

**Centro de Investigación Científica y de
Educación Superior de Ensenada**



**EVALUACION DE TRES MEZCLAS DE MICROALGAS
SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA ALMEJA MANO
DE LEON *Liropecten (Nodipeoten) subnodosus***

**TESIS
MAESTRIA EN CIENCIAS**

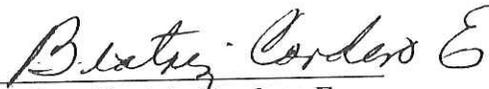
ANA NALLELY CERON ORTIZ

ENSENADA, B. C., AGOSTO DEL 2000.

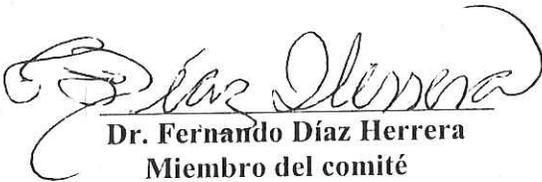


**TESIS DEFENDIDA POR
Ana Nallely Cerón Ortiz**

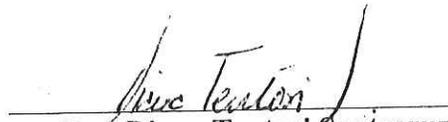
Aprobada por:



**Dra. Beatriz Cordero E.
Director de Tesis**



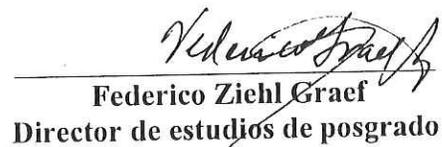
**Dr. Fernando Díaz Herrera
Miembro del comité**



**Dra. Diana Tentori Santacruz
Miembro del comité**

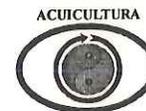


**Fernando Bückle Ramírez
Jefe del Departamento de Acuicultura**



**Federico Ziehl Graef
Director de estudios de posgrado**

Fecha de examen: 30 de Agosto del 2000.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN
SUPERIOR DE ENSENADA
(CICESE)**

**DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA**

**Evaluación de tres mezclas de microalgas sobre el crecimiento de la
almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus***

TESIS

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

Presenta

ANA NALLELY CERÓN ORTIZ

Ensenada, B.C., Agosto del 2000.

RESUMEN de la Tesis de ANA NALLELY CERÓN ORTIZ, presentada como requisito parcial, para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS con especialidad en ACUICULTURA. Ensenada, Baja California, México. Agosto del 2000.

EVALUACION DE TRES MEZCLAS BIALGALES SOBRE EL CRECIMIENTO
DE LA ALMEJA MANO DE LEÓN *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*.

Resumen aprobado por:



Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Directora de Tesis

Se evaluaron cultivos estáticos y semicontinuos de las microalgas *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans*. Se seleccionó la tasa de dilución óptima para las tres cepas de microalgas y se analizó su composición bioquímica. De las tres tasas de dilución (20, 30 y 50 %) se seleccionó la tasa de dilución menor para las tres microalgas por haber mantenido en un número constante su biomasa celular.

Con relación a la composición bioquímica de las microalgas en cultivo semicontinuo, se encontró que las proteínas variaron de 20.4 a 23.7 % en base al peso seco orgánico (PSO), en carbohidratos los porcentajes se encontraron entre 7.0 a 10.0 en base al PSO y los lípidos estuvieron entre 11.2 a 14.4 % en base al PSO. Los perfiles de ácido grasos de las microalgas mostraron que los ácidos grasos del grupo de los poliinsaturados se encontraron en mayor proporción. Los porcentajes mayores de 20:4 ω 6 y 20:5 ω 3 se obtuvieron en las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* y en el caso del 22:6 ω 3 en *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri*.

