</i> (NI-C1)	 39
IV. 6. 1. Densidad celular y apariencia	39
IV. 6. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	40
IV. 6. 3. Composición bioquímica	42
IV. 6. 3. 1. Proteínas	42
IV. 6. 3. 2. Carbohidratos	44
IV. 6. 3. 3. Lípidos	44
IV. 6. 3. 4. Cenizas	45
IV. 6. 3. 5. Ácidos grasos	45
 IV. 7. <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X2)	 47
IV. 7. 1. Densidad celular y apariencia	47
IV. 7. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	48
IV. 7. 3. Composición bioquímica	50
IV. 7. 3. 1. Proteínas	50
IV. 7. 3. 2. Carbohidratos	50
IV. 7. 3. 3. Lípidos	51
IV. 7. 3. 4. Cenizas	52
IV. 7. 3. 5. Ácidos grasos	52
 IV. 8. <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X3)	 54
IV. 8. 1. Densidad celular y apariencia	54
IV. 8. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	55
IV. 8. 3. Composición bioquímica	57
IV. 8. 3. 1. Proteínas	57
IV. 8. 3. 2. Carbohidratos	58
IV. 8. 3. 3. Lípidos	59
IV. 8. 3. 4. Cenizas	59
IV. 8. 3. 5. Ácidos grasos	60
 IV. 9. <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X5)	 62
IV. 9. 1. Densidad celular y apariencia	62
IV. 9. 2. Peso seco total y peso seco orgánico	63
IV. 9. 3. Composición bioquímica	64
IV. 9. 3. 1. Proteínas	64
IV. 9. 3. 2. Carbohidratos	64
IV. 9. 3. 3. Lípidos	65

CONTENIDO (continuación)	Pág.
IV. 9. 3. 4. Cenizas	66
IV. 9. 3. 5. Ácidos grasos	66
IV. 10. Comparación entre las cepas estudiadas	68
IV.10.1. Densidad celular	68
IV.10.2. Biomasa por célula	68
IV.10.3. Peso Seco Total y Peso Seco Orgánico	68
IV.10.4. Proteínas	70
IV.10.5. Carbohidratos	70
IV.10.6. Lípidos	71
IV.10.7. Cenizas	71
IV.10.6. Ácidos grasos	76
V. DISCUSIÓN	78
VI. CONCLUSIONES	91
LITERATURA CITADA	92



LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Cámara climática, donde se mantuvieron los cultivos de microalgas bentónicas.	11
2	Porcentaje de proteínas de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25°C y 80 (bloques color azul) y 160 (bloques color rosa) $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.	72
3	Porcentaje de carbohidratos de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 (bloques color azul) y 160 (bloques color rosa) $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.	73
4	Porcentajes de lípidos de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 (bloques color azul) y 160 (bloques color rosa) $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.	74

Tabla	LISTA DE TABLAS	Página
I	Cepas de microalgas bentónicas (Bacillariophyceae) utilizadas en el presente trabajo. Se especifica la procedencia y clave dentro del cepario del C.I.C.E.S.E.	12
II	Clave, tamaño (μm) y fijación de las microalgas bentónicas del género <i>Navicula</i> expuestas a diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e intensidades de luz ($\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).	20
III	Clave, tamaño (μm) y fijación de las microalgas bentónicas del género <i>Amphora</i> expuestas a diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e intensidades de luz ($\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).	20
IV	Clave, tamaño (μm) y fijación de las microalgas bentónicas del género <i>Nitzschia</i> expuestas a diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e intensidades de luz ($\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).	21
V	Densidad celular final promedio (cél. ml^{-1}) y apariencia de los cultivos de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C1) cultivada a 25°C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	22
VI	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C1) cultivada a 25°C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	23
VII	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C1) cultivada a 25°C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis	24
VIII	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C1) cultivada a 25°C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	24

LISTA DE TABLAS (continuación)

	Página	
IX	Densidad celular final promedio (cél. ml ⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C2) cultivada a 15, 20 y 25 °C, y a 80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹ . La desviación estándar se incluye entre paréntesis	27
X	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C2) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹ . La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	28
XI	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C2) cultivada a 15, 20 y 25 °C; y 80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹ . La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	30
XII	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Navicula</i> c.f. <i>cincta</i> (NV-C2) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹). Expresada en: µg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	32
XIII	Densidad celular final promedio (cél. ml ⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica <i>Amphora catenula</i> (AM-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹ . La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	34
XIV	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Amphora catenula</i> (AM-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹ . La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	35
XV	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Amphora catenula</i> (AM-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 µmoles fotón m ⁻² s ⁻¹ . La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	37

	LISTA DE TABLAS (continuación)	Página
XVI	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Amphora catenula</i> (AM-C1) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: $\mu\text{g. de ác. graso por mg de peso seco orgánico, \% con base en el total de ácidos grasos y \% con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.$	39
XVII	Densidad celular final promedio (cél. ml^{-1}) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica <i>Nitzschia closterium</i> (NI-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C, a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	40
XVIII	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Nitzschia closterium</i> (NI-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	41
XIX	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Nitzschia closterium</i> (NI-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C; a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	43
XX	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Nitzschia closterium</i> (NI-C1) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: $\mu\text{g de ác. graso por mg de peso seco orgánico, \% con base en el total de ácidos grasos y \% con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.$	46
XXI	Densidad celular final promedio (cél. ml^{-1}) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X2) cultivada a 15, 20 y 25 °C, a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	48
XXII	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X2) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	49

LISTA DE TABLAS (continuación)		Página
XXIII	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X2) cultivada a 15, 20 y 25 °C; y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	51
XXIV	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X2) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	53
XXV	Densidad celular final promedio (cél. ml^{-1}) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X3) cultivada a 15, 20 y 25 °C, y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	55
XXVI	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X3) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	56
XXVII	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X3) cultivada a 15, 20 y 25 °C; y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	58
XXVIII	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X3) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	61
XIX	Densidad celular final promedio (cél. ml^{-1}) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X5) cultivada a 20 y 25 °C, y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	62

LISTA DE TABLAS (continuación)

		Página
XXX	Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X5) cultivada a 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	63
XXXI	Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp. (NI-X5) cultivada a 20 y 25 °C; y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.	65
XXXII	Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica <i>Nitzschia</i> sp.(NI-X5) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis .	67
XXXIII	Comparación de la biomasa de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Densidad celular (núm.de cél.x $10^3/\text{ml}$), peso seco total ($\mu\text{g ml}^{-1}$), peso seco orgánico ($\mu\text{g ml}^{-1}$) y peso celular (pg) con base en el peso seco orgánico.	69
XXXIV	Comparación de la composición bioquímica de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con datos de la literatura. % de proteínas (A), % de carbohidratos (B), % de lípidos (C) y % de cenizas (D).	75
XXXV	Porcentajes de ácidos grasos (a 25 °C y promedio de las dos intensidades de luz, 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de este estudio comparados con los de la literatura.	77

CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE MICROALGAS BENTÓNICAS CULTIVADAS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE TEMPERATURA E INTENSIDAD DE LUZ

I. INTRODUCCIÓN

La relevancia del estudio de las microalgas, en el medio natural, radica principalmente en su importancia por ser el primer eslabón de la cadena trófica (Brown *et al.*, 1989).

En biotecnología, su estudio ha servido para que las microalgas sean utilizadas en la producción de proteínas, lípidos, almidón, glicerol, pigmentos naturales, biopolímeros, antibióticos, fármacos, vitaminas (Richmond, 1985; Cohen, 1985; González *et al.*, 1995) y para la purificación de aguas contaminadas (De la Noüe *et al.*, 1992). Algunos ejemplos de estas microalgas son: *Spirulina* utilizada como complemento alimenticio (Durand-Chastel, 1980), *Chlorella* para remoción de nutrientes y pesticidas (Redalje *et al.*, 1988), *Haematococcus* sp. para producción de astaxantina (Choubert y Heinrich, 1993), *Dunalliella* para la producción de Beta-caroteno. Especies de los géneros *Tetraselmis*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, *Isochrysis* y *Nannochloropsis*, entre otros, son usados como alimento de animales marinos, en particular para larvas y juveniles de moluscos, crustáceos y peces (Richmond, 1990).

Se han buscado alternativas para tratar de sustituir el suministro de microalgas en acuicultura, principalmente por el alto costo que representa el producirlas, aunque poco éxito se ha tenido en este aspecto y se continúa utilizándolas para la alimentación de diversos organismos. La producción de microalgas como alimento vivo, en comparación con formulaciones alternativas, garantiza mejores niveles de crecimiento y sobrevivencia (Laing *et*

al., 1990; Laing y Millican, 1992; Cordero y Voltolina, 1994), ya que aportan nutrimentos importantes de diferente naturaleza y composición (Horstmann, 1985; López-Elias, 1990).

Las algas planctónicas son consideradas los productores primarios más importantes del mar, mientras que las microalgas bentónicas cubren un área limitada por la extensión de la plataforma continental, el habitat, las condiciones de iluminación y otros factores propicios a sus procesos biológicos (Etcheverry, 1986).

En sistemas litorales, como lagunas costeras y estuarios, la producción primaria depende en gran medida de la microflora bentónica. En zonas inter y submareales superficiales las microalgas bentónicas pueden igualar y en ocasiones superar la producción primaria debida al fitoplancton (Wetzel, 1964; Matheke y Horner, 1974, ambos citados por Varela, 1985), la cual forma parte de la dieta de diversos organismos y es pastoreada directamente de los sustratos rocosos por moluscos con rádula (postlarvas de abulón) (Kawamura *et al.*, 1995; Knauer *et al.*, 1996), crustáceos (Moss *et al.*, 1992) y consumida junto con los sedimentos y pastos marinos por peces (Navarro-Mendoza, 1985).

Por otro lado, las microalgas bentónicas participan en la dinámica de los ecosistemas costeros de las siguientes maneras:

- Tienen un papel activo en la formación de bancos de fangos litorales que protegen al sustrato contra la erosión, contribuyendo a su estabilización por medio de secreciones mucosas (Varela, 1985).
- Como conformadoras de sustrato (después de la formación de bancos fangosos) para el desarrollo de comunidades de macrofitas superiores (Varela, 1985).

- Como señal química para el establecimiento de larvas de organismos acuáticos (por ejemplo el abulón: Searcy-Bernal *et al.*, 1992).
- Como protección contra radiación ultravioleta y contra la desecación para las macrofitas que epifitizan (Montfrans *et al.*, 1984).
- En el reciclamiento de los nutrimentos en el sedimento (Varela, 1985).
- Como marcadores en la cadena trófica (Napolitano, 1997)
- Indicadores de cambios ambientales (Vyverman *et al.*, 1996)
- Indicadores de calidad del agua (Silva-Benavides, 1996; Dokulil *et al.*, 1997).

Existen pocos estudios sobre el cultivo de microalgas bentónicas, la mayoría de éstos han sido de tipo descriptivo, listados florísticos, algunas investigaciones sobre aspectos ecofisiológicos, reproductivos y taxonómicos de diatomeas en el medio natural (Siqueiros-Beltrones e Ibarra-Ovando 1985; Voltolina, 1985; Siqueiros-Beltrones *et al.*, 1991). Los sustratos colonizados por diatomeas bentónicas son considerados de gran importancia para la producción de semillas de abulón, principalmente para su asentamiento, metamorfosis y alimentación (Searcy-Bernal *et al.*, 1992). Es importante resaltar el desconocimiento que se tiene de las especies de diatomeas bentónicas que conforman esta película (Siqueiros-Beltrones, 1994).

La productividad de diatomeas bentónicas está influenciada por diversos factores como son: la intensidad de luz (Hudon y Bourget, 1983), la temperatura (Goldman, 1977; Kawamura y Hirano, 1992), el fotoperíodo (Admiral, 1977), la limitación de nutrimentos

(Rizzo, 1990; Sigmon y Cahoon, 1997), el tipo de sustrato (Pawlik, 1992), la competencia con otras algas y la presión de forrajeo (Sommer, 1997).

En los cultivos de microalgas planctónicas se desea que las células se distribuyan homogéneamente en la columna de agua, donde el volumen de cultivo es lo más importante. Mientras que, en los cultivos de especies bentónicas se desea que éstas se fijen al fondo y lo relevante es la superficie colonizada. Estas diferencias repercutirán en las técnicas de cosecha, evaluación y utilización de la biomasa (Voltolina, 1985).

Factores como el tamaño, toxicidad, digestibilidad y composición bioquímica de las microalgas pueden ser clave para identificar las diferencias en sus valores dietéticos (Whyte, 1987). El conocimiento detallado de estos factores, en teoría, hace posible asignar dietas específicas a los requerimientos de diferentes especies de animales (Volkman *et al.*, 1989).

La nutrición de peces, crustáceos y moluscos se ha convertido en una de las áreas de investigación más importantes dentro de la acuicultura. Los requerimientos nutricionales en la dieta para los diversos organismos en cultivo son los contenidos de proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales (Tacon, 1989).

Brown *et al.* (1989) en una revisión bibliográfica encontró que los requerimientos de proteínas en la dieta algal, para un buen crecimiento en larvas de moluscos y crustáceos está entre un 30 y 60 % y para peces entre un 40 y 60 %.

Las proteínas son moléculas orgánicas, muy abundantes en las células, constituyen casi el 50% o más de su peso seco y son fundamentales en todos los aspectos estructurales y de función (Lehninger, 1995).

Por otro lado, los requerimientos de carbohidratos en moluscos bivalvos se estiman entre un 5 y 30 %, y para larvas de crustáceos y peces entre un 15 y 25 %, en la dieta algal (Brown *et al.*, 1989).

Los carbohidratos son moléculas orgánicas que desempeñan funciones estructurales y de reserva (almacén de combustible o energía) de organismos marinos. Son de los principales constituyentes de biopelículas en substratos sólidos (Bhosle *et al.*, 1993).

Los requerimientos de lípidos en la dieta algal, para larvas de moluscos bivalvos está entre un 5 y 23 % y para crustáceos y peces entre un 10 y 20 % (Brown *et al.*, 1989).

Los lípidos son moléculas que tienen funciones biológicas muy importantes, son componentes estructurales en las membranas, como formas de transporte y almacenamiento de combustible catalítico, como cubierta protectora sobre la superficie de muchos organismos, como componentes de la superficie celular relacionados con el reconocimiento de la célula, la especificidad de la especie y la inmunidad de los tejidos (Lehninger, 1995). Los lípidos polares, principalmente fosfo, glico, sulfo y clorosulfolípidos (los últimos no presentes en las diatomeas) (Alvarez-Cobelas y Zarco-Lechado, 1989) son los componentes principales de las membranas celulares y son típicamente la fracción más abundante de lípidos en células microalgales (Dunstan *et al.*, 1994).

Los lípidos no polares o neutros son principalmente los triacilglicéridos, diglicéridos, hidrocarbonos y ácidos grasos libres (Alvarez-Cobelas y Zarco-Lechado, 1989). Los triacilglicéridos son abundantes en varias especies de diatomeas, sobre todo en la fase estacionaria (Dunstan *et al.*, 1993), mientras que en la fase logarítmica se encuentran en

cantidades bajas (Volkman *et al.*, 1989). Los lípidos neutros tienen una mayor proporción de ácidos grasos saturados y monoinsaturados que los lípidos polares (Reitan *et al.*, 1994).

La composición bioquímica de las diatomeas puede estar influenciada por variaciones en las diferentes fases de crecimiento o limitadas por diferentes factores como son la cantidad y calidad de luz (Redalje y Laws, 1983; Claustre y Gostan, 1987; Harrison *et al.*, 1990; Thompson *et al.*, 1990; Renaud *et al.*, 1991), la disponibilidad de uno o más nutrimentos (Harrison *et al.*, 1990), la temperatura (Goldman, 1977; Redalje y Laws, 1983; James *et al.*, 1989), el pH (James *et al.*, 1989), el fotoperíodo (Sicko-Goad y Andresen, 1991) el estadio de cultivo y la especie (Chu *et al.*, 1982; Whyte, 1987); y la adición de CO₂. (Whyte, 1987; Brown *et al.*, 1989; López-Elías, 1990).

La relación entre los materiales de reserva (lípidos y carbohidratos) y las proteínas, se ha utilizado como un indicador del estado fisiológico de las células en los cultivos (Myklestad, 1974; Redalje y Laws, 1983).

Se han realizado diversos estudios enfocados a la composición bioquímica de microalgas, relacionados con la disponibilidad de luz, temperatura y diferentes nutrimentos para el cultivo (López-Elías, 1990).

Brown *et al.* (1989) resumen la composición bioquímica de varios géneros de microalgas como: *Isochrysis*, *Pavlova*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Nanochloropsis*, *Chlorella*, *Rhodomonas*, *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Thalassiosira*, entre otros. Para las diatomeas reportan valores de proteínas de 29 a 37%, carbohidratos de 17 a 24% y de lípidos de 7 a 10 %. Las conclusiones obtenidas coinciden en que algunas microalgas mantenidas en medios

limitantes no difieren significativamente en su composición química gruesa. Además mencionan que, las estimaciones de los niveles de aminoácidos, ácidos grasos, azúcares, esteroides, vitaminas y minerales son más importantes en la determinación de la calidad nutricional de las microalgas que las estimaciones a nivel de fracciones gruesas. De ahí la importancia de realizar análisis de microalgas a niveles más finos.

Los ácidos grasos son componentes importantes en la dieta de organismos cultivados. Los animales no tienen la capacidad metabólica para sintetizar *de novo* ácidos grasos con dobles ligaduras en las posiciones n-6 y n-3, solamente los vegetales tienen tal capacidad (Tacon, 1989). En diversas especies de moluscos y crustáceos se ha observado que los ácidos grasos, en especial los insaturados son esenciales para obtener mejores crecimientos y altos porcentajes de sobrevivencia (Brown *et al.*, 1996).

Los crustáceos tienen requerimientos específicos de colesterol ya que no pueden sintetizarlo de esteroides *de novo*, por lo que sustituyen los fitoesteroides de las microalgas y los convierten en colesterol. Esta sustitución causa bajas en la tasa de crecimiento de larvas y juveniles de camarón, por lo que se suele utilizar un intermediario como la *Artemia* sp., la cual realiza esta sustitución, que hace que el colesterol este disponible directamente para el camarón (Volkman *et al.*, 1992).

El uso de ácidos grasos como indicadores de la presencia de varios organismos se está expandiendo. Este es un método conveniente para el estudio de las cadenas alimenticias en ecosistemas marinos (Nichols, *et al.*, 1986; Sargent *et al.*, 1987).

Dada la importancia de las microalgas bentónicas en la alimentación de organismos susceptibles de cultivo y los pocos estudios realizados de éstas hasta la fecha, la intención de este trabajo fue abordar el estudio de varias de las cepas de microalgas bentónicas existentes en el cepario del C.I.C.E.S.E., para encontrar las mejores condiciones de cultivo y determinar la calidad nutricional (proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos grasos) que alcanzan bajo diferentes condiciones de luz y temperatura. La finalidad del trabajo fue aportar información sobre la calidad de estas cepas y su posible utilización para organismos bentónicos en cultivos, contribuyendo así al desarrollo de la acuicultura en esta región.

II OBJETIVOS

II.1. General

Selección de especies de microalgas bentónicas, con base en su factibilidad de cultivo y composición bioquímica, para su posible uso en acuicultura.

II.2. Específicos

II.2.1. Evaluar el crecimiento de varias cepas de microalgas bentónicas expuestas a diferentes condiciones de temperatura e intensidad de luz.

II.2.2. Determinar la composición bioquímica de las microalgas seleccionadas, en las diferentes condiciones de cultivo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Cultivo

Las cepas utilizadas en este trabajo fueron microalgas bentónicas de los géneros *Nitzschia*, *Navicula* y *Amphora*, proporcionadas por el cepario del Departamento de Acuicultura del C.I.C.E.S.E. De las 14 cepas analizadas, seis fueron aisladas localmente y ocho conseguidas por intercambio con la Universidad de Padova, Italia (Trujillo-Valle, 1993) (Tabla I).

El intervalo de tamaño de las diferentes cepas se determinó solamente al inicio del trabajo experimental, se midieron 30 células de cada cepa obtenidas aleatoriamente al final de la fase de crecimiento exponencial, en cultivos a 20 °C y una intensidad de luz de 100 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, previo a la toma de los inóculos para los experimentos.

Los cultivos se realizaron en matraces Erlenmeyer de 125 ml con 100 ml de medio de cultivo "f" de Guillard y Ryther (1962) con doble cantidad de silicatos (2f). Para el medio de cultivo se utilizó agua de mar a 35 u.p.s. (pasada a través de un filtro de 5 μm y tratada con radiación ultravioleta) y se esterilizó a 15 libras de presión durante 25 minutos.

La densidad con la cual se iniciaron los cultivos para las diferentes cepas fue de 50,000 cél. ml^{-1} , ya que para asegurar la viabilidad del inóculo, este debe ser del 1 al 10% de la densidad del cultivo del que procede el inóculo. Esta densidad fue estimada bajo microscopio óptico (Olimpus) con un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad.