Se analizó la tasa de filtración de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*, con tres diferentes raciones alimenticias (200,000; 300,000 y 450,000 cél·ml⁻¹). Con las tres diferentes raciones los organismos mostraron las mayores tasas de filtración durante las primeras horas disminuyendo a través del tiempo, sin embargo, al proporcionarles a los organismos las dos raciones mayores se observó una elevada cantidad de alimento remanente después de 24 hrs. en comparación de la ración menor, además, los organismos alimentados con la ración de 450,000 cél·ml⁻¹ registraron una producción de pseudoheces, por lo anterior se seleccionó la ración de 200,000 cél·ml⁻¹ para los ensayos de alimentación.

Los mayores incrementos en longitud y peso de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* fueron obtenidos con los organismos alimentados con la mezcla compuesta de las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans*, donde la presencia y el contenido de los ácidos grasos esenciales 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 estuvieron en una proporción adecuada, lo cual se reflejó en el crecimiento de los organismos.

Palabras clave: Microalgas, composición bioquímica, alimentación.

Abstract OF THE Ana Nallely Cerón Ortiz, presented as partial requeriment to obtain the MASTER IN SCIENCES grade in AQUACULTURE. Ensenada, Baja California, México. August 2000.

EVALUATION OF THREE MIXTED OF MICROALGAE ON THE GROWTH OF
LION'S HAND *Lyropecten (Nodipecten) Subnodosus*.

ABSTRACT

Microalgae *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* and *Chaetoceros calcitrans* batch and semi-continuous culture were evaluated. The optimum dilute rate for the three microalgae was selected and their biochemical composition was analyzed. The smallest dilute rate (20 %) was selected, because this rate kept a constant number of cells.

About the chemical composition of the three microalgae in semi-continuous culture, the proteins were variable from 20.37 to 23.70 % on base to organic dry weight (PSO), the percentage of the carbohydrate was found between 7.02 to 10.00 % on base to PSO and the lipids were between 11.20 to 14.37 % on base to PSO. The profile of fatty acid showed that the polyunsaturated group had the major proportion. The major quantity of the 20:4 ω 6 and 20:5 ω 3 was found in the microalgae *Pavlova lutheri* and *Chaetoceros calcitrans*, about the acid 22:6 ω 3 was found principally in *Isochrysis* sp. and *Pavlova lutheri*.

The filtration rate of *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* was analyzed with three different algal concentrations (200,000; 300,000 y 450,000 cell·ml⁻¹). The major filtration rate was obtained during the first hours subsequently it was reduced. However, the two major concentrations had more quantity of food after 24 hours than the smallest concentration. Moreover, the organism feed with the concentration of 450,000 cells·ml⁻¹ produced pseudofaeces, for this reason the ration of 200,000 cells·ml⁻¹ was selected for the feeding experiments.

The major increases in length and weight of *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* were in the organism feed with *Pavlova lutheri* and *Chaetoceros calcitrans* mixture, where the quantity of the essential fatty acid 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 and 22:6 ω 3 were in an appropriate proportion.

Keywords: Microalgae, biochemical composition, feeding .

DEDICATORIA

A mis padres Julita y Nazario por su apoyo
en las decisiones más importantes de mi vida.

A mis hermanos Hilda, Nazario y Cesar
por su confianza y apoyo.

A mi esposo Gabriel por su comprensión
y ayuda.

A mis amigos por sus muestras
de afecto y cariño.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a mi directora de tesis Dra. Beatriz Cordero quien me apoyó y dirigió con paciencia y dedicación a través de la duración de mi maestría.

Al Dr. Fernando Díaz Herrera, por su interés y apoyo en este trabajo, así como sus observaciones y sugerencias, las cuales fueron de gran importancia.

A la Dra. Diana Tentori, por su tiempo e interés en la elaboración de mi tesis, así como sus observaciones y sugerencia para la reatotalimentación de mi trabajo.

A la Dra. Bertha Olivia Arredondo, quien me dirigió con paciencia y dedicación en una parte sustancial de esta tesis, así como por haberme hospedado en su casa durante mi estancia en La Paz, B.C.S.

A Gabriel López Sánchez, por su apoyo en todo momento a través de mi tesis, porque siempre supo darme palabras de aliento y cariño cuando sentí caer, por entender y respetar mis aspiraciones.

A la familia Flores Ascencio, por recibirme como un miembro más de su familia, con quienes disfruté una gran parte de mi estancia en Ensenada, por sentirme querida y protegida, por quienes me brindaron un hogar sin reservas de ningún tipo.

A mis amigos Lorena Fraire, Leonel Ochoa y Milery Ochoa, quienes me brindaron su amistad sin reservas durante todo este tiempo y con quienes compartí grandes momentos de amistad y compañerismo.

A mis amigos Alicia Rebeca, Norma Araceli, Judith Nolasco, Gladis López, Carlos Florencia y Nodier García por su apoyo y confianza, así como también por el impulso que me dieron para que continuara en mi superación profesional y personal.

Al Oc. Miguel Robles por proporcionar los organismos de este trabajo de tesis de Maestría, así como por su entrenamiento durante mi estancia en el laboratorio de cultivos marinos del CIBNOR.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada por el apoyo brindado para mi formación académica y el desarrollo de la tesis de maestría a través de los proyectos 6360 y 6336 (CICESE-CIBNOR).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme favorecido a través de su sistema de becas para llevar a cabo mis estudios de maestría.

CONTENIDO

	Página
I.- INTRODUCCIÓN	1
I.1 Cultivo de moluscos bivalvos	7
I.2 Tasa de filtración	9
I.3 Ración alimenticia	11
I.4 <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> (Sowerby, 1935)	12
I.5 Justificación	15
II. OBJETIVOS	16
II.1 Objetivo general	16
II.2 Objetivos específicos	16
III. HIPÓTESIS	16
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	17
IV.1 Obtención de cepas	17
IV.2 Cultivo de microalgas	17
IV.3 Determinación de biomasa	18
IV.4 Composición bioquímica	19
IV.5 Ácidos grasos	19
IV.6 Cultivo de <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i>	21
IV.6.1 Obtención y acondicionamiento de semillas	21
IV.6.2 Ración alimenticia y tasa de filtración	22
IV.7 Alimentación	23
IV.8 Análisis estadístico	23
V. RESULTADOS	25
V.1 Cultivo de microalgas	25
V.1.1 Sistema estático	25
V.1.1.1 Peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO)	28
V.1.1.2 Composición bioquímica	30
V.1.2 Sistema semicontinuo	38
V.1.2.1 Tasa de dilución	38
V.1.2.2 Peso seco total y peso seco orgánico	39
V.1.2.3 Composición bioquímica	40
V.1.3 Mezclas bialgales destinadas para alimentación de <i>Lyropecten</i> (<i>Nodipecten) subnodosus</i> .	50
V.1.3.1 Peso seco total y peso seco orgánico	50
V.1.3.2 Composición bioquímica	51

CONTENIDO (Continuación)

	Página
V.2 Cultivo de <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i>	55
V.2.1 Alimentación	55
V.2.1.1 Tasa de filtración y ración alimenticia	55
V.2.1.2 Crecimiento de <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i>	58
VI. DISCUSIÓN	67
VII. CONCLUSIONES	77
LITERATURA CITADA	78

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1 Número de células ($\times 10^6$ cél·ml ⁻¹) de las microalgas <i>Isochrysis</i> sp. (A), <i>Pavlova lutheri</i> (B) y <i>Chaetoceros calcitrans</i> (C) mantenidas en sistema estático.	27
2 Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco total de tres microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> y CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	35
3 Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco orgánico de tres microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> y CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	36
4 Número de células ($\times 10^6$ cél·ml ⁻¹) obtenidas en cultivo semicontinuo aplicando tres tasas de dilución (20%, 30% y 50%) en las microalgas <i>Isochrysis</i> sp. (A), <i>Pavlova lutheri</i> (B) y <i>Chaetoceros calcitrans</i> (C).	42
5 Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco total de tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> y CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	47
6 Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco orgánico en tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> y CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	48
7 Porcentaje promedio de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's) 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 de tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo.	49
8 Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco total en tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Pavlova lutheri</i> y M3: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	53
9 Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco orgánico en tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Pavlova lutheri</i> y M3: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	54