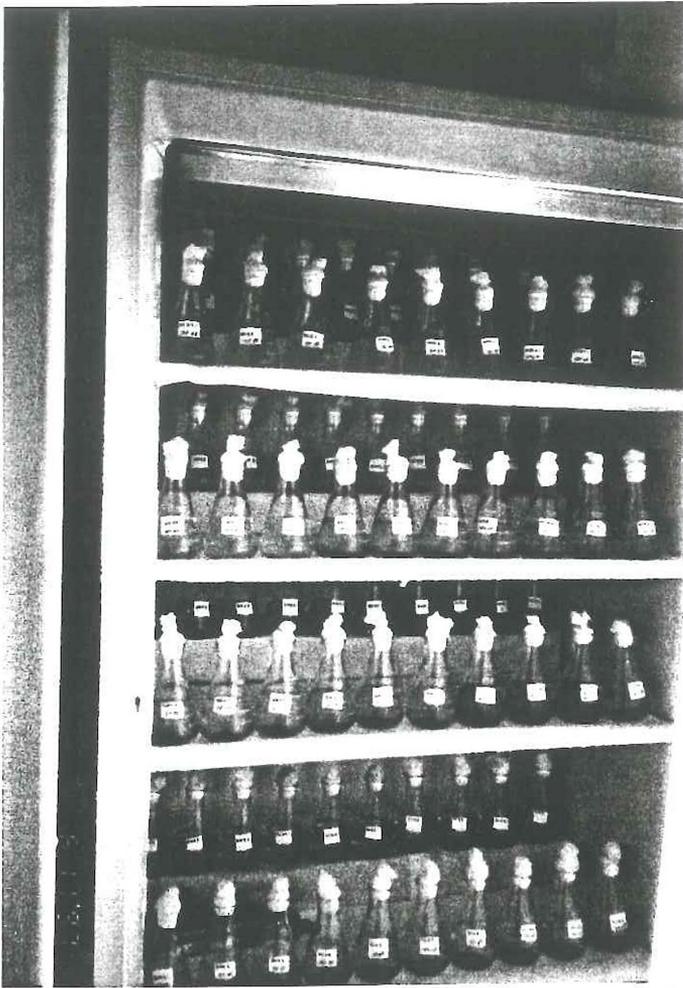


Fig.1. Cámara climática donde se mantuvieron los cultivos de microalgas bentónicas.

Tabla I. Cepas de microalgas bentónicas (Bacillariophyceae) evaluadas en el presente trabajo. Se especifica la procedencia y clave dentro del cepario del C.I.C.E.S.E.

Especie	Procedencia y sigla original	Clave y # de ficha	Clonal
<i>Amphora</i> cf. <i>catenula</i>	UP (7)	AM-C1	si
<i>Amphora</i> sp.	CICESE	AM-X1	no
<i>Amphora</i> sp.	CICESE	AM-X2	no
<i>Amphora</i> sp.	CICESE	AM-X3	no
<i>Navicula</i> cf. <i>cineta</i> Ehulch y Dor, 1985	UP (4)	NV-C1	si
<i>Navicula</i> cf. <i>cineta</i> Ehulch y Dor, 1985	UP (6)	NV-C2	si
<i>Navicula</i> cf. <i>cineta</i> Ehulch y Dor, 1985	UP (9)	NV-C3	si
<i>Nitzschia closterium</i> (Ehrenberg) Wm. Smith	CICESE	NI-C1	si
<i>Nitzschia closterium</i>	UP (10)	NI-C2	si
<i>Nitzschia</i> sp.	CICESE	NI-X1	si
<i>Nitzschia</i> sp.	CICESE	NI-X2	no
<i>Nitzschia</i> sp.	UP (8)	NI-X3	si
<i>Nitzschia</i> sp.	UP (2)	NI-X4	si
<i>Nitzschia</i> sp.	UP (5)	NI-X5	si

CICESE: Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada

UP: Universidad de Padova, Italia.

Los cultivos se mantuvieron en una cámara climática (VWR Scientific, modelo 2015 con variación de $\pm 1^\circ\text{C}$) (fig.1) durante diez días, tiempo en el cual los cultivos se encontraron en la fase de crecimiento exponencial (determinado en experimentos preliminares). La cámara se mantuvo con fotoperíodo luz-oscuridad de 12h:12h, exponiendo los cultivos a dos intensidades de luz, 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a tres diferentes temperaturas (15, 20 y 25 $^\circ\text{C}$). La luz fue proporcionada con lámparas fluorescentes de luz fría y de luz de día, la intensidad se midió con un irradiómetro (QSL-100 Biospherical

Instruments Inc.), los valores obtenidos fueron convertidos de quantas $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ a $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Para cada experimento se realizaron de tres a cinco repeticiones por cepa. La distribución de los matraces fue de acuerdo a un diseño aleatorio sistematizado (Hurlbert, 1984).

Los cultivos se agitaron diariamente de forma manual, una sola vez, con movimientos circulares suaves en ambos sentidos, tratando de no desprender el tapete de microalgas formado en el fondo del matraz.

Una vez transcurrido el tiempo de cultivo, el total de la biomasa producida fue cosechado.

III.2. Análisis de las muestras

Para estimar la densidad celular final (cél. ml^{-1}), al finalizar cada experimento, los cultivos fueron tratados con ultrasonido para romper los grumos y se tomó 1 ml de muestra. Después de esto, los cultivos se centrifugaron a 2000 r.p.m. durante diez minutos. Una vez eliminado el sobrenadante, el paquete celular se congeló en tubos de ensayo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para ser sometido finalmente al proceso de liofilización, con un liofilizador Labconco LypH.LOCK 6.

De la biomasa total obtenida, se tomaron muestras para determinar el peso seco total, peso seco orgánico y cenizas, así como para realizar las determinaciones bioquímicas de proteínas, carbohidratos, lípidos y para el análisis de ácidos grasos.

III.2.1. Peso seco total y peso seco orgánico

Para obtener el peso seco total se siguió el método de Sorokin (1973). Las muestras se secaron en una estufa de convección a 60 °C hasta obtener el peso seco constante, y se pesaron en una balanza analítica (Mettler AE 240 con precisión de 0.01 mg). Posteriormente, para determinar el contenido de cenizas se calcinaron en una mufla (Lindberg Bluem 828) a 490 °C durante 12 h. El peso seco orgánico se obtuvo de la diferencia entre el peso seco total y las cenizas. El peso seco total y el peso seco orgánico se expresaron en $\mu\text{g ml}^{-1}$ de cultivo y las cenizas en porcentaje.

III.2.2. Composición bioquímica

III.2.2.1. Proteínas, Carbohidratos y Lípidos

Las proteínas se determinaron por el método de Lowry *et al.* (1951), modificado por López-Elías (1990), previa extracción con hidróxido de sodio 0.2 N.

Los carbohidratos se analizaron por el método del fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956) modificado por López-Elías (1990), previa extracción con ácido sulfúrico 1 M (Whyte, 1987).

Los lípidos se extrajeron por el método de Bligh y Dyer (1959) y la determinación se realizó con el método de Pande *et al.* (1963).

Antes de realizar estos análisis, las microalgas recibieron un tratamiento con ultrasonido para romper totalmente las células.

Para cada uno de los análisis bioquímicos se realizaron curvas de calibración con los siguientes estándares: albúmina de bovino para proteínas, glucosa anhidra para carbohidratos y tripalmitina para lípidos.

La cuantificación de los diferentes compuestos se realizó con un espectrofotómetro (Shimadzu, UV-1201).

Los valores obtenidos se expresaron como porcentaje con base en el peso seco orgánico, para evitar una posible subestimación debido al contenido de cenizas en las muestras.

III.3.2.2. Ácidos grasos

Los análisis de los ácidos grasos se realizaron sólo con las siete cepas de microalgas bentónicas que lograron fijarse en el experimento a 25 °C, a las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y con fotoperíodo luz-oscuridad de 12h:12h. Se eligió este experimento, debido a que en él se fijaron mayor número de cepas (7).

La extracción de los lípidos se realizó por el método de Bligh y Dyer (1959). La fase lipídica se secó con nitrógeno, una vez que se le agregó el estándar interno (ácido triheptadecanoico, C_{17:0}) se sometió a metanólisis con 5 % de HCl en metanol durante 2.5 horas en baño maría a 85 °C (Sato y Murata, 1988). La extracción de los ácidos grasos se realizó con hexano grado HPLC y su determinación se hizo por medio de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) Hewlett Packard.

Para cada una de las cepas se analizaron de tres a cinco repeticiones, lo cual dependió de la cantidad de biomasa final obtenida en cada condición experimental. Para el análisis se utilizó una columna de tipo capilar, de sílica fundida, de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 mm de espesor de película (Omegawax TM 250).

Las condiciones del análisis fueron: 1 μl de volumen de inyección, como gas transportador se utilizó helio con pureza del 99% y flujo de 0.8 ml min^{-1} , la razón de dispersión fue 1:99, el tiempo de no dispersión de un minuto, la temperatura inicial fue de 35° C durante un minuto y se incrementó a 35 °C min^{-1} hasta alcanzar 200 °C, donde se mantuvo por 45 minutos.

Los ácidos grasos fueron identificados comparando los espectros de masas con los espectros contenidos en la librería de espectros de masas WIST/NBS. Esta identificación se confirmó comparando los tiempos de retención de los picos con los tiempos de retención de un patrón comercial de metil-ésteres de ácidos grasos poliinsaturados (Kit de ácidos grasos poliinsaturados, SIGMA).

Para el cálculo de la concentración de los ácidos grasos presentes en las muestras, se integró manualmente el área bajo los picos en los espectros, que en el sistema GC-MS es directamente proporcional a la masa.

La nomenclatura utilizada para los ácidos grasos fue de la forma 16:2; donde el "16" indica el número de átomos de carbono, el "2" indica el número de insaturaciones y n-3 indica la posición de la primer doble ligadura. El resultado de las concentraciones se expresó de tres formas: en μg de ácido graso por mg de muestra liofilizada (con base en el peso seco

orgánico); en porcentaje con base en el total de ácidos grasos y en porcentaje con base en el total de lípidos.

Los análisis de ácidos grasos se realizaron en las instalaciones del CIBNOR unidad La Paz, B. C. Sur, con el apoyo y supervisión de la Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega.

III.3. Análisis Estadísticos

Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete de cómputo “Statistica 4.5 para Windows” (StatSoft, Inc., 1993).

Se comprobó la homocedasticidad y la normalidad de los residuos para cada variable de respuesta. En dos casos (para el porcentaje de proteínas) en los que el supuesto de homogeneidad de varianzas no se cumplió, se realizó una transformación de los datos con logaritmo de base diez.

Para identificar las diferencias significativas entre los tratamientos experimentales, tres niveles de temperatura y dos intensidades de luz, con respecto al peso seco total, peso seco orgánico, cenizas y la composición bioquímica (proteínas, carbohidratos y lípidos), se realizaron análisis de varianza de dos vías ($\alpha=0.05$).

Cuando se detectaron diferencias significativas, se evaluaron estas diferencias con una prueba de Tuckey HSD (diferencia significativa honesta) ($\alpha=0.05$) para comparaciones múltiples con número diferente de repeticiones.

Para determinar diferencias significativas entre los valores promedio de ácidos grasos obtenidos a las dos intensidades de luz, en el experimento a 25°C, se utilizó una prueba t de

Student ($\alpha=0.05$). Cuando no se cumplieron los supuestos de homocedasticidad y normalidad de residuos, se hizo un análisis no paramétrico utilizando la prueba U de Mann-Whitney.

IV. RESULTADOS

IV. 1. Tamaño celular

El tamaño celular varió entre las cepas de microalgas bentónicas analizadas (de 2.7 μm a 70.2 μm). En las tablas II, III y IV se muestra el intervalo de tamaño encontrado para cada cepa. Las menores longitudes se presentaron en las tres cepas del género *Navicula* cuyo tamaño fue de 2.7 a 8.1 μm . El tamaño del género *Amphora* fue de 8.1 a 24.3 μm . El género con mayor variación fue *Nitzschia*, los tamaños fluctuaron desde 2.7 hasta 70.2 μm .

IV. 2. Crecimiento y fijación

En las tablas II, III y IV se presentan, para cada cepa, las condiciones de cultivo donde hubo crecimiento y se señalan las cepas que se fijaron al fondo de los matraces.

La cepa *Navicula* c.f. *cincta* (NV-C3) presentó sólo un crecimiento ligero, *Nitzschia closterium* (NI-C2) no creció en ninguna de las condiciones ensayadas y las demás cepas presentaron un buen crecimiento en, al menos, una de las condiciones de cultivo. La fijación de estas cepas fue diferente bajo las distintas condiciones: a ambas intensidades de luz las cepas NV-C2, NI-C1, NI-X2, NI-X3 y AM-C1 presentaron fijación a 15, 20 y 25 °C; NI-X5 presentó fijación a 20 y 25 °C, NV-C1 se fijó a 25 °C y las cepas AM-X1, AM-X2, AM-X3, NI-X1 y NI-X4 presentaron una fijación ligera.

Tabla II. Clave, tamaño (μm) y fijación de las microalgas bentónicas del género *Navicula* expuestas a diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e intensidades de luz ($\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Cepa	Clave	Tamaño	T $^{\circ}\text{C}$	Luz	Fijac.
<i>Navicula c.f. cincta</i>	NV-C1	2.7-5.4	25	80	SI
				160	SI
<i>Navicula c.f. cincta</i>	NV-C2	5.4-8.1	15	80	SI
				160	SI
			20	80	SI
				160	SI
			25	80	SI
160	SI				
<i>*Navicula c.f. cincta</i>	NV-C3	5.4	20	—	NO
			25	—	NO

*: No creció en las condiciones ensayadas.

Tabla III. Clave, tamaño (μm) y fijación de las microalgas bentónicas del género *Amphora* expuestas a diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e intensidades de luz ($\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Cepa	Clave	Tamaño	T $^{\circ}\text{C}$	Luz	Fijac.
<i>Amphora catenula</i>	AM-C1	8.1-16.2	15	80	SI
				160	SI
			20	80	SI
				160	SI
			25	80	SI
160	SI				
<i>Amphora sp.</i>	AM-X1	10.8 - 24.3	20	80	NO
				160	LIGERA
<i>Amphora sp.</i>	AM-X2	8.1 - 24.3	20	80	NO
				160	LIGERA
<i>Amphora sp.</i>	AM-X3	8.1 - 24.3	20	80	NO
				160	LIGERA

Tabla IV. Clave, tamaño (μm) y fijación de las microalgas bentónicas del género *Nitzschia* expuestas a diferentes temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e intensidades de luz ($\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Cepa	Clave	Tamaño	T $^{\circ}\text{C}$	Luz	Fijac.
<i>Nitzschia closterium</i>	NI-C1	48.6 - 70.2	15	80	SI
				160	SI
			20	80	SI
				160	SI
			25	80	SI
				160	SI
<i>*Nitzschia closterium</i>	NI-C2	—	—	—	—
<i>Nitzschia</i> sp.	NI-X1	5.4 - 8.1	20	80	NO
				160	LIGERA
<i>Nitzschia</i> sp.	NI-X2	5.4-10.8	15	80	SI
				160	SI
			20	80	SI
				160	SI
			25	80	SI
				160	SI
<i>Nitzschia</i> sp.	NI-X3	2.7-8.1	15	80	SI
				160	SI
			20	80	SI
				160	SI
			25	80	SI
				160	SI
<i>Nitzschia</i> sp.	NI-X4	18.9 - 32.4	20	80	NO
				160	LIGERA
<i>Nitzschia</i> sp.	NI-X5	5.4-10.8	20	80	SI
				160	SI
			25	80	SI
				160	SI

*: No creció en las condiciones ensayadas.

IV. 3. *Navicula c.f. cincta* (NV-C1)

Esta cepa sólo creció a 25 °C, en ambas intensidades de luz.

IV. 3. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla V se presenta el valor promedio de la densidad celular final, en número de cél. ml⁻¹, a los diez días de cultivo. La densidad mayor se observó a la mayor intensidad de luz (160 µmoles fotón m⁻²s⁻¹).

En cuanto a la apariencia final de los cultivos, se formó un tapete de microalgas en el fondo de los matraces acompañado de formación de grumos con un tamaño promedio menor a 0.5 mm, en ambas intensidades de luz.

Tabla V. Densidad celular final promedio (cél.ml⁻¹) y apariencia de los cultivos de la microalga bentónica *Navicula c.f. cincta* (NV-C1) cultivada a 25 °C y a 80 y 160 µmoles fotón m⁻²s⁻¹. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
25	80	3,005,000 (173,853)	Grumos < 0.5 mm.
	160	4,316,450 (484,017)	Grumos < 0.5 mm.

IV. 3. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla VI se muestran los resultados de la biomasa final promedio (µg ml⁻¹), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.), en las diferentes

condiciones de cultivo. Los valores promedio finales del peso seco total fueron 82.57 y 130.39 $\mu\text{g ml}^{-1}$ a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente y del peso seco orgánico fueron 32.08 y 49.71 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente.

Tanto para el peso seco total como para el peso seco orgánico se observó que la biomasa fue mayor en la mayor intensidad de luz.

Para ambas determinaciones la diferencia fue significativa, para el peso seco total ($p=0.018$) y para el peso seco orgánico ($p=0.0005$).

Tabla VI. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Navicula c.f. cincta* (NV-C1) cultivada a 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
25	80	82.57 (19.68)	32.08 (1.80)
	160	130.39 (9.21)	49.71 (2.38)

*: diferencia significativa en las intensidades de luz

IV. 3. 3. Composición bioquímica

IV. 3. 3. 1. Proteínas, Carbohidratos y Lípidos

El porcentaje promedio de proteínas (Tabla VII) a 25 °C fue mayor de 25.98 % en ambas intensidades de luz. Se observó que el porcentaje de proteínas fue mayor a la menor intensidad de luz, sin embargo, no fue estadísticamente diferente ($p=0.79$).

El porcentaje promedio final de carbohidratos fue mayor de 4.30% en ambas intensidades de luz. El porcentaje de carbohidratos mayor se observó a la mayor intensidad de luz, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($p=0.471$).

Tabla VII. Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Navicula* c.f. *cincta* (NV-C1) cultivada a 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis

T°C	Luz	% Proteínas	%Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
25	80	26.67 (4.30)	4.30 (0.86)	28.12 (7.86)	38.38 (4.52)	97
	160	25.98 (0.97)	5.49 (1.84)	39.16 (6.70)	38.17 (1.38)	109

El porcentaje promedio final de lípidos fue mayor de 28.12 %, para las dos intensidades de luz. El mayor porcentaje de lípidos se observó a la mayor intensidad de luz, aunque estadísticamente no fue diferente ($p=0.137$).

IV. 3. 3. 4. Cenizas

Los porcentajes finales de cenizas fluctuaron alrededor del 38.0 %, para ambas intensidades de luz y no fueron diferentes estadísticamente ($p=0.06$).

IV. 3. 3. 5. Ácidos grasos

En la tabla VIII se muestran los resultados de los ácidos grasos a 25 °C, para las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Entre los ácidos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0; de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron el

16:1, 18:1 y el 20:1 y de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron el 18:2, 18:3, 20:4 y 22:6.

Tabla VIII. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Navicula* c.f. *cincta* (NV-C1) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		% del total de ác.grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	8.92 (0.83)	7.04 (1.99)	15.27 (0.23)	12.60 (1.54)	1.09 (0.07)	1.15 (0.22)
16:0	36.59 (3.34)	37.91 (15.63)	62.63 (0.83)	65.49 (2.21)	4.47 (0.30)	6.20 (2.27)
16:1	9.02 (0.34)	9.29 (3.53)	15.48 (0.72)	16.19 (0.02)	1.10 (0.06)	1.52 (0.50)
18:0	1.25 (0.16)*	0.84 (0.13)	2.15 (0.29)	1.56 (0.38)	0.15 (0.03)	0.14 (0.02)
18:1	0.43 (0.06)	0.58 (0.14)	0.73 (0.07)	1.05 (0.19)	0.05 (0.008)	0.10 (0.02)
18:2	0.53 (0.09)	0.51 (0.29)	0.91 (0.08)	0.84 (0.18)	0.06 (0.009)	0.06 (0.01)
18:3	0.41 (0.06)	0.45 (0.16)	0.70 (0.05)	0.78 (0.03)	0.05 (0.004)	0.07 (0.02)
20:1	0.64 (0.09)	0.87	1.12 (0.04)	1.52	0.08 (0.001)	0.12
20:4	0.42 (0.52)	0.45 (0.01)	0.69 (0.85)	0.91 (0.47)	0.05 (0.06)	0.08 (0.01)
22:6	0.52 (0.16)	0.31 (0.13)	0.91 (0.37)	0.56 (0.07)	0.06 (0.02)	0.06 (0.02)
Saturados	46.76	45.79	80.05	79.65	5.71	7.49
Monoinsat	10.09	10.74	17.33	18.76	1.23	1.74
Poliinsat.	1.88	1.72	3.21	3.09	0.22	0.27
Total	58.73	58.25	100.59	101.5	7.16	9.5

*: diferencia entre los tratamientos a las dos intensidades de luz.