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
10	Tasa de filtración ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$) con diferentes raciones alimenticias (A: 200,000; B: 300,000; C: 450,000 celmil^{-1}) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis sp.-Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans</i> y M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	57
11	Longitud promedio por semana (eje dorso-ventral) (A) y ancho promedio (eje antero-posterior) (B) de la concha de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis sp.-Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Chaetoceros calcitrans-Pavlova lutheri</i> y M3: <i>Isochrysis sp.-Chaetoceros calcitrans</i> .	60
12	Incrementos (mm) en talla (eje dorso-ventral) (A) y ancho (eje antero-posterior) (B) de la concha de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis sp.-Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Chaetoceros calcitrans-Pavlova lutheri</i> y M3: <i>Isochrysis sp.-Chaetoceros calcitrans</i> .	61
13	Peso húmedo promedio (A) e incrementos (B) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis sp.-Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Chaetoceros calcitrans-Pavlova lutheri</i> y M3: <i>Isochrysis sp.-Chaetoceros calcitrans</i> .	65

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>	<u>Página</u>
I Número de células $\times 10^6$ $\text{cél}\cdot\text{ml}^{-1}$ (desviación estándar entre paréntesis) de tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático. <i>Isochrysis</i> sp.; <i>Pavlova lutheri</i> ; <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	26
II Tasa de crecimiento (μ) promedio (desviación estándar entre paréntesis) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático.	28
III Peso seco total ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), peso seco orgánico ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) y porcentaje de cenizas (desviación estándar entre paréntesis) de tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> ; CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	29
IV Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) (desviación estándar entre paréntesis) en base a peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> ; CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	34
V Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de la microalga <i>Isochrysis</i> sp. mantenida en sistema estático (desviación estándar entre paréntesis).	37
VI Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de la microalga <i>Pavlova lutheri</i> mantenida en sistema estático (desviación estándar entre paréntesis).	37
VII Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de la microalga <i>Chaetoceros calcitrans</i> mantenida en sistema estático (desviación estándar entre paréntesis).	38
VIII Peso seco total ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), peso seco orgánico ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) y porcentaje de cenizas (desviación estándar entre paréntesis) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema semicontinuo con una tasa de dilución del 20% por día. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> ; CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	40
IX Porcentaje de proteínas (PRO), carbohidratos (CHO) y lípidos (LIP) (desviación estándar entre paréntesis), en base a peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema semicontinuo con una tasa de dilución del 20 % por día. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PA: <i>Pavlova lutheri</i> ; CH: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	46

LISTA DE TABLAS (Continuación)

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
X	Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo. ISO: <i>Isochrysis</i> sp.; PALI: <i>Pavlova lutheri</i> ; CHAE: <i>Chaetoceros calcitrans</i> .	46
XI	Peso seco total (PST), peso seco orgánico (PSO) y porcentaje de cenizas (desviación estándar entre paréntesis) de tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri</i> - <i>Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Isochrysis</i> sp.	50
XII	Porcentaje de proteínas, carbohidratos y lípidos (desviación estándar entre paréntesis), en base a peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO) de tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri</i> - <i>Chaetoceros calcitrans</i> y M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Isochrysis</i> sp.	51
XIII	Tasa de filtración (ml·min ⁻¹) con tres raciones alimenticias A: 200,000; B: 300,000 y C: 450,000 cel·ml ⁻¹ de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri</i> - <i>Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Isochrysis</i> sp.	56
XIV	Longitud promedio (en mm) (eje dorso-ventral de la concha) y desviación estándar (entre paréntesis) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri</i> - <i>Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Isochrysis</i> sp.	59
XV	Incremento promedio en longitud (eje dorso-ventral de la concha) en mm (A) y en porcentaje (B) (desviación estándar entre paréntesis) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri</i> - <i>Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Isochrysis</i> sp.	59
XVI	Ancho promedio (en mm del eje antero-posterior de la concha) y desviación estándar (entre paréntesis) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri</i> - <i>Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans</i> - <i>Isochrysis</i> sp.	62

LISTA DE TABLAS (Continuación)

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
XVII	Incremento promedio en ancho (eje antero-posterior de la concha) en mm (A) y en porcentaje (B) (desviación estándar entre paréntesis) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans-Isochrysis</i> sp.	62
XVIII	Peso húmedo promedio (en mg) (desviación estándar entre paréntesis), de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans-Isochrysis</i> sp.	64
XIX	Incremento promedio en peso húmedo (A) y porcentaje (B) (desviación estándar entre paréntesis) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans-Isochrysis</i> sp.	64
XX	Peso seco en mg (A: concha+carne; B:concha y C: carne) de la almeja mano de león <i>Lyropecten (Nodipecten) subnodosus</i> alimentada con tres mezclas bialgales. M1: <i>Isochrysis</i> sp.- <i>Pavlova lutheri</i> ; M2: <i>Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans</i> ; M3: <i>Chaetoceros calcitrans-Isochrysis</i> sp.	66

EVALUACIÓN DE TRES MEZCLAS DE MICROALGAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA ALMEJA MANO DE LEÓN *Lyropecten (Nodipecten)* *subnodosus*.

I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son microorganismos eucariotas que poseen una maquinaria fotosintética capaz de convertir la energía solar en biomasa con una eficiencia de 2 a 5 veces mayor que las plantas superiores (Thomas *et al.*, 1984). Estos microorganismos presentan altas tasas de producción, gran adaptabilidad a distintas condiciones ambientales y son omnipresentes en cualquier medio acuático donde exista una fuente de carbono, nutrientes y luz suficiente, dentro de un intervalo apropiado de temperaturas (Shelef y Soeder, 1980). Ellas son el punto biológico de arranque del flujo de energía a través de las cadenas alimenticias acuáticas más importantes, transmitiendo energía y nutrientes esenciales en forma de proteínas, carbohidratos y lípidos, por este motivo su producción intensiva es una parte integral de muchos laboratorios que se dedican al cultivo de organismos filtradores (Whyte, 1987; De Pauw y Persone, 1988).

En general, se han propuesto y desarrollado numerosas aplicaciones de microalgas vivas o procesadas. Un ejemplo de ello es su uso en el tratamiento de aguas residuales, donde controlan la cantidad de metales pesados por medio de la detoxificación biológica. En el campo de la biomedicina y farmacología forman parte en las dietas de adelgazamiento y tratamiento de heridas debido a su elevado contenido proteico, así como en actividades antitumorales, antifúngicas y antibacterianas. En el caso de la agricultura se dirigen a la producción de fertilizantes. Dentro de la industria química se utilizan en la producción de

sustancias como lo son las vitaminas, pigmentos, aminoácidos, polisacáridos, ceras, fosfolípidos, lecitinas y ácidos grasos esenciales en dietas de una amplia variedad de organismos de importancia comercial (Wikfors *et al.*, 1984; Fábregas *et al.*, 1984; Wikfors, 1986).

Las microalgas son una fuente primaria de alimento para la mayoría de los organismos acuáticos, es por ello que presentan una gran importancia en la acuicultura ya que son utilizadas directamente en el crecimiento de bivalvos, larvas de crustáceos y en las primeras etapas del desarrollo de algunos peces, lo que implica una demanda de volúmenes sustanciales de microalgas apropiadas para su alimentación (Persoone y Claus, 1980; Bonotto, 1988; Brown *et al.*, 1989). En el cultivo de bivalvos la mayor parte de la producción de microalgas se dedica a la alimentación de semilla (Albentosa *et al.*, 1996).