Los ácidos grasos con las concentraciones mayores (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con un intervalo de valores promedio de 12.60 a 65.49 %, los

ácidos grasos 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3 con intervalo de 0.70 a 2.15 % y en los ácidos grasos 20:1, 20:4 y 22:6 de 0.56 a 1.52 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 3.21 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 3.09 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La suma total de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 7.16 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 9.5 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La fracción que tuvieron los ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.22 % y 0.27 %, para la menor y mayor intensidad de luz, respectivamente.

La concentración total de los ácidos grasos (en $\mu\text{g mg}^{-1}$) fue de 58.73 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 58.25 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de los ácidos grasos poliinsaturados fue 1.88 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y 1.72 $\mu\text{g mg}^{-1}$ para cada intensidad de luz, respectivamente.

No se encontró diferencia significativa entre los promedios de los ácidos grasos ($\mu\text{g mg}^{-1}$) a las dos intensidades de luz ($0.15 \leq p \leq 0.90$), a excepción del ácido 18:0 ($p=0.02$) (Tabla VIII).

IV. 4. *Navicula c.f. cincta* (NV-C2)

IV. 4. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla IX se presenta la densidad celular final promedio de los cultivos, en núm. de cél. ml^{-1} , a los diez días. Las mayores densidades (3,102,000 y 3,281,666 cél. ml^{-1}) se

obtuvieron a 20 °C, para cada intensidad de luz. En las tres temperaturas, se observó que la densidad celular fue mayor a la mayor intensidad de luz.

En cuanto a la apariencia final de los cultivos, en el fondo de los matraces se formó un tapete de microalgas, acompañado de grumos con tamaño promedio de 2 mm, para todas las condiciones experimentales.

Tabla IX. Densidad celular final promedio (cél. ml⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica *Navicula c.f. cincta* (NV-C2) cultivada a 15, 20 y 25 °C, y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
15	80	1,497,750 (177,410)	Grumos de 2 mm.
	160	1,728,125 (273,933)	Grumos de 2 mm.
20	80	3,102,000 (483,249)	Grumos de 2 mm.
	160	3,281,666 (283,735)	Grumos de 2 mm.
25	80	2,189,583 (140,781)	Grumos de 2 mm.
	160	2,612,500 (249,349)	Grumos de 2 mm.

IV. 4. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla X se muestran los resultados de la biomasa final promedio ($\mu\text{g ml}^{-1}$), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) para las diferentes condiciones de cultivo.

Los valores promedio mayores de peso seco total y peso seco orgánico, se encontraron a 20 °C. Los valores para el peso seco total fueron de 114.73 y 159.04 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y para el peso seco orgánico de 49.77 y 63.47 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

En las tres temperaturas se observó que el peso seco total y el peso seco orgánico fueron mayores a la mayor intensidad de luz.

Tabla X. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Navicula c.f. cincta* (NV-C2) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
		≠	≠
15	80 a	100.29 (14.11)	34.15 (4.47)
	160 b	121.14 (24.86)	42.09 (8.12)
20	80 c	*114.73 (6.04)	*49.77 (3.25)
	160 d	159.04 (23.91)	63.47 (13.59)
25	80 e	102.25 (4.84)	40.90 (3.39)
	160 f	120.33 (11.37)	47.67 (3.02)
P.S.T.		a c e b f	d
P.S.O.		a b e c f	d

*: diferencia en los niveles de temperatura.

≠: diferencia en las intensidades de luz

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz tanto para el peso seco total ($p < 0.01$) como para el peso seco orgánico ($p < 0.01$). Los valores obtenidos

a 20 °C fueron diferentes estadísticamente con respecto a 15 y 25 °C; entre estos dos últimos no existió diferencia (Tabla X).

Tanto para el peso seco total como para el peso seco orgánico se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes conformados por las mayores y menores biomásas. En ambos pesos, el tratamiento a 20 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con los mayores porcentajes) se separa del resto de los tratamientos (Tabla X).

IV. 4. 3. Composición bioquímica

IV. 4. 3. 1. Proteínas

El porcentaje promedio de proteínas (Tabla XI) varió entre 22.03 y 36.94 % (a 15°C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 20 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de proteínas se encontraron a 20 °C. En las tres temperaturas se observó que el porcentaje de proteínas fue mayor a la menor intensidad de luz.

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=0.00004$), donde el nivel a 20 °C fue significativamente mayor que los niveles a 15 y 25 °C, entre los cuales no hubo diferencia. Se forman tres grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 20 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el mayor porcentaje) se separa del tratamiento a 15 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla XI).

IV. 4. 3. 2. Carbohidratos

El porcentaje promedio de carbohidratos varió de 6.22 a 13.57 % (a 15 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). No se encontraron diferencias significativas en los factores temperatura y luz ($p>0.09$), por lo que se forma un sólo grupo homogéneo (Tabla XI).

Tabla XI. Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Navicula c.f. cincta* (NV-C2) cultivada a 15, 20 y 25 °C; y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T°C	Luz	% Proteínas	%Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
15	80 a	25.23 (1.78)	6.22 (1.36)	[≠] a34.34 (3.10)	*28.83 (1.91)	105
	160 b	22.03 (3.41)	8.04 (4.09)	42.71 (4.36)	29.82 (1.77)	103
20	80 c	*36.94 (3.83)	11.95 (6.72)	bc24.99 (3.38)	38.39 (1.92)	110
	160 d	33.41 (9.12)	12.25 (5.39)	26.39 (2.53)	34.56 (4.29)	107
25	80 e	25.70 (2.20)	6.52 (1.11)	ac20.67 (4.56)	33.70 (0.87)	87
	160 f	22.86 (1.09)	13.57 (2.78)	35.32 (18.45)	34.70 (1.32)	106
		Proteínas	b a	f e	d c	
		Carbohidratos	a b	c d	e f	
		Lípidos	b a	d f	c e	
		Cenizas	c d	e f	a b	d

*y letras en la izquierda de la columna de lípidos indican la diferencia en los niveles de temperatura.

≠: diferencia en las intensidades de luz

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

IV. 4. 3. 3. Lípidos

El porcentaje promedio de lípidos varió de 20.67 a 42.71 % (a 25°C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de lípidos se registraron a 15 °C, en ambas intensidades de luz y a 25 °C a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. En las tres temperaturas, el porcentaje de lípidos mayor se observó a la mayor intensidad de luz (Tabla XI).

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p < 0.02$). Los valores obtenidos a 15 °C fueron significativamente diferentes de 20 °C, entre este nivel y 25°C no existió diferencia. Se señalan dos grupos homogéneos con tratamientos comunes, donde el tratamiento a 15 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (que tuvo el mayor porcentaje) se separó de los tratamientos a 20 y 25 °C, ambos a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (que presentaron los menores porcentajes) (Tabla XI).

IV. 4. 3. 4. Cenizas

El porcentaje promedio final de cenizas varió de 28.83 a 38.39 % (a 15 y 20 °C, ambos a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p = 0.00004$). El nivel a 15 °C fue diferente de los niveles a 20 y 25 °C, entre los cuales no existió diferencia significativa. Se observaron tres grupos homogéneos que fueron comunes en algunos de los tratamientos, el tratamiento a 20 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con mayores porcentajes) se puede separar de otros tratamientos con menores porcentajes (Tabla XI).

IV. 4. 3. 5. Ácidos grasos

En la tabla XII se muestran los resultados de los ácidos grasos a 25 °C, para las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). De los ácidos grasos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0; de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron el 16:1, 18:1 y 20:1; y de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron al 18:2, 18:3, 20:4 y 22:6.

Tabla XII. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Navicula c.f. cincta* (NV-C2) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		% del total de ác.grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	15.54 (1.62)	14.38	9.57 (0.70)	8.78	1.58 (0.14)	3.42
16:0	115.76 (13.98)	116.67	71.08 (1.47)	71.19	19.27 (3.87)	27.74
16:1	24.45 (2.28)	24.29	15.04 (0.20)	14.82	4.06 (0.70)	5.78
18:0	2.39 (0.58)	2.38	1.46 (0.21)	1.45	0.40 (0.13)	0.57
18:1	0.87 (0.08)	0.95	0.54 (0.08)	0.58	0.14 (0.02)	0.23
18:2	0.46 (0.09)	0.49	0.28 (0.05)	0.30	0.08 (0.02)	0.12
18:3	1.72 (0.15)	2.16	1.07 (0.19)	1.32	0.28 (0.004)	0.51
20:1	1.08 (0.10)	1.05	0.70 (0.04)	0.64	0.17 (0.02)	0.25
20:4	0.41 (0.10)	0.48	0.27 (0.05)	0.30	0.07 (0.02)	0.12
22:6	0.72 (0.16)	1.02	0.47 (0.09)	0.62	0.11 (0.03)	0.24
Saturados	133.69	133.43	82.11	81.42	21.25	31.73
Monoinsat	26.4	26.29	16.28	16.04	4.37	6.26
Poliinsat.	3.31	4.15	2.09	2.54	0.54	0.99
Total	163.4	163.87	100.48	100.0	26.16	38.98

Los ácidos grasos con las concentraciones mayores (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con valores promedio entre 8.78 y 71.19 %; los ácidos 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3, tuvieron valores promedio de 0.28 a 1.46 % y las menores concentraciones en los ácidos grasos 20:1, 20:4 y 22:6 con variación de 0.27 a 0.70 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 2.09 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 2.54 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La suma de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 26.16% a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 38.98 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La fracción que representan los ácidos grasos poliinsaturados para cada intensidad de luz fue de 0.54% y de 0.99 %.

Las concentraciones totales de los ácidos grasos en $\mu\text{g mg}^{-1}$ fueron 163.4 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 163.87 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de los ácidos grasos poliinsaturados fue de 3.31 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y 4.15 $\mu\text{g mg}^{-1}$ para las dos intensidades de luz.

No se encontró diferencia significativa entre los valores promedio de los ácidos grasos para las dos intensidades de luz ($0.12 \leq P \leq 0.99$) (Tabla XII).

IV. 5. *Amphora catenula* (AM-C1)

IV. 5. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla XIII se presenta el valor promedio de la densidad celular final en número de cél. ml^{-1} , a los diez días de cultivo. Las mayores densidades (4,319,183 y 4,518,800

cél. ml⁻¹) se obtuvieron a 20 °C, a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Se observó que la densidad celular fue mayor a la mayor intensidad de luz, en las tres temperaturas.

En cuanto a la apariencia final de los cultivos, en el fondo de los matraces se formó un tapete de microalgas, acompañado de formación de grumos, a 15 °C con un tamaño promedio de 5 mm, y a 20 °C y 25 °C de 6 mm.

Tabla XIII. Densidad celular final promedio (cél. ml⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica *Amphora catenula* (AM-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
15	80	3,012,500 (505,388)	Grumos de 5 mm.
	160	3,128,125 (1,308,799)	Grumos de 5 mm.
20	80	4,319,183 (1,292,656)	Grumos de 6 mm.
	160	4,518,800 (556,691)	Grumos de 6 mm.
25	80	2,570,000 (415,579)	Grumos de 6 mm.
	160	3,257,500 (323,661)	Grumos de 6 mm.

IV. 5. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla XIV se muestran los resultados de la biomasa final promedio ($\mu\text{g ml}^{-1}$), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) en las diferentes condiciones de cultivo.

Los valores promedio mayores de peso seco total y peso seco orgánico se encontraron a 20 °C. Los valores para el peso seco total fueron de 167.53 y 217.35 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y de 79.21 y 105.77 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para el peso seco orgánico (a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

Se observó que en las tres temperaturas, el peso seco total y el peso seco orgánico fueron mayores a la mayor intensidad de luz.

Tabla XIV. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Amphora catenula* (AM-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
		≠	≠
15	80 a	134.70 (30.20)	59.46 (10.46)
	160 b	*168.09 (13.18)	*76.98 (8.73)
20	80 c	167.53 (12.25)	79.21 (5.66)
	160 d	217.35 (9.42)	105.77 (4.26)
25	80 e	169.47 (17.39)	79.84 (6.15)
	160 f	196.11 (9.98)	89.60 (17.75)
P.S.T.			
		a b c e	f d
P.S.O.			

*: diferencia en los niveles de temperatura.

≠: diferencia en las intensidades de luz.

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz tanto para el peso seco total como para el peso seco orgánico ($p < 0.01$). Los valores obtenidos a 15 °C fueron menores a los de 20 y 25 °C; entre estos últimos no hubo diferencia (Tabla XIV).

En las dos medidas de biomasa los tratamientos formaron tres grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 20 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con la biomasa mayor) se separa del tratamiento a 15 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con la menor biomasa) (Tabla XIV).

IV. 5. 3. Composición bioquímica

IV. 5. 3. 1. Proteínas

El porcentaje promedio de proteínas (Tabla XV) varió entre 30.06 y 37.40 % (a 20°C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). No se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p>0.35$), por lo que se forma sólo un grupo homogéneo (Tabla XV).

IV. 5. 3. 2. Carbohidratos

El porcentaje promedio final de carbohidratos varió de 8.98 a 24.91% (a 15 y 20°C, ambos a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Los mayores porcentajes se encontraron a 20°C.

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.0004$). El porcentaje de carbohidratos a 20°C fue mayor al de 15 y 25 °C; entre estos últimos no hubo diferencia significativa. Se observan dos grupos homogéneos con tratamientos comunes. El tratamiento a 20 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el mayor porcentaje) se separó de los dos tratamientos que presentaron los menores porcentajes (Tabla XV).

IV. 5. 3. 3. Lípidos

El porcentaje promedio final de lípidos varió de 14.45 a 18.67 % (a 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). No se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p>0.06$), por lo que se forma sólo un grupo homogéneo (Tabla XV).

Tabla XV. Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Amphora catenula* (AM-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T°C	Luz	% Proteínas	%Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
15	80 a	34.14 (1.95)	8.98 (6.06)	18.67 (1.24)	34.55 (2.44)	94
	160 b	32.23 (2.45)	12.27 (2.93)	16.22 (2.18)	35.71 (1.79)	96
20	80 c	30.06 (1.60)	*24.91(5.59)	18.09 (2.74)	37.31 (1.54)	110
	160 d	33.22 (8.93)	18.40 (4.99)	15.13 (1.97)	38.71 (2.35)	105
25	80 e	32.56 (4.78)	12.84 (0.69)	15.42 (2.05)	37.19 (1.46)	98
	160 f	37.40 (5.90)	16.67 (3.96)	14.45 (2.27)	35.46 (6.90)	104

Proteínas						
Lípidos		<u>a</u>	<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>	<u>e</u> <u>f</u>
Cenizas						
Carbohidratos		<u>a</u>	<u>b</u>	<u>e</u>	<u>d</u>	<u>f</u> <u>c</u>

*: diferencia en los niveles de temperatura.

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

IV. 5. 3. 4. Cenizas

El porcentaje promedio final de cenizas varió de 34.55 a 38.71 % (a 15 °C, en 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 20 °C, en 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). No se

encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p > 0.56$), por lo que se forma sólo un grupo homogéneo (Tablas XV).

IV. 5. 3. 4. Ácidos grasos

En la tabla XVI se muestran los resultados de ácidos grasos a 25°C, para las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). De los ácidos grasos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0; de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron al 16:1, 18:1 y el 20:1; y de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron al 18:2, 18:3, 20:3, 20:4 y al 22:6.

Los ácidos grasos con las mayores concentraciones (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con valores promedio de 16.43 y 42.07 %; los ácidos grasos 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3 con valores promedio de 0.52 y 1.33 % y por último, los ácidos grasos 20:1, 20:3 20:4 y 22:6 con valores de 0.92 y 7.15 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 11.24 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 10.89 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La suma total de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 12.65 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 16.49 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La fracción que representan los ácidos grasos poliinsaturados fue de 1.30 % y de 1.74%, a las dos intensidades de luz.

Las concentraciones totales de los ácidos grasos (en $\mu\text{g mg}^{-1}$) fueron de 48.2 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 54.33 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de los ácidos grasos poliinsaturados fue de 5.11 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y de 5.82 $\mu\text{g mg}^{-1}$, a las dos intensidades de luz.

No se encontró diferencia significativa entre los valores promedio de los ácidos grasos para las dos intensidades de luz ($0.06 \leq P \leq 0.80$) (Tabla XVI).

Tabla XVI. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Amphora catenula* (AM-C1) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg . de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		% del total de ác. grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	13.53 (5.51)	15.45 (0.50)	27.74 (2.90)	28.92 (0.93)	3.57 (1.35)	4.71 (0.86)
16:0	19.63 (6.38)	22.50 (1.26)	41.21 (2.07)	42.07 (1.34)	5.18 (1.48)	6.83 (1.06)
16:1	8.41 (2.92)	8.94 (0.43)	17.63 (1.02)	16.73 (0.67)	2.21 (0.64)	2.71 (0.40)
18:0	0.64 (0.20)	0.57 (0.08)	1.16 (0.15)	1.07 (0.13)	0.16 (0.03)	0.17 (0.02)
18:1	0.35 (0.05)	0.44 (0.16)	0.64 (0.06)	0.83 (0.30)	0.09(0.001)	0.14 (0.05)
18:2	0.26 (0.09)	0.36 (0.01)	0.52 (0.15)	0.68 (0.04)	0.07 (0.03)	0.11 (0.02)
18:3	0.63 (0.20)	0.66 (0.07)	1.33 (0.13)	1.23 (0.11)	0.17 (0.04)	0.20 (0.03)
20:1	0.64 (0.09)	0.61 (0.16)	1.19 (0.23)	1.15 (0.30)	0.17 (0.01)	0.19 (0.07)
20:3	nd	0.48	nd	0.92	nd	0.15
20:4	1.05 (0.31)	1.51 (0.44)	2.24 (0.82)	2.79 (0.79)	0.21 (0.04)	0.42 (0.13)
22:6	3.17 (0.42)	2.81 (0.83)	7.15 (2.14)	5.27 (1.53)	0.85 (0.18)	0.86 (0.32)
Saturados	33.8	38.52	70.11	72.06	8.91	11.71
Monoinsat.	9.29	9.99	19.35	18.71	2.44	3.04
Poliinsat.	5.11	5.82	11.24	10.89	1.30	1.74
Total	48.2	54.33	100.70	101.66	12.65	16.49

nd: no determinado

IV. 6. *Nitzschia closterium* (NI-C1)

IV. 6. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla XVII se presenta la densidad celular final promedio de los cultivos en número de cél. ml^{-1} a los diez días de cultivo. Las densidades mayores (1,692,500 y

2,082,500 cél. ml⁻¹) se encontraron a 25 °C, en las dos intensidades de luz, respectivamente. Para las tres temperaturas, se observó que la densidad celular fue mayor a la mayor intensidad de luz.

En cuanto a la apariencia final de los cultivos, en el fondo de los matraces se formó un tapete de microalgas con formación de grumos, con un tamaño promedio de 3 mm a 15 y 20 °C, y de 4 mm a 25 °C.

Tabla XVII. Densidad celular final promedio (cél. ml⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica *Nitzschia closterium* (NI-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C, a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
15	80	803,125 (167,500)	grumos de 3 mm.
	160	1,000,000 (36,800)	grumos de 3 mm.
20	80	1,361,250 (106,950)	grumos de 3 mm.
	160	1,655,500 (269,200)	grumos de 3 mm.
25	80	1,692,500 (309,900)	grumos de 4 mm.
	160	2,082,500 (137,545)	grumos de 4 mm.

IV. 6. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla XVIII se muestran los resultados de la biomasa final promedio ($\mu\text{g ml}^{-1}$), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) en las diferentes condiciones de cultivo.

Los valores promedio mayores de peso seco total y peso seco orgánico, se encontraron a 25 °C. Con valores para el peso seco total de 258.27 y 292.42 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y para el peso seco orgánico de 102.18 y 128.08 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

Tabla XVIII. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Nitzschia closterium* (NI-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
		≠	≠
15	80 a	203.22 (16.76)	91.67 (6.82)
	160 b	242.12 (10.00)	99.38 (2.68)
20	80 c	194.83 (19.82)	85.37 (9.36)
	160 d	225.37 (6.40)	104.57 (6.13)
25	80 e	258.27 (6.83)	102.18 (8.75)
	160 f	*292.42 (8.52)	*128.08 (3.21)
P.S.T.		<u>c</u> <u>a</u> d b	e <u>f</u>
P.S.O.		d <u>a</u> b <u>e</u>	c <u>f</u>

*: diferencia en los niveles de temperatura.

≠: diferencia en las intensidades de luz.

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

Se observó que en las tres temperaturas, el peso seco total y el peso seco orgánico fueron mayores a la mayor intensidad de luz.

Se encontraron diferencias significativas en los factores temperatura y luz, tanto para el peso seco total como para el peso seco orgánico ($p < 0.001$). Los valores obtenidos a 25 °C fueron mayores a los de 15 y 20 °C, entre estos últimos no hubo diferencia (Tabla XVIII).