El alimento es un factor primordial para el crecimiento de los organismos, los cuales tendrán requerimientos alimenticios diferentes dependiendo del estadio en el que se encuentren, por lo cual es importante elegir adecuadamente las especies de microalgas, para que provean los lípidos, proteínas, carbohidratos y demás compuestos necesarios para el crecimiento de la especie cultivada (Sorgeloos y Léger, 1992). En sistemas de cultivo las algas más comúnmente usadas por sus características morfológicas y valor dietético son las microalgas *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros* sp. y *Tetraselmis* sp. entre otras (Napolitano, 1990; Sukenik y Wahnnon, 1990; Benemann, 1992; Trujillo-Valle y Voltolina, 1994).

Sin embargo, la información sobre la composición bioquímica del alga no es suficiente, también es necesario conocer los requerimientos del organismo y su habilidad de

digerir el alimento ofrecido. Por otra parte, es necesario evaluar la rentabilidad y efectividad con relación a los costos de producción a gran escala de la microalga (Borowitzka, 1997; Lango, 1999).

Las microalgas usadas en maricultivos proveen nutrientes esenciales para el desarrollo de organismos filtradores, sin embargo, algunas especies no son adecuadas como alimento debido a su tamaño, digestibilidad, valor nutricional (depende de su composición bioquímica) o al hecho de que no cubren los requerimientos específicos del organismo a alimentar (Brown *et al.*, 1989; Albentosa, 1996). Es por ello que algunas microalgas que no pueden ser utilizadas por un tipo de organismos pueden ser empleadas exitosamente como dieta para otros (Trujillo y Voltolina, 1994), por ejemplo *Prymnesium parvum* es considerada tóxica para peces y crustáceos, pero es mejor alimento en larvas de *Mytilus edulis* comparada con *Pavlova lutheri* a pesar de que esta microalga es considerada uno de los mejores alimentos (De Pauw *et al.*, 1984).

El valor nutricional de las microalgas depende principalmente de su composición bioquímica, la cual difiere significativamente en las distintas fases de crecimiento algal o cuando están limitadas por algún factor (luz, nutrientes, etc.), por lo cual es muy importante contar con microalgas que tengan una composición bioquímica adecuada y que ésta se mantenga constante durante el tiempo que se usen como alimento (Cordero y Voltolina, 1994). Las variables como el fotoperiodo, intensidad de luz, temperatura, tipo de nutrientes (medio de cultivo), tasa de dilución y la fase de crecimiento cuando es cosechada, pueden influir en la composición bioquímica (Brown *et al.*, 1989).

Se han realizado diversos estudios acerca de la fase en la cual debe ser cosechada la microalga y sobre el efecto que tiene en el crecimiento y sobrevivencia de los organismos, en los cuales se han encontrado que dependiendo de la especie de microalgas se debe de tomar en cuenta la cosecha óptima de las mismas para la alimentación (Hatate *et al.*, 1998). Durante la etapa de semilla es importante la aportación de elevados porcentajes de proteínas por parte del alimento ofrecido al organismo, pero uno de los componentes más importantes dentro de las dietas son los ácidos grasos y su relación con el contenido proteico (Fidalgo *et al.*, 1998). Es por ello que se debe tomar en cuenta que el crecimiento de los organismos no puede explicarse simplemente por el contenido de carbohidratos y proteínas, sino también por el contenido de ácidos grasos en las dietas, debido a que el conjunto de estos tres componentes determinan el valor dietario total del alimento (Nikos y Lucas, 2000).

Los lípidos son fuentes energéticas y metabolitos específicos que son esenciales para el crecimiento de los organismos. El aspecto más importante de los lípidos en la nutrición es el contenido y la proporción de ciertos ácidos grasos esenciales, así como su repercusión en el crecimiento, supervivencia y maduración en la mayoría de los organismos (Fidalgo *et al.*, 1998). Dentro de los lípidos, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) tienen una influencia importante en el organismo. Entre ellos destacan los ácidos eicosapentaenoico (EPA, 20:5 ω 3) y docosahexaenoico (DHA, 22:6 ω 3), los cuales poseen diversas actividades biológicas (Kinsella, 1990; Sukenik *et al.*, 1994) que los hacen interesantes para el desarrollo de los organismos. Algunas de las especies de microalgas marinas son seleccionadas como productoras potenciales de estos compuestos dentro de las cuales se encuentran: *Isochrysis* sp., *Nannochloropsis* sp., *Chlorella minutissima*, *Monodus*