Para el peso seco total se formaron cuatro grupos homogéneos con tratamientos comunes, donde los tratamientos a 25 °C (con las biomásas mayores) se separan de los tratamientos a 15 y 20°C a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con las menores biomásas). En el peso seco orgánico se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes que se separan completamente del tratamiento a 25 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, con el que se obtuvo la biomasa mayor (Tabla XVIII).

IV. 6. 3. Composición bioquímica

IV. 6. 3. 1. Proteínas

El porcentaje promedio de proteínas (Tabla XIX) varió entre 24.97 y 33.02 % (a 20°C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de proteínas se encontraron en los niveles de 15 y 25 °C. Se observó que para las tres temperaturas, el porcentaje de proteínas fue mayor a la menor intensidad de luz.

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p \leq 0.039$). Para la temperatura se observó que los porcentajes obtenidos a 20 °C fueron menores a los de 15 y 25 °C, entre los cuales no hubo diferencia significativa. Se formaron tres grupos

homogéneos con tratamientos comunes, los dos tratamientos a 15 °C, y a 25 °C (con los porcentajes menores) se separan de los tratamientos a 20 °C (Tabla XIX).

Tabla XIX. Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Nitzschia closterium* (NI-C1) cultivada a 15, 20 y 25 °C; a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T°C	Luz	%Proteínas	%Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
15	80 a	\neq 33.02 (1.60)	\neq 8.51 (1.82)	\neq 21.70 (1.36)	45.18 (2.49)	108
	160 b	30.97 (2.63)	8.20 (2.03)	19.91 (2.54)	41.08 (1.50)	90
20	80 c	26.75 (2.21)	7.13 (1.82)	21.21 (3.62)	43.80 (0.88)	99
	160 d	*24.97 (0.85)	7.83 (1.63)	15.16 (0.89)	*48.06 (1.62)	96
25	80 e	32.37 (1.09)	11.81 (0.08)	8.64 (4.02)	39.55 (2.98)	92
	160 f	31.07 (2.00)	3.94 (1.86)	*5.29 (0.63)	43.83 (1.77)	84
Proteínas			a b	e f	c d	
Carbohidratos			e a	b c	d f	
Lípidos			c a	b d	e f	
Cenizas			d a	f c	b e	

*: diferencia en los niveles de temperatura.

\neq : diferencia en las intensidades de luz

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

IV. 6. 3. 2. Carbohidratos

El porcentaje promedio final de carbohidratos varió de 3.94 a 11.81% (a 25 °C, para 160 y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). El porcentaje de carbohidratos mayor se observó a la menor intensidad de luz, a excepción del nivel a 20 °C (Tabla XIX).

Solo se encontró diferencia significativa en el factor luz ($p=0.006$). Se observan dos grupos homogéneos en los cuales dos tratamientos no son comunes, uno a 25 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el porcentaje mayor) y el otro a la misma temperatura y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el porcentaje menor) (Tabla XIX).

IV. 6. 3. 3. Lípidos

El porcentaje promedio final de lípidos varió de 5.29 a 21.70 % (a 25 °C, en 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, en 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de lípidos se registraron a 15 y 20 °C. Se observó que para las tres temperaturas el porcentaje de lípidos fue mayor a la menor intensidad de luz (Tabla XIX).

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p<0.01$). En cuanto a la temperatura, los valores obtenidos a 25 °C fueron menores que los de 15 y 20 °C, entre los cuales no existió diferencia significativa. Se formaron cuatro grupos homogéneos con tratamientos comunes, los dos tratamientos a 15 °C y el tratamiento a 20 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con los mayores porcentajes) se separan completamente de los tratamientos a 25 °C (Tabla XIX).

IV. 6. 3. 4. Cenizas

El porcentaje promedio de cenizas varió de 39.55 a 48.06% (a 25°C, en 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 20 °C, en 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Se observó que el porcentaje de cenizas fue mayor a la mayor intensidad de luz, a excepción del nivel a 15 °C (Tabla XIX).

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=0.001$). Los valores a 20 °C fueron mayores a los obtenidos a 15 y 25 °C, entre los cuales no existió diferencia significativa. Se formaron tres grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 20 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el mayor porcentaje) se separa del tratamiento a 25 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla XIX).

IV. 6. 3. 5. Ácidos grasos

En la tabla XX se muestran los resultados de ácidos grasos a 25 °C, para las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). De los ácidos grasos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0; de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron el 16:1, 18:1 y el 20:1, por último de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron el 18:2, 18:3, 20:4 y 22:6.

Los ácidos grasos con las concentraciones mayores (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con valores promedio de 8.90 y 51.33 %; los ácidos, 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3 tuvieron valores promedio de 0.27 y 1.82 % y los ácidos grasos 20:1, 20:4 y 22:6 con valores entre 0.59 a 2.47 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 5.53 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 5.97 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Tabla XX. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Nitzschia closterium* (NI-C1) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		% del total de ác.grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	23.04 (3.79)	20.14 (3.97)	51.33 (1.12)	47.96 (4.33)	6.86 (0.66)	5.87 (1.70)
16:0	15.09 (2.29)	14.79 (3.58)	33.67 (1.61)	34.90 (3.77)	4.50 (0.48)	3.62 (1.22)
16:1	3.98 (0.50)	3.84 (0.98)	8.90 (0.53)	9.03 (0.73)	1.19 (0.09)	0.96 (0.39)
18:0	0.70 (0.12)	0.75 (0.20)	1.56 (0.20)	1.82 (0.53)	0.21 (0.03)	0.18 (0.04)
18:1	nd	0.12 (0.02)	nd	0.28 (0.02)	nd	0.02(0.003)
18:2	0.60 (0.11)	0.69 (0.14)	1.36 (0.32)	1.64 (0.26)	0.18 (0.03)	0.17 (0.04)
18:3	0.12 (0.02)	0.18 (0.06)	0.27 (0.04)	0.42 (0.10)	0.04 (0.01)	0.04 (0.02)
20:1	0.30 (0.01)	0.31 (0.09)	0.59 (0.10)	0.76 (0.22)	0.08 (0.01)	0.09 (0.04)
20:4	0.67 (0.27)	0.62 (0.13)	1.43 (0.28)	1.60 (0.26)	0.20 (0.06)	0.15 (0.05)
22:6	1.18 (0.74)	0.95 (0.18)	2.47 (1.06)	2.31 (0.62)	0.34 (0.19)	0.24 (0.09)
Saturados	38.83	35.68	86.56	84.68	11.57	9.67
Monoinsat.	4.28	4.27	9.49	10.07	1.27	1.07
Poliinsat.	2.57	2.44	5.53	5.97	0.76	0.6
Total	45.68	42.39	101.58	100.72	13.60	11.34

nd: no determinado

La suma total de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 13.6 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 11.34 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La

fracción que representan los ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.76 % y 0.6 %, a las dos intensidades de luz.

Las concentraciones totales de los ácidos grasos (en $\mu\text{g mg}^{-1}$) fueron de 45.68 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 42.39 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 2.57 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y 2.44 $\mu\text{g mg}^{-1}$, a las dos intensidades de luz.

No se encontró diferencia significativa entre los valores promedio de los ácidos grasos para las dos intensidades de luz ($0.23 \leq P \leq 0.89$) (Tabla XX).

IV. 7. *Nitzschia* sp. (NI-X2)

IV. 7. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla XXI se presenta la densidad celular final promedio de los cultivos, en número de cél. ml^{-1} a los diez días de cultivo. Las mayores densidades (1,145,000 y 1,267,500 cél. ml^{-1}) se encontraron a 25 °C en las dos intensidades de luz, respectivamente. A excepción del nivel a 20 °C , la densidad celular fue mayor a la mayor intensidad de luz.

Con respecto a la apariencia final de los cultivos, en el fondo de los matraces se formó un tapete de microalgas acompañado de formación de grumos, con tamaño promedio de 0.5 mm, excepto los cultivos a 25 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. que tuvo 2.0 mm.

Tabla XXI. Densidad celular final promedio (cél. ml⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X2) cultivada a 15, 20 y 25 °C, a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
15	80	462,500 (48,947)	Grumos de 0.5 mm.
	160	859,375 (211,487)	Grumos de 0.5 mm.
20	80	1,170,890 (207,431)	Grumos de 0.5 mm.
	160	1,059,910 (204,717)	Grumos de 0.5 mm.
25	80	1,145,000 (214,024)	Grumos de 2.0 mm.
	160	1'267,500	Grumos de 0.5 mm.

IV. 7. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla XXII se muestran los resultados de la biomasa final promedio ($\mu\text{g ml}^{-1}$), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) en las diferentes condiciones de cultivo.

Los valores promedio mayores de peso seco total y peso seco orgánico se encontraron a 25°C. Para el peso seco total los valores fueron de 153.35 y 183.53 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y para el peso seco orgánico de 73.89 y 88.43 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

En las tres temperaturas, se observó que el peso seco total y el peso seco orgánico fueron mayores a la mayor intensidad de luz, a excepción del peso seco total a 15 °C (Tabla XXII).

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz, tanto para el peso seco total ($p \leq 0.03$) como para el peso seco orgánico ($p \leq 0.01$). Los valores obtenidos

a 25 °C fueron mayores a los de 15 y 20 °C; entre estos últimos no hubo diferencia significativa (Tabla XXII).

Tabla XXII. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X2) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)				P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	
		≠				≠	
15	80 a	129.65 (10.15)				*41.52 (2.23)	
	160 b	116.58 (4.86)				44.70 (4.94)	
20	80 c	124.81 (10.13)				*51.68 (9.03)	
	160 d	157.89 (11.70)				63.71 (4.05)	
25	80 e	*153.35 (26.82)				*73.89 (10.67)	
	160 f	183.53 (30.55)				88.43 (12.50)	
P.S.T.		<u>a</u>	<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>	<u>e</u>	<u>f</u>
P.S.O.		<u>a</u>	<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>	<u>e</u>	<u>f</u>

*: diferencia en los niveles de temperatura

≠: diferencia en las intensidades de luz

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

Para el peso seco total se forman dos grupos homogéneos con tratamientos comunes, donde el tratamiento a 25 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con la biomasa mayor) se separa de los dos tratamientos a 15°C y el tratamiento a 20°C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla XXII).

Para el peso seco orgánico se formaron cuatro grupos homogéneos con tratamientos comunes, donde los dos tratamientos a 25 °C (con las biomásas mayores) se separan de los dos tratamientos a 15 °C y el tratamiento a 20 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla XXII).

IV. 7. 3. Composición bioquímica

IV. 7. 3. 1. Proteínas

El porcentaje promedio de proteínas (Tabla XXIII) varió entre 20.92 y 39.20 % (a 15 °C, en 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 20 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes se encontraron a 20 °C. El porcentaje de proteínas mayor se observó a la menor intensidad de luz, a excepción de los tratamientos a 15 °C.

Sólo se encontró diferencia significativa entre los niveles de temperatura ($p=0.00$). Se formaron cinco grupos homogéneos, donde los dos tratamientos a 20 °C (con los mayores porcentajes) se separan completamente de los dos tratamientos a 15 °C (Tablas XXIII).

IV. 7. 3. 2. Carbohidratos

El porcentaje promedio final de carbohidratos varió de 8.79 a 15.06 % (a 15 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 20 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes se encontraron a 20 °C. El porcentaje de carbohidratos mayor se observó a la menor intensidad de luz, a excepción de los porcentajes a 25 °C (Tabla XXIII).

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=0.02$). Los tratamientos a 20 °C fueron mayores que los porcentajes a 15 °C, sin embargo, se forma sólo un grupo homogéneo (Tabla XXIII).

Tabla XXIII. Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X2) cultivada a 15, 20 y 25 °C; y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	% Proteínas	% Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
15	80 a	*20.92 (1.87)	a10.60 (3.65)	34.55 (4.66)	32.93(2.72)	99
	160 b	24.30 (0.55)	8.79 (2.11)	29.17 (2.93)	39.32 (3.02)	102
20	80 c	*39.20 (3.50)	bc15.06(2.38)	24.86 (2.67)	*31.16 (4.50)	110
	160 d	35.22 (2.30)	12.88 (3.64)	28.30 (5.86)	30.47 (3.08)	107
25	80 e	*29.82 (1.69)	ac10.58 (1.32)	27.62 (1.38)	38.36 (2.11)	106
	160 f	26.55 (0.26)	13.29 (3.76)	32.60 (7.10)	38.37 (2.48)	110
		Proteínas	c d	e f	b a	
		Carbohidratos	a b	c d	e f	
		Lípidos				
		Cenizas	c d	a e	f b	

* y letras en la izquierda de la columna de carbohidratos: diferencia en los niveles de temperatura
Líneas horizontales: grupos homogéneos entre los tratamientos (a-f).

IV. 7. 3. 3. Lípidos

El porcentaje promedio final de lípidos varió de 24.86 a 34.55 % (a 20 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores

porcentajes se encontraron a 15 °C. Se observó que a mayor intensidad de luz es mayor el porcentaje de lípidos, a excepción de los porcentajes a 15 °C (Tabla XXIII).

No se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p>0.08$), por lo que se forma sólo un grupo homogéneo (Tabla XXIII).

IV. 7. 3. 4. Cenizas

El porcentaje promedio final de cenizas varió de 30.47 a 39.32 % (a 20 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=0.0005$). Los valores a 20 °C fueron menores a los obtenidos a 15 y 25 °C, entre los cuales no existió diferencia. Se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 15°C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el mayor porcentaje) se separa de los dos tratamientos a 20 °C (Tabla XXIII).

IV. 7. 3. 5. Ácidos grasos

En la tabla XXIV se muestran los resultados de ácidos grasos a 25 °C, para las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). De los ácidos grasos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0, de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron el 16:1 y 18:1, por último de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron el 18:2, 18:3, 20:3, 20:4 y 22:6.

Tabla XXIV. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X2) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis .

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		% del total de ác.grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	39.28 (3.70)	39.12 (8.13)	15.13 (0.54)	15.37 (0.29)	5.24 (0.53)	5.94 (0.86)
16:0	168.93 (9.18)	164.56 (34.58)	65.19 (0.75)	64.67 (0.68)	22.52 (1.57)	25.01 (3.92)
16:1	44.98 (2.50)	43.97 (10.14)	17.36 (0.53)	17.23 (0.34)	5.99 (0.23)	6.67 (1.10)
18:0	2.69 (0.38)	2.23 (0.47)	1.04 (0.19)	0.88 (0.009)	0.36 (0.04)	0.34 (0.05)
18:1	0.58 (0.08)	0.54 (0.14)	0.22 (0.03)	0.21 (0.01)	0.08 (0.01)	0.08 (0.02)
18:2	0.71 (0.04)	0.65 (0.11)	0.28 (0.03)	0.26 (0.03)	0.09 (0.002)	0.10 (0.02)
18:3	0.83 (0.04)	0.85 (0.21)	0.32 (0.01)	0.34 (0.01)	0.11 (0.01)	0.13 (0.02)
20:3	1.20	0.15	0.44	0.07	0.15	0.03
20:4	0.73 (0.16)	1.33 (0.61)	0.27 (0.06)	0.51 (0.12)	0.10 (0.02)	0.20 (0.08)
22:6	0.33 (0.17)	0.52 (0.10)	0.13 (0.06)	0.24 (0.06)	0.04 (0.02)	0.04 (0.02)
Saturados	210.9	205.91	81.36	80.92	28.12	31.29
Monoinsat	45.56	44.51	17.58	17.44	6.07	6.75
Poliinsat.	3.8	3.50	1.44	1.42	0.49	0.50
Total	260.26	253.92	100.38	99.78	34.68	38.54

Los ácidos grasos con las concentraciones mayores (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con valores promedio de 15.13 a 65.19 %, los ácidos grasos 18:0, 18:1, 18:2, 18:3 con valores promedio de 0.21 a 1.04 % y finalmente los ácidos grasos 20:3, 20:4 y 22:6 con valores entre 0.07 y 0.51 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 1.44 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 1.42% a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La suma total de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 34.68 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 38.54 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La fracción que representan los ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.49 % y 0.50 % , a las dos intensidades de luz.

Las concentraciones totales de los ácidos grasos (en $\mu\text{g mg}^{-1}$) fueron de 260.26 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 253.92 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de los ácidos grasos poliinsaturados fue de 3.8 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y 3.5 $\mu\text{g mg}^{-1}$, a las dos intensidades de luz.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores promedio de los ácidos grasos a las dos intensidades de luz ($0.12 \leq p \leq 0.97$) (Tabla XXIV).

IV. 8. *Nitzschia* sp. (NI-X3)

IV. 8. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla XXV se presenta la densidad celular final promedio de los cultivos en número de cél. ml^{-1} a los diez días de cultivo. Las mayores densidades (1,300,200 y 1,220,022 cél. ml^{-1}) se encontraron a 20 °C (a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). A excepción del nivel a 20 °C , la densidad celular mayor se observó a la mayor intensidad de luz.

En cuanto a la apariencia final de los cultivos, en el fondo de los matraces se formó un tapete de microalgas acompañado de formación de grumos, con tamaño promedio de 0.5 mm para los tres niveles de temperatura .

Tabla XXV. Densidad celular final promedio (cél. ml⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X3) cultivada a 15, 20 y 25 °C, y a 80 y 160 μ moles fotón m⁻²s⁻¹. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
15	80	1,046,875 (334,068)	Grumos de 0.5 mm.
	160	1,203,125 (667,779)	Grumos de 0.5 mm.
20	80	1,300,200 (81,796)	Grumos de 0.5 mm.
	160	1,220,022 (49,105)	Grumos de 0.5 mm.
25	80	857,500 (361,741)	Grumos de 0.5 mm.
	160	1,302,500 (314,136)	Grumos de 0.5 mm.

IV. 8. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla XXVI se muestran los resultados de la biomasa final promedio (μ g ml⁻¹), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) en las diferentes condiciones de cultivo.

Los valores promedio mayores de peso seco total y peso seco orgánico se encontraron a 25°C. Los valores para el peso seco total fueron de 209.45 y 228.96 μ g ml⁻¹ y del peso seco orgánico 88.95 y 97.11 μ g ml⁻¹ a 80 y 160 μ moles fotón m⁻²s⁻¹, respectivamente.

Se observó que para las tres temperaturas, el peso seco total y el peso seco orgánico fueron mayores a la mayor intensidad de luz (Tabla XXVI).

Tabla XXVI. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X3) cultivada a 15, 20 y 25 °C y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	
		≠		≠	
15	80 a	179.11	(25.54)	72.50	(3.77)
	160 b	186.44	(6.04)	76.25	(3.78)
20	80 c	156.85	(14.17)	70.16	(8.07)
	160 d	179.44	(21.13)	78.43	(5.71)
25	80 e	*209.45	(13.06)	*88.95	(4.61)
	160 f	228.96	(19.98)	97.11	(2.87)
P.S.T.		b	<u>f e</u>	b	d
P.S.O.		a	<u>c b</u>	d	<u>e f</u>

*: diferencia en los niveles de temperatura

≠: diferencia en las intensidades de luz

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

Se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz, tanto para el peso seco total ($p \leq 0.04$) como para el peso seco orgánico ($p \leq 0.008$). Los valores obtenidos a 25 °C fueron mayores a los de 15 y 20 °C; entre estos últimos no hubo diferencia (Tabla XXVI).

Para el peso seco total se formaron cuatro grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 25 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con la biomasa mayor) se separa de los demás grupos (con menor biomasa) a excepción del tratamiento a 25 °C (80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (Tabla XXVI).

Para el peso seco orgánico se forman tres grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 25 °C y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con la biomasa mayor) se separa de los demás tratamientos (con las biomásas menores), a excepción del tratamiento a la misma temperatura (Tabla XXVI).

IV. 8. 3. Composición bioquímica

IV. 8. 3. 1. Proteínas

El porcentaje promedio de proteínas (Tabla XXVII) varió entre 21.07 y 33.76 % (a 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 20 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de proteínas se encontraron a 20 °C.

Se observó que el porcentaje de proteínas fue mayor a la menor intensidad de luz. Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.00$), entre los tres niveles comparados. Se formaron tres grupos homogéneos con tratamientos comunes, los dos tratamientos a 20 °C (con los porcentajes mayores) se separan de los demás tratamientos (con los porcentajes menores) (Tabla XXVII).

Tabla XXVII Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X3) cultivada a 15, 20 y 25 °C; y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	% Proteínas	% Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
15	80 a	*27.19 (1.13)	a 9.98 (1.67)	23.69 (6.71)	40.86 (3.74)	102
	160 b	26.93 (1.55)	10.56 (0.97)	27.61 (2.74)	40.89 (1.03)	106
20	80 c	*33.76 (5.02)	b 14.25 (1.43)	21.42 (2.02)	39.66 (1.75)	110
	160 d	30.44 (3.27)	12.90 (2.44)	27.58 (3.23)	38.95 (3.11)	110
25	80 e	*21.83 (1.33)	ab 11.34 (1.19)	13.16 (8.48)	42.57 (3.34)	89
	160 f	21.07 (1.30)	12.28 (1.49)	*10.50 (4.45)	42.58 (3.01)	86
		Proteínas	c d	a b	e f	
		Carbohidratos	a b	d e	f c	
		Lípidos	a b	d c	e f	
		Cenizas	a b	c d	e f	

* y letras en la izquierda de la columna de carbohidratos: diferencia en los niveles de temperatura
 Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-f).

IV. 8. 3. 2. Carbohidratos

El porcentaje promedio final de carbohidratos varió de 9.98 a 14.25 % (a 15 y 20 °C, ambos a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Los mayores porcentajes de carbohidratos se encontraron a 20 °C.

Se observó que a mayor intensidad de luz, mayor es el porcentaje de carbohidratos, a excepción de los porcentajes a 20 °C.

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.002$). Los valores obtenidos a 15 °C fueron menores a los de 20 y 25 °C, entre estos últimos no hay diferencia. Se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 20 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el porcentaje mayor) se separa claramente del tratamiento a 15 °C y 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el porcentaje menor) (Tabla XXVII).

IV. 8. 3. 3. Lípidos

El porcentaje promedio final de lípidos varió de 10.50 a 27.61 % (a 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de lípidos se registraron a 15 y 20 °C.

Se observó que a mayor intensidad de luz fue mayor el porcentaje de lípidos, a excepción de los porcentajes a 25 °C.

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.0002$). Los valores obtenidos a 25 °C fueron menores que los de 15 y 20 °C; los cuales son iguales entre sí. Se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 25 °C (con el menor porcentaje) se separa del resto de los tratamientos (con los porcentajes mayores) (Tabla XXVII).

IV. 8. 3. 4. Cenizas

El porcentaje promedio final de cenizas varió de 38.95 a 42.58 % (a 20 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

No se encontró diferencia significativa entre los factores temperatura y luz ($p>0.09$), por lo que se forma sólo un grupo homogéneo (Tabla XXVII).

IV. 8. 3. 5. Ácidos grasos

En la tabla XXVIII se muestran los resultados de los ácidos grasos a 25 °C, para las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). De los ácidos grasos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0, de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron el 18:1 y 18:1, por último de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron el 18:2, 18:3, 20:4 y 22:6.

Los ácidos grasos con las concentraciones mayores (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con valores promedio de 19.25 y 59.38 %, los ácidos grasos 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3 con valores promedio de 0.13 y 0.91%, finalmente los ácidos grasos 20:4 y 22:6 con valores de 0.01 a 0.19 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.34 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 0.66 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La suma total de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 26.8 % a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 31.47 % a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La fracción que representan los ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.09 % y 0.23 % , a las dos intensidades de luz.

Las concentraciones totales de los ácidos grasos en $\mu\text{g mg}^{-1}$ fueron de 97.28 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 185.26 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de los ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.34 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y 1.21 $\mu\text{g mg}^{-1}$, a las dos intensidades de luz.

Tabla XXVIII. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X3) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		%del total de ác.grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	21.04 (5.59)	36.45(10.22)	21.89 (1.29)	19.84 (0.72)	5.88 (1.22)	3.39 (0.19)
16:0	55.42(18.43)	110.43(38.16)	57.00 (0.63)	59.38 (1.39)	15.24 (2.10)	20.87 (7.90)
16:1	19.24 (6.70)	35.45(10.44)	19.74 (0.55)	19.25 (0.46)	5.27 (0.64)	6.64 (2.11)
18:0	0.87 (0.21)	1.38 (0.31)	0.91 (0.08)	0.77 (0.12)	0.24 (0.06)	0.27 (0.04)
18:1	0.37 (0.11)	0.34 (0.10)	0.25	0.18 (0.04)	0.08 (0.03)	0.07 (0.01)
18:2	0.30 (0.09)*	0.50 (0.04)	0.31 (0.01)	0.29 (0.09)	0.08 (0.01)	0.09 (0.01)
18:3	nd	0.24 (0.08)	nd	0.13 (0.05)	nd	0.05(0.002)
20:4	0.028	0.07 (0.03)	0.023	0.05 (0.02)	0.006	0.02
22:6	0.01(0.003)	0.40 (0.18)	0.01(0.0004)	0.19 (0.02)	0.003(0.001)	0.07 (0.03)
Saturados	77.33	148.26	79.8	79.99	21.36	24.53
Monoinsat	19.61	35.79	19.99	19.43	5.35	6.71
Poliinsat.	0.34	1.21	0.34	0.66	0.09	0.23
Total	97.28	185.26	100.13	100.08	26.80	31.47

*: diferencia entre los tratamientos a las dos intensidades de luz.

nd: no determinado

No se encontraron diferencias significativas entre los valores promedio de los ácidos grasos a las dos intensidades de luz ($0.12 \leq p \leq 0.74$), a excepción del ácido 18:2 ($p=0.03$) (Tabla XXVIII).

IV. 9. *Nitzschia* sp. (NI-X5)

Esta cepa sólo creció a 20 y 25 °C, en ambas intensidades de luz.

IV.9. 1. Densidad celular y apariencia

En la tabla XXIX se presenta la densidad celular final promedio de los cultivos, en número de cél. ml⁻¹ a los diez días de cultivo. Las mayores densidades (1,917,500 y 2,560,000 cél. ml⁻¹) se encontraron a 25 °C a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Para las dos temperaturas, la densidad celular mayor se observó a la mayor intensidad de luz.

En cuanto a la apariencia final de los cultivos, en el fondo de los matraces se formó un tapete de microalgas acompañado de formación de grumos; con tamaño promedio de 3 mm a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 2 mm a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Tabla XXIX. Densidad celular final promedio (cél. ml⁻¹) y apariencia de los cultivos, de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X5) cultivada a 20 y 25 °C, y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	Células ml ⁻¹	Apariencia
20	80	1,776,500 (330,305)	Grumos de 3 mm.
	160	1,828,750 (224,065)	Grumos de 2 mm.
25	80	1,917,500 (92,568)	Grumos de 3 mm.
	160	2,560,000 (184,983)	Grumos de 2 mm.

IV. 9. 2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la tabla XXX se muestran los resultados de la biomasa final promedio ($\mu\text{g ml}^{-1}$), expresada como peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) en las diferentes condiciones de cultivo.

Los valores promedios mayores de peso seco total y peso seco orgánico se encontraron a 20°C . Para el peso seco total los valores fueron 124.54 y $179.99 \mu\text{g ml}^{-1}$ y para el peso seco orgánico 50.38 y $76.36 \mu\text{g ml}^{-1}$, a 80 y $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente.

Se observó que para las dos temperaturas, el peso seco total y el peso seco orgánico fueron mayores a la mayor intensidad de luz (Tabla XXX).

Tabla XXX. Promedio final del peso seco total (P.S.T.) y peso seco orgánico (P.S.O.) de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X5) cultivada a 20 y 25°C y a 80 y $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T °C	Luz	P.S.T. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	P.S.O. ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
		≠	≠
20	80 a	124.54 (18.36)	50.38 (7.06)
	160 b	179.99 (16.73)	76.36 (19.88)
25	80 c	110.32 (4.80)	42.07 (2.99)
	160 d	163.53 (21.73)	62.54 (9.01)
P.S.T.		b d a c	
P.S.O.		b d a c	

≠: diferencia en las intensidades de luz

Líneas horizontales: grupos homogéneos en los tratamientos (a-d).

Sólo se encontró diferencia significativa para el factor luz, tanto en el peso seco total como en el peso seco orgánico ($p \leq .005$) (Tabla XXX).

Para el peso seco total se formaron tres grupos homogéneos comunes, los tratamientos a $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con las biomásas mayores) se separan de los otros dos tratamientos a $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con las biomásas menores). Para el peso seco orgánico se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes. El tratamiento a 20°C y $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se separa del tratamiento a 25°C y $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla XXX).

IV. 9. 3. Composición bioquímica

IV. 9. 3. 1. Proteínas

El porcentaje promedio final de proteínas (Tabla XXXI) varió de 25.99 a 37.25 % (a 20 y 25°C , ambos a $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Los mayores porcentajes se encontraron a 20°C .

Se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.013$), sin embargo, sólo se formó un grupo homogéneo (Tabla XXXI).

IV. 9. 3. 2. Carbohidratos

El porcentaje promedio final de carbohidratos varió de 4.30 a 14.72 % (a 25 y 20°C , ambos a $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes se encontraron a 20°C .

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.00$). Se observan dos grupos homogéneos, un grupo a 20°C (con los porcentajes mayores) y el otro a 25°C (con los porcentajes menores) (Tabla XXXI).

Tabla XXXI. Composición bioquímica promedio con base en el peso seco orgánico de la microalga bentónica *Nitzschia* sp. (NI-X5) cultivada a 20 y 25 °C; y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La desviación estándar se incluye entre paréntesis.

T°C	Luz		% Proteínas	% Carbohidratos	% Lípidos	% Cenizas	Total
20	80	a	36.53 (4.58)	14.72 (2.79)	18.74 (1.44)	40.49 (0.94)	108
	160	b	37.25 (6.67)	11.55 (1.91)	21.72 (1.76)	38.98 (4.21)	109
		*		*	*		
25	80	c	30.29 (6.95)	4.30 (0.86)	26.12 (7.86)	38.23 (3.86)	99
	160	d	25.99 (0.97)	5.48 (1.84)	36.45 (6.74)	38.21 (0.89)	106
			Proteínas	<u>a</u> <u>b</u> <u>c</u> <u>d</u>			
			Carbohidratos	<u>a</u> <u>b</u> <u>c</u> <u>d</u>			
			Lípidos	<u>a</u> <u>b</u> <u>c</u> <u>d</u>			
			Cenizas	<u>a</u> <u>b</u> <u>c</u> <u>d</u>			

* diferencia en los niveles de temperatura.

Líneas horizontales= grupos homogéneos en los tratamientos (a-d).

IV. 9. 3. 3. Lípidos

El porcentaje promedio final de lípidos varió de 18.74 a 36.45 % (a 20 °C, 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 25 °C, 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Los mayores porcentajes de lípidos se registraron a 25 °C.

Sólo se encontró diferencia significativa en el factor temperatura ($p=.006$). Se formaron dos grupos homogéneos con tratamientos comunes, el tratamiento a 25°C y 160

$\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el mayor porcentaje) se separa del tratamiento a 20°C y $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (con el menor porcentaje) (Tabla XXXI).

IV. 9. 3. 4. Cenizas

El porcentaje promedio final de cenizas varió de 38.21 a 40.49 % (a 25°C , $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 20°C , $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente).

No se encontró diferencia significativa en los factores temperatura y luz ($p>0.39$), por lo que sólo se formó un grupo homogéneo (Tabla XXXI).

IV. 9. 3. 5. Ácidos grasos

En la tabla XXXII se muestran los resultados de los ácidos grasos a 25°C , para las dos intensidades de luz (80 y $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) De los ácidos grasos saturados se encontraron el 14:0, 16:0 y 18:0; de los ácidos grasos monoinsaturados se detectaron el 16:1, 18:1 y 20:1; y de los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron al 18:2, 18:3, 20:4 y 22:6.

Los ácidos grasos con las concentraciones mayores (en % del total de ácidos grasos) fueron el 14:0, 16:0 y 16:1 con valores promedio de 9.09 y 67.49 % %, los ácidos grasos 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3 con valores promedio de 0.30 y 1.17 % por último los ácidos grasos 20:1, 20:4 y 22:6 con valores de 0.02 a 0.65 %. El total de ácidos grasos poliinsaturados fue de 1.70 % a $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 1.30 % a $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La suma total de los porcentajes de los ácidos grasos (con base en el total de lípidos) fue de 21.76 % a $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 21.98 % a $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La

fracción que representan los ácidos grasos poliinsaturados fue de 0.38 % y 0.29 % , a las dos intensidades de luz.

Tabla XXXII. Composición de ácidos grasos de la microalga bentónica *Nitzschia* sp.(NI-X5) cultivada a 25 °C y dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Expresada en: μg de ác. graso por mg de peso seco orgánico, % con base en el total de ácidos grasos y % con base en el total de lípidos. La desviación estándar se incluye entre paréntesis .

Ácido graso	$\mu\text{g mg}^{-1}$		% del total de ác.grasos		% del total de lípidos	
	80	160	80	160	80	160
14:0	11.78 (0.50)	14.06 (1.96)	9.09 (0.21)	10.11 (0.43)	1.98 (0.07)	2.21 (0.35)
16:0	87.40 (4.36)	93.49 (8.05)	67.41 (1.02)	67.49 (0.84)	14.66 (0.67)	14.78 (2.43)
16:1	26.36 (1.77)	27.73 (3.39)	20.32 (0.05)	19.97 (0.46)	4.42 (0.28)	4.37 (0.73)
18:0	1.51 (0.02)	1.47 (0.16)	1.17 (0.09)	1.06 (0.11)	0.25 (0.005)	0.23 (0.01)
18:1	0.40 (0.09)	0.53 (0.21)	0.30 (0.05)	0.37 (0.11)	0.07 (0.01)	0.08 (0.03)
18:2	0.61 (0.09)	0.62 (0.02)	0.47 (0.04)	0.47 (0.04)	0.10 (0.01)	0.10 (0.01)
18:3	0.46 (0.10)	0.48 (0.06)	0.35 (0.05)	0.35 (0.02)	0.08 (0.02)	0.08 (0.02)
20:1	nd	0.08	nd	0.06	nd	0.02
20:4	0.88 (1.12)	0.66 (0.07)	0.65 (0.82)	0.46 (0.01)	0.15 (0.19)	0.11 (0.01)
22:6	0.32 (0.44)	0.02 (0.01)	0.23 (0.32)	0.02 (0.01)	0.05 (0.07)	0.003(0.002)
Saturados	100.69	109.02	77.67	78.66	16.89	17.22
Monoinst	26.76	28.34	20.62	20.4	4.49	4.47
Poliinsat.	2.27	1.78	1.70	1.30	0.38	0.29
Total	129.72	139.14	99.99	100.36	21.76	21.98

nd= no determinado

Las concentraciones totales de los ácidos grasos en $\mu\text{g mg}^{-1}$, fueron de 129.72 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 139.14 $\mu\text{g mg}^{-1}$ a 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. El total de los ácidos grasos poliinsaturados fue de 2.27 $\mu\text{g mg}^{-1}$ y 1.78 $\mu\text{g mg}^{-1}$, a las dos intensidades de luz.

No se encontró diferencia significativa entre los valores promedio de los ácidos grasos para las dos intensidades de luz ($0.22 \leq p \leq 0.85$) (Tabla XXXII).

IV. 10. Comparación entre las cepas estudiadas

IV.10.1. Densidad celular

Los valores de la densidad celular de las diferentes cepas de microalgas bentónicas (Tabla XXXIII) mostraron una tendencia clara a ser mayores a la mayor intensidad de luz ($160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), con sólo algunas excepciones. Con referencia a la temperatura, las densidades mayores se encontraron a 20 y 25 °C. Los géneros *Amphora* y *Navicula* mostraron el mayor número de células por mililitro.

IV.10.2. Biomasa por célula

En la tabla XXXIII se muestra el peso por célula de cada cepa. Aunque la estimación en la densidad celular no es tan precisa, se observa que en las microalgas en las que se encontró la menor densidad son aquellas que tienen mayor biomasa por célula (NIC1, NI-X3 y NIX2) y las cepas con mayores densidades tienen la menor biomasa celular (NV-C2) y NV-C1).

IV.10.3. Peso Seco Total y Peso Seco Orgánico

Para el peso seco total y el peso seco orgánico la tendencia general en los cultivos, fue de obtener una biomasa mayor a la mayor intensidad de luz ($160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), la

cual fue estadísticamente significativa. Respecto a la temperatura, los valores de peso seco fueron mayores a 20 y 25 °C para las diferentes cepas (Tabla XXXIII).

Tabla XXXIII. Comparación de la biomasa de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Densidad celular (no.de cél.x 10^3 ml^{-1}), peso seco total y peso seco orgánico ($\mu\text{g ml}^{-1}$) y peso celular (pg) con base en el peso seco orgánico.

	T°C	Luz	NVC1	NVC2	AMC1	NIC1	NIX2	NIX3	NIX5	
Densidad celular (cél. ml^{-1})	15	80		1497	3012	803	462	1046		
		160		1728	3128	1000	859	1203		
	20	80		3102	4319	1361	1170	1300	1776	
		160		3281	4518	1655	1059	1220	1828	
	25	80		3005	2189	2570	1692	1145	857	1917
		160		4316	2612	3257	2082	1267	1302	2560
Peso seco total ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	15	80	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	
		160		100.2	*134.7	203.2	129.6	179.1		
	20	80		*114.7	167.5	194.8	124.8	156.8	124.5	
		160		159.0	217.3	225.3	157.8	179.4	179.9	
	25	80		82.5	102.2	169.4	*258.2	*153.3	*209.4	110.3
		160		130.3	120.3	196.1	292.4	183.5	228.9	163.5
Peso seco orgánico ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	15	80	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	
		160		34.1	*59.4	91.6	41.5	72.5		
	20	80		*49.7	79.2	85.3	51.6	70.1	50.3	
		160		63.4	105.7	104.5	63.7	78.4	76.3	
	25	80		32.0	40.9	79.8	*102.1	*73.8	*88.9	42.0
		160		49.7	47.6	89.6	128.0	88.4	97.1	62.5
Peso celular (pg/cél.)			11.08	19.89	24.09	76.83	63.29	71.52	29.09	

Navicula c.f. cincta (NV-C1 y NV-C2), *Nitzschia closterium* NI-C1, *Nitzschia* sp. (NI-X2, NI-X3 y NI-X5) y *Amphora catenula* AM-C1.

*: diferencia en las temperaturas

≠ diferencia en las intensidades de luz

Los valores de biomasa, con respecto al peso seco total y peso seco orgánico por cepa fueron en orden decreciente de la manera siguiente: NI-C1 > AM-C1 > NI-X3 > NI-X2 > NI-X5 > NV-C2 > NV-C1.

IV.10.4. Proteínas

Para los porcentajes de proteínas (Tabla XXXIV y figura 2) se observó que en general, se obtuvieron mayores valores a la intensidad de luz más baja ($80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), con algunas excepciones.

En las cepas NV-C2, NI-X2, NI-X3, NI-X5 y NI-C1 los porcentajes de proteínas fueron significativamente diferentes a 20°C (con los porcentajes mayores) en comparación con los porcentajes a 15 y 25°C , a excepción de NI-C1 (con el porcentaje menor). En los porcentajes de proteínas de la cepa AM-C1 no hubo diferencia significativa en la tres temperaturas; aunque se observó que 20°C el porcentaje de proteínas fue ligeramente menor.

IV.10.5. Carbohidratos

Para los porcentajes de carbohidratos no se encontraron tendencias claras entre las intensidades de luz.

En las cepas NV-C2, AM-C1, NI-X2, NI-X3 y NI-X5 los porcentajes de carbohidratos fueron diferentes a 20°C (con los porcentajes mayores), a excepción de NI-C1 (con el porcentaje menor) (Tabla XXXIV y figura 3).

IV.10.6. Lípidos

Para los porcentajes de lípidos y cenizas no se encontraron tendencias claras entre las intensidades de luz.

En las cepas NV-C2, NI-X2 y NI-X5 los porcentajes de lípidos a 20 °C (porcentajes menores) fueron diferentes que a 15 y 25°C, en NI-C1 y NI-X3 los menores porcentajes se encontraron a 25 °C y en AM-C1 los porcentajes fueron similares en las tres temperaturas (Tabla XXXIV y figura 4).

IV.10.7. Cenizas

Para los porcentajes de cenizas no se encontraron tendencias claras entre las intensidades de luz. Con respecto a la temperatura, los mayores porcentajes de cenizas, se encontraron en la mayoría de los casos a 20 y 25 °C (Tabla XXXIV).

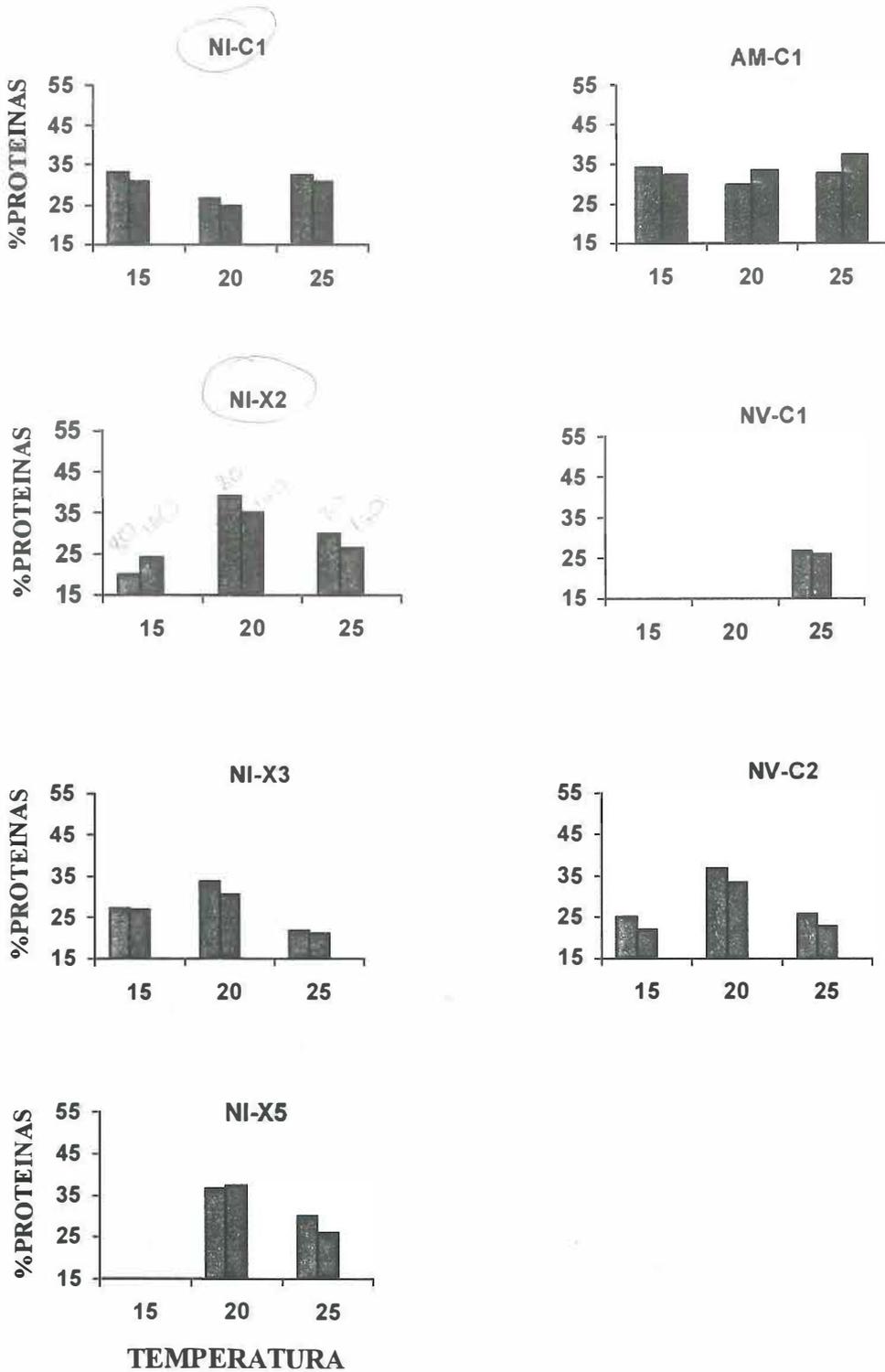


Figura 2. Porcentaje de proteínas de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25°C y 80 (bloques color azul) y 160 (bloques color rosa) $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Navicula c.f. cincta (NV-C1 y NV-C2), *Nitzschia closterium* NI-C1, *Nitzschia* sp. (NI-X2, NI-X3 y NI-X5) y *Amphora catenula* AM-C1.

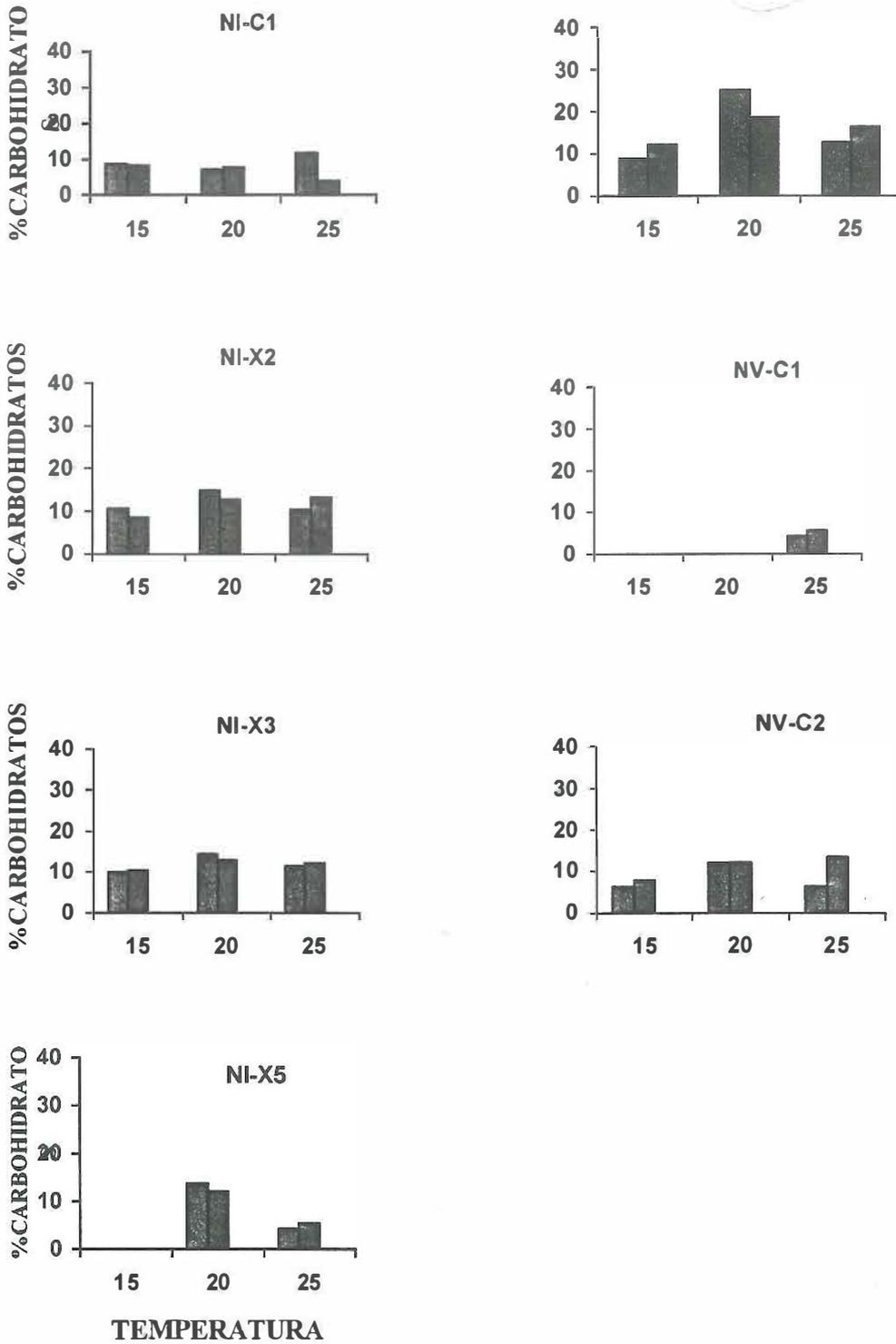


Figura 3. Porcentaje de carbohidratos de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 (bloques color azul) y 160 (bloques color rosa) $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

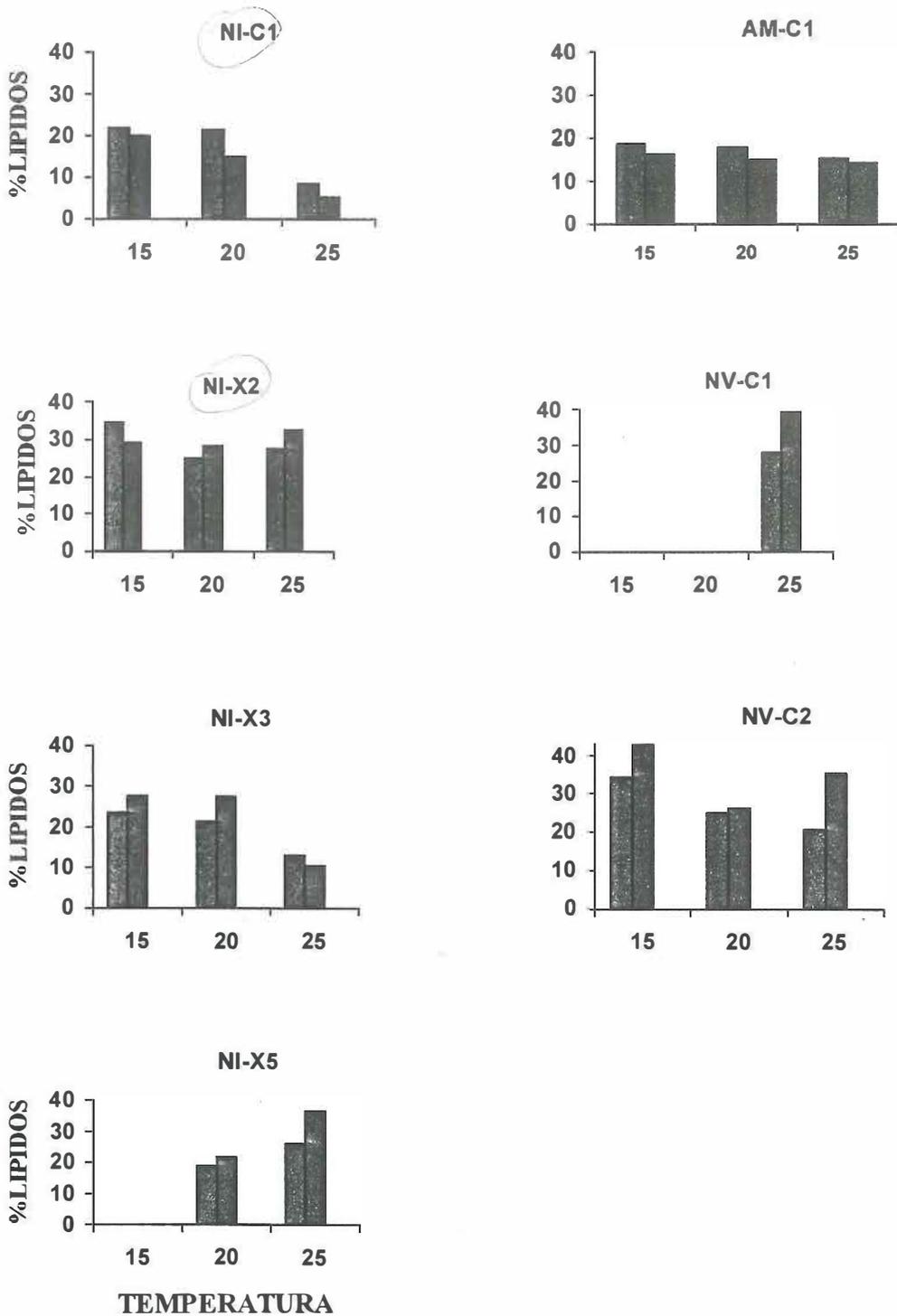


Figura 4. Porcentajes de lípidos de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C y 80 (bloques color azul) y 160 (bloques color rosa) $\mu\text{moles fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Tabla XXXIV. Comparación de la composición bioquímica de las siete microalgas bentónicas cultivadas a 15, 20 y 25 °C, y a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con datos de la literatura. % de proteínas (A), % de carbohidratos (B), % de lípidos (C), % cenizas (D).

		NVC1	NVC2	AMC	NIC1	NIX2	NIX3	NIX5	Estudio	Literat.	
				1							
					≠						
A	15	80		25.2	34.1	33.0	*20.2	*27.1	20.2-39.2	11-69.3	
		160		22.0	32.2	30.9	24.3	26.9			
	20	80		*36.9	30.0	*26.7	*39.2	*33.7	36.5		
		160		33.4	33.2	24.9	35.2	30.4	37.2	*	
	25	80	26.6	25.7	32.5	32.3	*29.8	*21.8	30.2		
		160	25.9	22.8	37.4	31.0	26.5	21.0	25.9		
B	15	80		6.2	8.9	8.5	a 10.6	a 9.9	3.9-24.9	2-40	
		160		8.0	12.2	8.2	8.7	10.5			
	20	80		11.9	*24.9	7.1	bc15.0	b14.2	13.7		
		160		12.2	18.4	7.8	12.8	12.9	12.1	*	
	25	80	4.3	6.5	12.8	11.8	ac10.5	ab11.3	4.2		
		160	5.4	13.5	16.6	3.9	13.2	12.2	5.4		
C	15	80		a34.3	18.6	21.7	34.5	23.6	2.26-42.7	1.8-45	
		160		42.7	16.2	19.9	29.1	27.6			
	20	80		bc24.9	18.0	21.2	24.8	21.4	18.7		
		160		26.3	15.1	15.0	28.3	27.5	21.7	*	
	25	80	28.1	ac20.6	15.4	*8.64	27.6	*13.1	26.1		
		160	39.1	35.3	14.4	5.29	32.6	10.5	36.4		
D	15	80		*28.8	34.5	45.1	32.9	40.8	28.8-48	7.6-70.5	
		160		29.8	35.7	41.0	39.3	40.8			
	20	80		38.3	37.3	*43.8	*31.1	39.6	40.4		
		160		34.5	38.7	48.0	30.4	38.9	38.9		
	25	80	38.3	33.7	37.1	39.5	38.3	42.5	38.2		
		160	38.1	34.7	35.4	43.8	38.3	42.5	38.2		

Literatura: McLachlan, 1968; Myklestad, 1974; Redalje y Laws, 1983; Thomas *et al.*, 1984; Ben-Amotz y Tornabene, 1985; Minghou *et al.*, 1986; Whyte, 1987; Alvarez-Cobelas y Zarco-Lechado, 1989; Harrison *et al.*, 1990; Brown *et al.*, 1989; Brown, 1991; Bhosle *et al.*, 1993; Cordero *et al.*, 1993; Volkman *et al.*, 1993; Chrismadha y Borowitzka, 1994; Cordero y Voltolina, 1994; Servel *et al.*, 1994; Reitan *et al.*, 1994; Renaud *et al.*, 1991 y 1994; Brown *et al.*, 1993, 1996 y 1997.

Navicula c.f. cincta (NV-C1 y NV-C2), *Nitzschia closterium* NI-C1, *Nitzschia* sp. (NI-X2, NI-X3 y NI-X5) y *Amphora catenula* AM-C1.

*: diferencia en las temperaturas; ≠ diferencia en las intensidades de luz

IV.10.6. Ácidos grasos

Los principales ácidos grasos (Tabla XXXV) encontrados en todas las especies fueron el 14:0, 16:0, y 16:1; que juntos sobrepasaron, en todos los casos, el 85 % del total de ácidos grasos por microalga. Los C₁₈ presentaron valores que no sobrepasaron el 4.5 %. Algo similar sucedió con los C₂₀. En esta última fracción destacó la ausencia del 20:5n3. Los porcentajes de 22:6 fueron variables, con valores menores del 1 % en 5 de las 7 microalgas ensayadas. En las dos restantes se obtuvieron valores superiores (2.39 % en NI-C1 y 6.21 % en AM-C1).

En las cepas en las que se encontraron los menores valores de 16:0 (AM-C1 y NI-C2), también se obtuvieron los mayores valores de 14:0, 20:4 y 22:6.

Los valores de los ácidos grasos poliinsaturados, en orden decreciente, fueron en el orden siguiente: AM-C1>NI-X2>NV-C2>NI-C1>NI-X5>NV-C1>NI-X3 (en $\mu\text{g mg}^{-1}$); AM-C1>NI-C1>NV-C2>NI-X2 >NI-X5>NV-C1>NI-X3 (en % del total de lípidos) y AM-C1>NI-C1>NV-C1> NV-C2 >NI-X5> NI-X2>NI-X3 (en % del total de ácidos grasos)

No se encontró diferencia significativa entre los valores promedio de los ácidos grasos a las dos intensidades de luz (80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para todas las cepas de diatomeas estudiadas, a excepción de los ácidos grasos 18:0 de NV-C1 y 18:2 de NI-X3.

Tabla XXXV. Porcentajes de ácidos grasos (a 25 °C y promedio de las dos intensidades de luz 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de este estudio comparados con datos de literatura.

Ácido graso	NVC1	NVC2	AMC1	NIC1	NIX2	NIX3	NIX5	Intervalos (diatomeas)	
								Este estudio	Literatura
14:0	13.93	9.17	28.33	49.64	15.25	20.86	9.60	9.17-49.64	1-60.86
16:0	64.06	71.13	41.64	34.28	64.93	58.19	67.45	34.28-71.13	2- 41.49
16:1	15.83	14.93	17.18	8.96	17.29	19.49	20.14	8.96-20.14	11.1-48.2
Σ	93.82	95.23	87.15	92.88	97.97	98.54	97.19	87.1-98.5	>60
18:0	1.85	1.45	1.11	1.69	0.96	0.84	1.11	0.84- 1.85	0.1-6.0
18:1	0.89	0.56	0.73	0.28	0.21	0.21	0.33	0.21- 0.89	0.1-32.0
18:2	0.87	0.29	0.6	1.5	0.27	0.3	0.47	0.27- 1.50	0.06-9.0
18:3	0.74	1.19	1.28	0.34	0.33	0.13	0.35	0.13- 1.28	0.1-3.0
Σ	4.35	3.49	3.72	3.81	1.77	1.48	2.26	1.48-4.35	
20:1	1.32	0.67	1.17	0.67	0.00	0.00	0.06	0.06- 1.32	0.1-2.0
20:3	0.00	0.00	0.92	0.00	0.25	0.00	0.00	0.25- 0.92	0.1-4.4
20:4	0.80	0.28	2.51	1.51	0.39	0.036	0.55	0.036-2.51	0.1-9.0
Σ	2.12	0.95	4.5	2.18	0.645	0.036	0.615	0.03- 4.50	
22:6	0.73	0.54	6.21	2.39	0.18	0.1	0.12	0.1- 6.21	0.1-11.0

Literatura: McLachlan, 1968; Chuecas y Riley, 1969; Dortch, 1982; Ben-Amotz y Tornabene, 1985; Napolitano *et al.*, 1988; Alvarez-Cobelas y Zarco-Lechado, 1989; Volkman *et al.*, 1989; Al-Hasan *et al.*, 1990; Thompson *et al.*, 1990 y 1992; Viso y Marty, 1993; Dunstand *et al.*, 1994; Reitan *et al.* 1994; Renaud *et al.*, 1994; Zhukova y Aizdaicher, 1995; Brown *et al.*, 1996; Cordero *et al.*, (en revisión).

Navicula c.f. cincta (NV-C1 y NV-C2), *Nitzschia closterium* NI-C1, *Nitzschia* sp. (NI-X2, NI-X3 y NI-X5) y *Amphora catenula* AM-C1.

V. DISCUSIÓN

Las diatomeas bentónicas son la principal fuente de alimento para post-larvas de abulón (Kawamura, 1996). Las microalgas que han sido principalmente estudiadas en la alimentación de este organismo son las cepas de los géneros *Achnanthes*, *Cocconeis*, *Navicula* y *Nitzschia*, sin embargo existen algunas especies que no han sido totalmente investigadas en la alimentación de organismos ramoneadores.

Para seleccionar cepas de microalgas adecuadas para dietas de organismos bentónicos es necesario considerar algunos criterios como son: morfología, tamaño, dureza de las frústulas y fijación de las diatomeas; características que finalmente influyen en la eficiencia de ingestión, digestión y asimilación por parte del abulón (Matthews y Cook, 1995; Kawamura *et al.*, 1998).

En este estudio se analizaron cepas de los géneros *Navicula*, *Nitzschia* y *Amphora*. La cepa *Amphora catenula* (AM-C1) tiene la capacidad de formar un tapete celular homogéneo que se fija fuertemente al sustrato y cuando se desprende con ultrasonido, a los pocos minutos ésta se vuelve a adherir al fondo del recipiente. Las cepas de los géneros *Navicula* y *Nitzschia* también forman tapetes homogéneos fuertemente adheridos, pero cuando son removidos, tardan más tiempo en empezar a fijarse, en comparación con *Amphora catenula*.

Los resultados encontrados por otros autores, en microalgas bentónicas del medio natural, muestran que las cepas del género *Amphora* son de bajo movimiento y tienen fuerte capacidad de adhesión, mientras que las cepas de los géneros *Navicula* y *Nitzschia* son altamente móviles y solitarias (Hudon y Bourget, 1983; Blanchard *et al.*, 1996).

El tamaño de las diatomeas es una de las características importantes a considerar en la alimentación de larvas y post-larvas. Por ejemplo, el abulón consume diatomeas bentónicas menores de 10 μm , pudiendo ingerir diatomeas más grandes conforme va creciendo y aumentando el tamaño de su boca (Eber y Hook, 1984). Otra característica es la dureza de la frústula, ya que, aún cuando las diatomeas sean ingeridas, éstas no se digieren si no son trituradas por la rádula durante el forrajeo (Kawamura *et al.*, 1995).

El tamaño de las diatomeas (de 2.7 μm a 70.2 μm) analizadas en este trabajo, está dentro del intervalo del tamaño de las diatomeas utilizadas en ensayos con diversas especies de abulón (*Haliotis iris*, *H. discus hannai*) (Kawamura *et al.*, 1995; Kawamura, 1996; Kawamura *et al.*, 1998).

La densidad celular de las microalgas bentónicas de este estudio mostró una clara tendencia a incrementarse en la intensidad de luz mayor. Sólo en dos cepas del género *Nitzschia* sp. (NI-X2 y NI-X3), en el experimento a 20 °C, no se observó esta tendencia; lo cual pudo ser debido a que la heterogeneidad de grumos en estos cultivos hacía difícil la toma de una muestra homogénea para la estimación del número de células. Por esta razón los resultados de peso seco total y peso seco orgánico fueron considerados como más representativos. Con estos valores se observó que la biomasa de estas microalgas fue mayor a la intensidad de luz más alta.

Los resultados de densidad celular y biomasa de las cepas de diatomeas bentónicas aquí estudiadas concuerdan con los obtenidos por varios autores con otras especies de diatomeas bentónicas de los géneros *Nitzschia*, *Navicula* y *Cocconeis*, quienes mencionan que

a intensidades de luz alta se tiene una mayor densidad total o biomasa. Los resultados en general son expresados como contenido de clorofila-a (Hudon y Bourget, 1983; Kennett y Hargraves, 1985; Pinckney y Zingmark, 1991; Kawamura y Hirano, 1992; de Jong y de Jonge, 1995).

Se ha visto que el volumen celular y la tasa de crecimiento pueden incrementarse con el aumento en la temperatura (Thompson *et al.*, 1992), lo cual puede repercutir en un aumento de la biomasa final de los cultivos. El peso seco total y peso seco orgánico de las diferentes diatomeas bentónicas estudiadas en este trabajo mostraron que las mayores biomásas se obtuvieron a 20 y 25 °C, aunque esta respuesta también dependió de la especie.

Otros autores, en experimentos con gradientes de temperatura, mostraron que las cepas de microalgas bentónicas y planctónicas ensayadas crecieron más a temperaturas de 20 y 25 °C que a 15 °C (Admiral, 1977; Cox *et al.*, 1977; Goldman, 1977; Mills y Wilkinson, 1986; James *et al.*, 1989; Blanchard *et al.*, 1996). Estos últimos autores encontraron que hay un incremento en la capacidad fotosintética, en diatomeas del género *Navicula* cuando se incrementa la temperatura hasta un nivel óptimo y después del cual ésta declina.

En muchos estudios se ha demostrado que la máxima tasa fotosintética y la intensidad de luz, a la cual la fotosíntesis llega a su nivel de saturación, están correlacionadas positivamente con la temperatura (Harris, 1980). Para las especies estudiadas, en el intervalo de temperaturas evaluado, probablemente la irradiancia no fue suficiente para llegar al nivel de saturación, por lo que el nivel de 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con respecto al nivel de 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ resultaría más limitante para el crecimiento de las cepas estudiadas.

Se ha encontrado que, la tasa de crecimiento de varias diatomeas alcanza su nivel de saturación entre 50 y 200 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, para diferentes temperaturas (Colijn y Buur, 1975; Thompson *et al.*, 1990; Suzuki y Takahashi, 1995). Sin embargo, algunos autores mencionan que la saturación para diatomeas bentónicas se alcanza a valores de irradiancia mayores, de 300 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Colijn y Buurt, 1975; Whitney y Darley, 1983; Mills y Wilkinson, 1986; Kromkamp *et al.*, 1998). Estos autores encontraron que la fotoinhibición en comunidades de microalgas bentónicas está casi ausente aún a altos niveles de irradiancia, 700 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para invierno y más de 1200 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para verano.

Cota-Sánchez (1998) y Cuevas-Rocha (1998) estudiaron el crecimiento de las mismas cepas de diatomeas bentónicas utilizadas en este trabajo y encontraron que, la fase estacionaria se alcanzó al quinto día de cultivo. Sin embargo, en los ensayos de este trabajo la fase estacionaria se alcanzó después del décimo día. Esta diferencia pudo ser debida a que estos autores utilizaron luz continua y en este estudio se aplicó fotoperíodo de 12h:12h (luz:obscuridad).

Al comparar los valores de la biomasa total obtenida al final de los cultivos para las diferentes microalgas ensayadas, se observó una relación directa entre el tamaño de las células y la biomasa. Así, la diferencia en tamaño entre los géneros de las cepas mostró que las especies de mayor tamaño, pertenecientes al género *Nitzschia* produjeron una mayor biomasa final (peso seco total y peso seco orgánico), a pesar de su menor densidad. El caso contrario ocurrió con las cepas del género *Navicula* y *Amphora*.

Brown (1991) analizó la composición bioquímica de varias diatomeas, donde la proteína fue siempre el componente principal, seguido usualmente por los lípidos y por último los carbohidratos. Una tendencia similar predominó en la mayoría de las cepas estudiadas, en otros casos se encontró como componente principal los lípidos, seguidos por las proteínas y por último los carbohidratos. Estas dos tendencias manifiestan las cualidades requeridas por organismos para promover el crecimiento. Algunos autores mencionan a los lípidos como más importantes que las proteínas y carbohidratos para promover el crecimiento en larvas de moluscos bivalvos (Webb y Chu, 1982).

Los resultados de los porcentajes de proteínas (20.2 a 39.2 %), carbohidratos (3.9 a 24.9 %) y lípidos (5.29 a 42.7 %) se encontraron dentro del intervalo de valores reportado por varios autores para diversas diatomeas (Tabla XXXIV): proteínas (11.0 a 69.3 %), carbohidratos (2.0 a 40.0 %) y lípidos (1.8 a 45.0 %). Estos porcentajes son suficientes para incluirlos en las dietas de peces, crustáceos y moluscos (Brown *et al.*, 1989; Knauer *et al.*, 1994 y 1996).

El contenido relativo de proteínas es función de la cantidad de nutrimentos proporcionados a las microalgas, la deficiencia de algunos de éstos, tales como nitrógeno, fósforo y silicio, en los cultivos incrementan la producción de carbohidratos y lípidos a expensas de proteínas (Thomas *et al.*, 1984; Minghou *et al.*, 1986; Bhosle *et al.*, 1993). Estas deficiencias no fueron evidentes en las microalgas estudiadas, al menos en el período de cultivo en que se mantuvieron, ya que el medio utilizado ("f") es de los más completos para la mayoría de las microalgas, además los cultivos se mantuvieron hasta el último día en la parte

final de la fase de crecimiento exponencial (observaciones obtenidas en experimentos preliminares).

En la mayoría de los tratamientos, los niveles de proteínas más altos se encontraron a $80 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A excepción de las cepas *Amphora catenula* a 20 y 25 °C y *Nitzschia* sp. (NI-X2 y NI-X5) a 15 °C, donde los valores de proteínas a esta intensidad de luz fueron menores. Estos resultados son acordes con lo encontrado en *Thalassiosira pseudonana* (Brown *et al.*, 1996) y en *Phaeodactylum tricornutum* (Chrimadha y Borowitzka, 1994); aunque Claustre y Gostan (1987) mencionan que no detectaron variación en el contenido de proteínas de *Isochrysis galvana* en diferentes irradiancias.

Los cambios en los porcentajes de proteínas variaron entre las especies, también fue notoria una diferencia en el nivel de 20 °C con respecto a 15 y 25 °C. Se observó que las diferencias del porcentaje de proteínas está regido principalmente por la temperatura, como lo encontraron Redalje y Laws (1983) en *Thalassiosira alleni*. Hubo dos formas de variación, en las cepas NV-C2, NI-X2, NI-X3 y NI-X5 el porcentaje a 20°C fue mayor que a los otros niveles de temperatura, mientras que para NI-C1 y AM-C1 el porcentaje fue menor a 20 °C.

Las diatomeas marinas parecen tener una producción alta de carbohidratos, tanto en el medio natural (Bhosle *et al.*, 1993) como en cultivos (especialmente en la fase estacionaria) (Myklestad, 1977). Los porcentajes de carbohidratos de *Amphora coffeaeformis* y *T. pseudonana*, en cultivos bajo diferentes regímenes de luz, tienen una variación aparente más grande que las proteínas y lípidos (Bhosle *et al.*, 1993; Brown *et al.*, 1996).

Los porcentajes de carbohidratos determinados en este estudio fueron en general mayores en la intensidad de luz más alta, (a $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en los tres niveles de temperatura. El contenido de carbohidratos en *Phaeodactylum tricornutum* (Chrymadha y Borowitzka, 1994) e *Isochrysis* sp. (Brown *et al.*, 1993) se incrementa directamente con la irradiancia.

En este estudio la mayoría de las cepas cultivadas a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ tuvieron un porcentaje de carbohidratos mayor que a $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$, excepto para *Nitzschia closterium*, que presentó un porcentaje menor.

Enright *et al.* (1986) encontraron que dietas de microalgas con altos niveles de carbohidratos produjeron los mejores resultados en cultivos de juveniles de *Ostrea edulis*.

Los lípidos son el principal material de almacenamiento de las diatomeas (Dunstan *et al.*, 1994), que puede promover el crecimiento en las fases larvianas de moluscos (Webb y Chu, 1983).

El porcentaje de lípidos en las diatomeas igualmente se ve afectado por cambios en la irradiancia (Thompson *et al.*, 1990; Bhosle *et al.*, 1993; Brown *et al.*, 1993; Chrymadha y Borowitzka, 1994). Sin embargo, en este estudio se encontró que las diferencias en los porcentajes de lípidos no parecen depender de la luz ni de la temperatura, las diferencias encontradas pueden ser debidas a las características propias de cada microalga.

En los porcentajes de lípidos, se encontraron valores altos en los tres niveles de temperatura para las diferentes cepas, con sólo dos excepciones *Nitzschia closterium* y *Nitzschia* sp. (NI-X3) donde se encontraron porcentajes bajos a 25°C .

Los lípidos parecen variar en relación inversa a las proteínas en algunas especies. Por otro lado, en los extremos de temperatura (15 y 25 °C), una mayor proporción de la energía fue dirigida hacia materiales de reserva mientras que en otras especies este material de reserva se acumuló a 20 °C. Esto refleja diferencias en la temperatura óptima para las diferentes cepas.

Las diatomeas tienen altos porcentajes de cenizas, aportados principalmente por el tipo de pared celular que las conforma (silicio). Whyte (1987) encontró en diatomeas de los géneros *Thalassiosira* y *Chaetoceros* valores de 26.6 a 35.07 % de cenizas, indicando que bajos porcentajes de éstas implican bajos niveles de potasio y sodio intracelular. Las algas bentónicas son la principal fuente de minerales solubles, particularmente potasio. Los porcentajes de cenizas registrados (28.8 a 43.8 %) indican que bajo las condiciones de cultivo en este ensayo, no existió una carencia de estos minerales.

Otro de los componentes importantes en la dieta de organismos cultivados son los ácidos grasos. En diversas especies de moluscos, crustáceos y peces se ha observado que los ácidos grasos, en especial los insaturados, n-3 y n-6, son indispensables para obtener mejores crecimientos y altos porcentajes de sobrevivencia (Brown *et al.*, 1996). Los ácidos grasos 20:4, 20:5 y 22:6 influyen en el crecimiento y sobrevivencia de larvas de *Paralichthys olivaceus* (crustáceo) (Furuita *et al.*, 1998).

Existen pocos estudios sobre la determinación de ácidos grasos en diatomeas bentónicas. Las cantidades relativas de ácidos grasos (en % con respecto al total de ácidos

grasos) en las diatomeas estudiadas se encontraron dentro de los intervalos reportados por otros autores para diversas diatomeas (Tabla XXXV).

Brown *et al.* (1993) mencionan que en *Isochrysis* sp. cultivada a diferentes irradiancias se encontró una diferencia mínima en los porcentajes de ácidos grasos, lo cual es similar a lo que se encontró en este trabajo, a las dos intensidades de luz ensayadas.

Los porcentajes de los ácidos grasos 14:0 y 16:0 en la dieta se han correlacionan con altas tasas de crecimiento animal. Por lo que dietas con altos niveles de estos ácidos grasos saturados son importantes para un rápido crecimiento de larvas, ya que la energía es liberada más eficientemente (Thompson *et al.*, 1992). Al parecer el 16:0 es principalmente un producto de reserva de la energía excedente en diatomeas (Thompson *et al.*, 1990). Se ha encontrado que el 16:0 decrece en las diatomeas a intensidades de luz bajas (Thompson *et al.*, 1990). Las altas intensidades de luz podrían explicar los altos porcentajes del 16:0 encontrados.

El perfil de ácidos grasos encontrados en las microalgas de este estudio es similar a lo descrito para diatomeas. Se encontraron altos valores de 14:0, 16:0 y 16:1 n-7. En la literatura la suma de los porcentajes de estos ácidos más el 20:5 n-3 rebasa el 60 % del total de los ácidos grasos (Zhukova y Aizdaicher, 1995). Aunque en este estudio no se encontró el 20:5 n-3, juntos el 14:0, 16:0 y 16:1 rebasaron el 85 % del total de ácidos grasos.

Para todas las diatomeas estudiadas a excepción de *N. closterium* se obtuvieron valores del 16:0 mayores de los que se reportan en la literatura (Tabla XXXV). Muchos autores (Zhukova y Aizdaicher, 1995; Dunstan *et al.*, 1994) mencionan la predominancia del 16:1 con respecto al 16:0 como una característica propia de las diatomeas, sin embargo en el

presente estudio todas las diatomeas bentónicas presentaron una mayor proporción de 16:0 con respecto al 16:1.

Valores moderados de C_{18} , menores al 2%, encontrados en este estudio son comunes en diatomeas de los géneros *Chaetoceros*, *Skeletonema* y *Thalassiosira* (Volkman *et al.*, 1989). Los valores en este estudio fueron menores a lo reportado por otros autores (Tabla XXXV). Se piensa que el 18:1 es un intermediario en la biosíntesis de ácidos grasos y precursor de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en diatomeas (Reitan *et al.*, 1994). Las concentraciones de los ácidos C_{18} , a excepción del 18:1, son bajas, raramente exceden 1%.

Los valores de los C_{20} en este trabajo se encontraron dentro de lo reportado en la literatura (Tabla XXXV). El ácido graso 20:4 n-6 (ácido araquidónico) es comúnmente encontrado en la literatura sobre diatomeas, con valores entre 0.1 y 9.0 % y varias especies de diatomeas tienen proporciones significativas de este ácido (Volkman *et al.*, 1989; Dunstan *et al.*, 1994). Se ha sugerido que salmónidos y otros peces marinos requieren ácido araquidónico para producir prostaglandinas y eicosanoides (Napolitano *et al.*, 1988b). Este ácido fue detectado en todas las microalgas estudiadas, en *Nitzschia* sp. (NI-X3) el porcentaje fue muy pequeño y en *Amphora catenula* y *Nitzschia closterium* los valores fueron altos (2.51 y 1.51% respectivamente). Investigaciones realizadas por diversos autores muestran que el ácido araquidónico quizá puede ser crítico en la reproducción y desarrollo de bivalvos marinos, el cual es acumulado como fosfolípido, lo que indica su papel específico en la membrana celular (Joseph, 1982). Por otro lado, el ácido araquidónico está involucrado en

la maduración gonadal de *Crassostrea gigas* (Ono *et al.*, 1982), también en la regulación osmótica de *Mytilus demisus* (Freas y Grollman, 1980) y en la inducción al desove del abulón *H. rufescens* y el mejillón *M. californianus* (Morse *et al.*, 1976).

Es característica de diatomeas la presencia de valores altos del ácido graso 20:5 n-3. Sin embargo, éste no se encontró en ninguna de las especies ensayadas, lo cual resultó desconcertante, ya que en la mayoría de las diatomeas lo reportan. Existe la posibilidad de que este ácido se haya perdido por oxidación durante el almacenamiento de las muestras, ya que los ácidos grasos altamente poliinsaturados son los más susceptibles a este proceso. Otra razón pudo ser una extracción incompleta. Sin embargo, en los análisis sí se detectó el ácido graso 22:6, el cual se encuentra normalmente en las diatomeas en concentraciones menores que el 20:5 n-3 y suele perderse junto con éste por oxidación o por limitaciones en la extracción (Holtom *et al.*, 1964).

De haberse dado la oxidación de las muestras, existió por lo tanto también la probabilidad de perder el 22:6. Por otro lado, Cordero *et al.* (1993) observaron que existe una pérdida en el porcentaje de lípidos de microalgas preservadas por dos meses; pero que algunos ácidos grasos insaturados incluso se incrementaron ligeramente, aunque no se refieren específicamente al 20:5 n3. Las muestras de este estudio tuvieron un tiempo menor de almacenamiento, por lo que éste no pudo ser el caso de pérdida de ácidos grasos en las muestras.

Se ha documentado el incremento de ácidos grasos poliinsaturados en intensidades de luz bajas; bajos contenidos de 20:5 son explicados por alta irradiancia (Viso y Marty, 1993).

Los cultivos en el presente estudio se mantuvieron a 80 y 160 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y se considera que 80-125 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ es la intensidad de saturación o sobresaturación para varias especies de diatomeas planctónicas (Thompson *et al.*, 1990). Quizá las intensidades de luz utilizadas en este estudio provocaron la ausencia de este ácido graso y es posible que se encuentre en intensidades de luz menores a 80 $\mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Los valores del ácido graso 22:6 n-3 (0.1 a 6.21 %), en todas las diatomeas estudiadas se encontraron dentro del intervalo de valores reportados en la literatura (0.1 a 11%). Destacándose las cepas de *Amphora catenula* y *Nitzschia closterium* por tener altos porcentajes del 20:4 n-3 y 22:6 n-3. Este ácido, junto con el 20:5 n-3 influyen en los resultados de crecimiento y sobrevivencia de moluscos marinos (Volkman *et al.*, 1989), crustáceos y peces (Brown *et al.*, 1996). En *Chaetoceros gracillis* se detectan altos niveles de 22:6 n-3 por lo que generalmente se considera a esta especie para el cultivo de larvas de bivalvos y peneidos. Enright *et al.* (1986) encontraron que dietas de microalgas con altos niveles del 20:5 y 22:6 produjeron los mejores resultados de crecimiento en juveniles de *Ostrea edulis*.

Las proporciones de cada ácido graso pueden cambiar por la alteración de las condiciones de cultivo; pero estos cambios muchas veces dependen de la especie (Thompson *et al.*, 1992). Estos cambios se han documentado principalmente por limitación de nutrientes o cambios en la temperatura (James *et al.*, 1989; Thompson *et al.*, 1992) y también por variación de la irradiancia (Thompson *et al.*, 1990; Brown *et al.*, 1993; Chrismadha y Borowitzka, 1994). Este estudio solamente se realizó a 25°C, por lo cual no se

puede hacer una comparación con otras temperaturas. Thompson *et al.* (1990) encontraron que el 22:6 se incrementa con el aumento en la intensidad de luz, ésto puede apoyar los porcentajes obtenidos en este estudio.

Una deficiencia de nutrimentos específicos en una microalga no la descarta como parte de una dieta (Volkman *et al.*. 1989, Brown, 1991), ya que puede ser utilizada en combinación con otras especies de microalgas en alimentación mixta, de esta manera puede aportar los componentes bioquímicos indispensables para especies en cultivo.

La comparación de la biomasa y composición bioquímica de las siete cepas analizadas indica que éstas presentan las características adecuadas para ser evaluadas en dietas de organismos ramoneadores, aunque se destacan de entre éstas la cepa *Nitzschia closterium* y *Amphora catenula* por presentar la mayor biomasa y calidad nutricional adecuadas.

VI. CONCLUSIONES

- El tamaño de las microalgas bentónicas y la formación de tapetes homogéneos fuertemente adheridos al substrato, las hace potencialmente utilizables para la alimentación de organismos como el abulón.
- Las biomásas mayores, con base en el peso seco total y peso seco orgánico, de las diferentes microalgas fueron obtenidas en la intensidad de luz mayor, $160 \mu\text{moles fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.
- Las temperaturas para el mayor crecimiento de las diatomeas bentónicas seleccionadas fueron $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (NV-C2, AM-C1, y NI-X5) y $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (NV-C1, NI-C1, NI-X2, NI-X3 y NI-X5).
- Los componentes bioquímicos (proteínas, carbohidratos y lípidos) de las cepas analizadas no mostraron diferencias entre a las intensidades de luz, a excepción de la cepa *Nitzschia closterium*.
- La temperatura tuvo un efecto significativo en la composición gruesa de las diferentes cepas examinadas. En general, los mayores porcentajes de proteínas y carbohidratos fueron obtenidos a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y los mayores porcentajes de lípidos a $15 \text{ }^\circ\text{C}$.
- La composición de ácidos grasos de las diatomeas no estuvo influida por la intensidad de luz.

En todas las microalgas bentónicas se registró la presencia de los ácidos grasos 18:2, 18:3, 20:4 n-3 y 22:6 n-3, que son considerados esenciales para el crecimiento y sobrevivencia de moluscos bivalvos marinos y peces.

- Todas las cepas analizadas poseen una composición bioquímica adecuada para cubrir los requerimientos nutricionales de organismos bentónicos, en sus primeros estadios de desarrollo, sin embargo se recomienda realizar estudios de digestibilidad en organismos cultivados.

LITERATURA CITADA

- Admiral, W. 1977. Influence of light and temperature on the growth rate of estuarine benthic diatoms in culture. *Marine Biology*. 39:1-9
- Al-Hasan, R.H., A.M. Ali, H.H. Ka'wash y S.S. Radwan. 1990. Effect of salinity on the lipid and fatty acid composition of the halophyte *Navicula* sp.: potential in mariculture. *J. of Applied Phycology*. 2(3):215-222
- Alvarez-Cobelas, M. y J. Zarco-Lechado. 1989. Lipids in microalgae. A review I. *Biochemistry. Grasas y aceites*. 40:118-145
- Ben-Amotz, A. y T.G. Tornabene. 1985. Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.* 21: 72-81
- Bhosle, N.B., L.V. Evans y R.G.J. Edyvean. 1993. Carbohydrate production by *Amphora coffeaeformis*, a marine fouling diatom. *Biofouling*. 7:81-91
- Blanchard, G.F., J.M. Guarini, P. Richard, Ph. Gros y F. Mornet. 1996. Quantifying the short-term temperature effect on light-saturated photosynthesis of intertidal microphytobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 134:309-313
- Bligh, E.G. y W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian J. of Biochemistry and physiology*. 37(8):911-917
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey y C.D. Garland. 1989. Nutricional aspects of microalgae used in mariculture, a literature review. *CSIRO Marine Laboratories Report* 205
- Brown, M.R. 1991. The aminoacid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 145: 79-99
- Brown, M.R., G.A. Dunstan, S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, S.M. Barrett y J.M. LeRoi. 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of the Prymnesiophyte *Isochrysis* sp. (Clone T-ISO). *J. Phycol.*, 29:601-612
- Brown, M.R., G.A. Dunstan, S.J. Nordwood y K.A. Miller. 1996. Effects of harvest stage on life on the biochemical composition of the diatom *T.pseudonana*. *J. Phycol.* 32:64-73
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman y G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151:315-331

- Choubert, G. y O. Heinrich. 1993. Carotenoid pigments of the green alga *Haematococcus pluvialis*: assay on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, pigmentation in comparison with synthetic astaxantina and canthaxanthin. *Aquaculture*. 112: 217-226
- Chrismadha, T. y M.A. Borowitzka. 1994. Effect of cell density and irradiance on growth, proximate composition and eicosapentanoic acid production of *Phaeodactylum tricorutum* grown in a tubular photobioreactor. *J. of Applied Phycology*. 6: 67-74
- Chu, F.L., J.L. Dupuy y K.L. Webb. 1982. Polysaccharide composition of five algal species used as food for larvae of the american oyster, *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*. 29:241-252
- Chuecas, L. y J.P. Riley. 1969. Component fatty acids of the total lipids of some marine phytoplankton. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 49:97-116
- Claustre, H. y J. Gostan. 1987. Adaptation of biochemical composition and cell size to irradiance in two microalgae: possible ecological implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 40:167-174
- Cohen, Z. 1985. Products from Microalgae. Pág: 421-454 En: Richmond, A. (de.) *CRC Handbook of microalgal mass culture*. CRC Press Inc., Boca Ratón, Florida.
- Colijn, F. y G. Van Buurt. 1975. Influence of light and temperature on the photosynthetic rate of marine benthic diatoms. *Marine Biology*. 31:209-214
- Cordero-Esquivel, B. y D. Voltolina L. 1994. Growth of *Mytilus galloprovincialis* fed with fowl microalgae and to feeding regimes. *J. of the World Aquaculture Society*. 25 (3): 471-475
- Cordero-Esquivel, B., B.O. Arredondo-Vega, S. González-Medina, T. Lamela-Pérez y J. Fabregas-Casal. 1998. Fatty acids production of six strains of the microalgae *Skeletonema* cultured in bath system .En revisión
- Cordero-Esquivel, B., D. Voltolina L. y F. Correa-Sandoval. 1993. The biochemical composition of two diatoms after different preservation techniques. *Comp. Biochem. Physiol.* 105B(2):369-373
- Cota-Sánchez, F. 1988. Cultivo mono y pluriespecífico de tres diatomeas bentónicas en condiciones de luz y temperatura constantes. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Fac. de Ciencias de Mar
- Cox, E.J. D.T. Rose y J.M. Lewis. 1997. Using laboratory culture experiments to explore the ecological tolerances of benthic diatoms . *Phycologia Suppl.* 36(4):22

- Cuevas-Rocha, F. 1988. Competición e inhibición del crecimiento de tres diatomeas bentónicas de la laguna de Venecia. Tesis de Licenciatura .Universidad Autónoma de Sinaloa. Fac. de Ciencias del Mar
- de Jong, D.J. y V.N. de Jonge. 1995. Dynamics and distribution of microphytobenthic chlorophyll-a in the western Scheldt estuary (SW Netherlands). *Hydrobiologia*. 311:21-30
- De la Noüe, J., G. Laliberté y D. Proulx. 1992. Algae and waste water. *J. of Applied Phycology*. 4: 427-254
- Dokulil, M.T., R. Schmidt y S. Kofler. 1997. Benthic diatom assemblages as indicators of water quality in an urban flood-water impoundment, Neue Donau, Vienna, Austria. *Nova Hedwigia*. 65 (1-4):273-283
- Dortch, Q. 1982. Effect of growth conditions on accumulation of internal nitrate, ammonium, amino acids and protein in three marine diatoms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 61:243-264
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28:350-356
- Dunstan G.A., J.K. Volkman, S.M. Barrett y C.D. Garland. 1993. Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. *J. of Applied Phycology*. 5:71-83
- Dunstan, G.A., J.K. Volkman, S.M. Barrett, J.M. Leroi and S.W. Jeffrey. 1994. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (bacillariophyceae). *Phytochemistry*. 35: 155-161
- Durand-Chastel, H. 1980. Production and use of *Spirulina* in Mexico. Pág: 51-64 En: G. Shelef and C.J. Soeder (eds.) *Algae Biomass*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press
- Ebert, E.E. y J.L. Hook. 1984. Elements and innovations in the cultivation of the red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture*, 39: 375-392
- Enright, C.T., G.F. Newkirk, J.S. Craigie y J.D. Castell. 1986. Growth of juvenile *Ostrea edulis* L. fed *Chaetoceros gracilis* Schutt of varied chemical composition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 96:15-26
- Etcheverry, D. H. 1986. Algas bentónicas de Chile. Inst. Ocean. Univ. de Valparaiso Viña del Mar-Chile. UNESCO. pp: 98

- Freas, W., y S. Grollman. 1980. Ionic and osmotic influences on prostaglandin release from the gill tissue of a marine bivalve, *Modiolus demissus*. J. Exp. Biol. 84:169-185
- Furuita, H., T. Takeuchi y K. Uematsu. 1998. Effects of eicosapentanoic and docosahexanoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture. 161:269-279
- Goldman, J.C. 1977. Biomass production in mass cultures of marine phytoplankton at varying temperatures. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 27:161-169
- González, M.A., O.O. Parra y A.S. Cifuentes. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas en laboratorio. Pág.: 219-249 En: K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira y E. Sar (eds.) Manual de Métodos Ficológicos. Universidad de Concepción. Chile
- Guillard, R.R.L y J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. Can. J. Microb. 8: 229-239
- Harris, G.P. 1980. The measurement of photosynthesis in natural populations of phytoplankton. Pág.:129-190 En: I.Morris (ed.) The Physiological Ecology of Phytoplankton. University of California Press
- Harrison, P.J., P.A. Thompson y G.S. Calderwood. 1990. Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. J. of Applied Phycology. 2(1):45-56
- Holton, R.W., H.H. Blecker y M. Onore. 1964. Effect of growth temperature on the fatty acid composition of a blue-green alga. Phytochemistry. 3:595-602
- Horstmann, U. 1985. The use of microalgae in aquaculture. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 20: 153-156
- Hudon, C. y E. Bourget. 1983. The effect of light on the vertical structure of epibenthic diatom communities. Botánica Marina 26:317-330
- Hurlbert, S.H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. Ecological Monographs. 54(2):187-211
- James, C.M., S. Al-hinty y A.E. Salman. 1989. Growth and w³ fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes. Aquaculture. 77:337-351
- Joseph, J.D. 1982. Lipid composition of marine and estuarine invertebrates. Part II: Mollusca. Prog. Lipid Res. 21:109-153

- Kawamura, T. y R. Hirano. 1992. Seasonal changes in benthic diatom communities colonizing glass slides in Aburatsubo bay, Japan. *Diatom Research*. 7(2):227-239
- Kawamura, T., T. Saido, H. Takami y Y. Yamashita. 1995. Dietary value of benthic diatoms for the growth of post-larval abalone *Haliotis discus hannai*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 194:189-199
- Kawamura, T. 1996. The role of benthic diatoms in the early life stages of the Japanese abalone (*Haliotis discus hannai*). Pág.:355-367 En: Watanabe, Y., Y. Yamashita y Y. Olzeki (eds.) *Survival Strategies in Early Life Stages of Marine Resources*, International Workshop, Yokohama Japan
- Kawamura, T., R.D. Roberts y C.M. Nicholson. 1998. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*. 160:81-88
- Kennett, D.M. y P.E. Hargraves. 1985. Benthic diatoms and sulfide fluctuations: upper basin of Pettaquamscutt river, Rhode Island. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 21:577-586
- Knauer, J., P.J. Britz y T. Hecht. 1996. Comparative growth performance and digestive enzyme activity of juvenile South African abalone, *Haliotis midae*, fed on diatoms and a practical diet. *Aquaculture*. 140:75-85
- Knauer, J., T. Hecht y J.R. Duncan. 1994. Proximate composition of the South African abalone, *Haliotis midae* (Haliotidae:Gastropoda). *Aquaculture and Fisheries Management*. 25:351-354
- Kromkamp, J., C. Barranguet y J. Peene. 1998. Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 162:45-55
- Laing, I. y P.F. Millican. 1992. Indoor nursery cultivation of juvenile bivalve molluscs using diets of dried algae. *Aquaculture*. 102: 231-243
- Laing, I., A.R. Child y A. Janke. 1990. Nutricional value of dried algal diets for larvae of manila clam (*Tapes philippinarum*). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 70:1-12
- Lehninger, A.L. 1995. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*. Ediciones Omega, Barcelona
- López-Elias, J.A. 1990. *Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con medios simplificados: evaluación de técnicas analíticas y de producción*. Tesis de Maestría. C.I.C.E.S.E. Baja California, México 163 pp

- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A. Lewis F. y R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. of Biological Chemistry*. 193:265-275
- Matthews, I. y P.A.Cook. 1995. Diatom diet of abalone post-larvae (*Haliotis midae*) and the effect of pre-grazing the diatom overstorey. *Mar. Freshwater Res.* 46:546-548
- McLachlan, J. 1968. Marine Phytoplankter fatty acids. *J. Fish. Res. Bd. Canada*. 25(8):1603-1620
- Mills, D.K. y M. Wilkinson. 1986. Photosynthesis and light in estuarine benthic microalgae. *Botánica Marina*. 29:125-129
- Minghou, J., P. Shuzhu, P. Yongyao y N. Hong. 1986. Amino acid content of marine phytoplankton. *Acta Oceanológica Sinica*. 5(3):457-464
- Montfrans, J., R.L. Wetzel y R.J. Orth. 1984. Epiphyte-grazer relationships in seagrass meadows: consequences for seagrass growth and production. *Estuaries*. 7(4A):289-309
- Morse, D.E., H.Duncan, N. Hooker y A. Morse. 1976. Hydrogen peroxide induces spawning in mollusks, with activation of prostaglandin endoperoxide synthetase. *Science*. 196: 298-300
- Moss, S.M., G.D. Pruder, K.M. Leber y J.A. Wyban. 1992. The relative enhancement of *Penaeus vannamei* growth by selected fractions of shrimp pond water. *Aquaculture*. 101: 229-239
- Myklestad, S. 1974. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. I. Comparison of nine different species in culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 15:261-274
- Myklestad, S. 1977. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. II. Influence of the N/P ratio in the growth medium on the assimilation ratio, growth rate and production of cellular and extracellular carbohydrates by *Chaetoceros affinis* var. *willei* (Gran) Hustedt and *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 29:161-179
- Napolitano, G.E, W.M.N. Ratnayake y R.G. Akman. 1988. Reexamination of the fatty acids of three batch-cultured microalgae. *Bull. Aquaculture Ass.* 88(4):43-97
- Napolitano, G.E, W.M.N. Ratnayake y R.G. Akman. 1988. All-cis 3,6,9,12,15-octadecapentaenoic acid: a problem of resolution in the GC analysis of marine fatty acids. *Photochemistry*, 27(6):1751-1755

- Napolitano, G.E., R.J. Pollero, A.M. Gayoso, B.A. Maldonado y R.J. Thompson. 1997. Fatty acids as trophic markers of phytoplankton blooms in the Bahia Blanca Estuary (Buenos Aires, Argentina) and Trynity Bay (newfoundland, Canada). *Biochem. Systematics Ecol.* 25(8): 739-755
- Navarro-Mendoza, M.. 1985. Ecología trófica de la comunidad íctica en el estero de Punta Banda, Ensenada, México. Tesis de Maestría, C.I.C.E.S.E., Ensenada. 185 pp
- Nichols, P.D., D.W. Klumpp y R.B. Johns. 1986. Lipid components and utilization in consumers of a seagrass community: an indication of carbon source. *Comp. Biochem. Physiol.* 83 B: 103-113
- Ono, K., M. Osada, T. Matsutani, K. Mori y T. Nomura. 1982. Gonadal prostaglandin $F_{2\alpha}$ profile during sexual maturation in the oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg. *Mar. Biol. Letters.* 3:223-230
- Pande, S.V., R. Parvin K. y T.A. Venkitasubramanian. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Analytical Biochemistry.* 6:415-423
- Pawlik, J.R. 1992. Chemical ecology of the settlement of benthic marine invertebrates. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 30:273-335
- Pinckney, J. y R.G. Zingmark. 1991. Effects of tidal stage and sun angles on intertidal benthic microalgal productivity. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 76:81-89
- Redalje, D.G. y E.A. Laws. 1983. The effects of enviromental factors on growth and the chemical and biochemical composition of marine diatoms. I. Light and temperature effects. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 68:59-79
- Redalje, D.G., E.O. Duerr, J. de la Noüe, P. Mayzaud, A.M. Nonomura y R. Cassin. 1988. Algae as ideal waste removers: biochemical pathways. Pág.: 91-111 En M.E. Huntley (ed.) *Biotreatment of agricultural wastewater.* Univ. of California, San Diego, CA.
- Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo y Y. Olsen. 1994. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae. *J. Phycology.* 30:972-979
- Renaud, S.M., D.L. Parry y L.V. Thinh. 1994. Microalgae for use in tropical aquaculture and fatty acid composition of twelve species of microalgae from the northern territory, Australia. I. Gross chemical. *J. of Applied Phycology.* 6: 337-345
- Renaud, S.M., D.L. Parry, L.V. Thinh, C. Kuo, A. Padovan y N. Sammy. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *J. of Applied Phycology.* 3:43-53

- Richmond, A. 1985. Microalgae of economic potencial. Pág.: 199-244 En: Richmond, A. (de.) CRC Handbook of microalgal mass culture. CRC Press Inc., Boca Ratón, Florida.
- Richmond, A. 1990. Large scale microalgal culture and applications. Pág.: 1-166 En R. Chapman (eds.) Progress in Phycological Research. 7. Biopress Ltd
- Rizzo, W.M. 1990. Nutrient exchanges between the water column and a subtidal benthic microalgal community. Estuaries. 13(3):219-226
- Sargent, J.R., R.J. Parkers, I.H. Mueller y R.J. Henderson. 1987. Lipid biomarkers in marine ecology. Pág.: 119-138 En: Sleigh, M.A. (ed.) Microbes in the Sea. Ellis Horwood, Chichester, England.
- Sato, N. y N. Murata. 1988. Membrane lipids. Methods and Enzimology. 167:251-259
- Searcy-Bernal, R., A.E. Salas-Garza, R.A. Flores-Aguilar y P.R. Hinojosa-Rivera. 1992. Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in the red abalone (*Haliotis rufescens*). Aquaculture. 105:241-250
- Servel, M.O., C. Claire, A. Derrien, L. Coiffard y R. Holtzhauer. 1994. Fatty acid composition of some marine microalgae. Phytochemistry. 36(3):691-693
- Sicko-Goad, L. y N.A. Andresen. 1991. Effect of growth and light/dark cycles on diatom lipid content and composition. J. Phycol. 27: 710-718
- Sigmon, D.E. y L.B. Cahoon. 1997. Comparative effects of benthic microalgae and phytoplankton on dissolved silica fluxes. Aquatic. Microb. Ecology. 13:275-284
- Silva-Benavides, A.M. 1996. The use of water chemistry and benthic diatom communities for qualification of a polluted tropical river in Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 44(2):395-416
- Siqueiros-Beltrones, D. 1994. Asociaciones de diatomeas bentónicas marinas, análisis de su estructura y aplicación. Pág.: 59-71 En D.A. Siqueiros-Beltrones, D. Voltolina L. y A.M. Jaramillo-Legorreta (eds.). Serie Científica. U.A.B.C.S., La Paz, Baja California, México
- Siqueiros-Beltrones, D. y S.E. Ibarra-Ovando. 1985. Lista florística de las diatomeas epífitas de *Zostera marina* en la Bahía Falsa, San Quintín. Ciencias Marinas. 11(2):21-67
- Siqueiros-Beltrones, D., S.E. Ibarra-Ovando. y M. Poumián-Tapia. 1991. Composición y estructura de las asociaciones de diatomeas bentónicas del estero de Punta Banda en otoño de 1983 y 1986. Ciencias Marinas. 17(1):119-138

- Sommer, U. 1997. Selectivity of *Idothea chelipes* (Crustacea:Isopoda) grazing on benthic microalgae. *Limnol. Oceanogr.* 42(7):1622-1628
- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. Pág. 1-448 En Stein, J.R. (ed.) *Handbook of Pycological Methods. Culture Methods and Growth Measurement.* Cambridge University Press, Cambridge.
- Suzuki, Y. y M. Takahashi. 1995. Growth responses of several diatom species isolated from various enviroments to temperature. *J. Phycol.* 31:880-888
- Tacon, A.G.J. 1989. *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación.* O.N.U. Agricultura y Alimentación
- Thomas, W.H., D.L.R. Seibert, M. Alden, A. Neori y P. Eldridge. 1984. Yields, Photosynthesis Efficiencies and Proximate Composition of Dense Marine Microalgal Cultures. III. *Isochrysis* sp. and *Monallantus salina* Experiments and Comparative Conclusions. *Biomass.* 5:299-316
- Thompson, P.A., P.J Harrison y J.N.C. Whyte. 1990. Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton. *J. Phycol.* 26: 278-288
- Thompson, P.A. y M. Guo. 1992. Effects of variation in temperature. I. On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. *J. Phycol.* 28:481-488
- Thompson, P.A., M. Guo, P.J. Harrison y J.N.C. Whyte. 1992. Effects of variation in temperature, composition of eight species of marine phytoplankton. II. On the fatty acid. *J. Phycol.* 28: 488-497
- Trujillo-Valle, M.L. 1993. La Colección de Microalgas del C.I.C.E.S.E. Informe técnico. Comunicaciones Académicas, Serie Acuicultura, CICESE 103 pp CIACT9303
- Varela, M. 1985. Medida de la producción primaria de la microflora bentónica. Revisión metodológica. *Biol. Inst. Esp. Oceanog.* 2(2):53-68
- Viso, A.C. y J.C. Marty. 1993. Fatty acids from 28 marine microalgae. *Phytochemistry.* 34(6): 1521-1533
- Volkman, J.K. S.W. Jeffrey, P.D. Nichols, G.I. Rogers y C.D. Garland. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 128: 219-240
- Volkman, J.K., G.A. Duncan, S.M. Barret, P.D. Nichols y S.W. Jeffrey. 1992. Essential polyunsaturated fatty acids of microalgae used as feedstocks in aquaculture En: G.L. Allan and W. Dall (eds.). *Proc. Aquac. Nut. Workshop, Salamander Bay, Australia*

- Volkman, J.K., M.R. Brown, G.A. Dunstan y S.W. Jeffrey. 1993. The biochemical composition of marine microalgae from the class Eustigmatophyceae. *J. Phycol.* 29:69-78
- Voltolina, D. L. 1985. Biomass evaluation in cultures of benthic diatoms: an experimental review of methodology. Coastal Marine Science Laboratory. Internal Manuscript Series Report. 85-4. 40pp
- Vyverman, W., R. Vyverman, V.S. Rajendran y P. Tyler. 1996. Distribution of benthic diatom assemblages in Tasmanian highland lakes and their possible use as indicators of environmental changes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53:493-508
- Webb, K.L. y F.E. Chu. 1982. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. Pág.:272-291 En: Pruder G.D., C.J. Langdon y D.E. Conklin (eds.) Proceedings of the second international conference on aquaculture nutrition: biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition
- Whitney, D.E. y W.M. Darley. 1983. Effect of light intensity upon salt marsh benthic microalgal photosynthesis. *Marine Biology.* 75:249-252
- Whyte, J.N.C. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture. *Aquaculture.* 60:231-241
- Zhukova, N.V. y N.A. Aizdaicher. 1995. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. *Phytochemistry.* 39(2):351-356