subterraneus y *Phaeodactylum tricornerutum* (Borowitzka, 1988; Bajpai y Bajpai, 1993; Roessler, 1990; Yongmanitchai y Ward, 1991). De la misma forma Cary (1981) propone que las microalgas *Isochrysis galbana* y *Pavlova lutheri* son un alimento muy común en los primeros estadios de desarrollo de los organismos, ya que presentan altos porcentajes de ácidos grasos esenciales para la metamorfosis.

Langdon y Waldock (1981) usando dietas artificiales que contenían ácidos grasos poliinsaturados demostraron que estos son esenciales para el crecimiento en juveniles de ostión. De igual manera Webb y Chu (1983) encontraron que las microalgas que contenían altos porcentajes de los grupos ω -3 y ω -6 son un alimento altamente nutricional para las larvas de ostión. Se ha encontrado que las diferencias entre los contenidos de ácidos grasos en las larvas son una respuesta a las diferencias en la calidad nutricional de la microalga (Nikos y Ian, 2000).

La importancia de proporcionar una dieta de microalgas que contenga una cantidad considerable de los principales ácidos grasos que influyen en el crecimiento se debe a que los organismos no producen estos ácidos grasos esenciales y si esta producción llega a realizarse debido a la elongación de ácidos grasos de cadena más corta como los 18:0, la cantidad producida no es suficiente en muchas ocasiones, por lo que los incrementos obtenidos en la talla y peso del organismo son bajos (Volkman *et al.*, 1992; Dunstan *et al.*, 1992), por lo cual se han buscado dietas que satisfagan estos requerimientos nutricionales para cada especie y etapa de desarrollo de los organismos. Para ello, el uso de dietas monoalgales es aplicado en diferentes laboratorios de cultivo, sin embargo, la calidad nutricional es menor a la obtenida en mezclas con más de una microalga. Castagna (1975)

sugiere que las larvas y juveniles de moluscos bivalvos alimentados con una dieta basada en una mezcla con más de dos especies de microalgas presentan un mayor crecimiento y sobrevivencia que los organismos alimentados con una sola especie de microalga. Lo anterior es debido a que la conjunción de componentes dietarios como las proteínas, carbohidratos y ácidos grasos se ven enriquecidos en una dieta cuando está compuesta por más de una microalga, lo cual se ve reflejado en el crecimiento (Webb y Chu, 1982; Fidalgo *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 2000), aparentemente el factor determinante, más que la cantidad de calorías consumidas, es la complementación de las dietas (Díaz y Martínez, 1992; Velasco, 1997).

Un camino para determinar el valor alimenticio de las microalgas utilizadas como dieta ya sean monoalgales o multialgales es la estimación de la eficiencia de crecimiento de un organismo (Fidalgo *et al.*, 1994), el cual se presenta cuando existe un balance energético positivo, cuando la energía es asimilada correctamente y una porción de ella es utilizada para incrementar el peso corporal (Yantian y Blake, 1996). Sin embargo, existen diferentes factores endógenos y exógenos que influyen en el crecimiento de los organismos, los cuales pueden llegar a crear confusiones en el momento de comparar el valor nutricional de la dieta expresado en crecimiento. Entre los principales se encuentran la temperatura, la cantidad de alimento disponible, la ración alimenticia, la tasa de flujo (limita la cantidad de alimento suspendido), la edad o etapa de crecimiento y la línea genética (Pouvreau *et al.*, 1994; Ian, 2000; Nikos y Lucas, 2000), esta última puede influir mayormente en una posible confusión al evaluar las dietas debido a que afecta la sobrevivencia y la capacidad de crecimiento del organismo (Nikos y Lucas, 2000).

Asimismo, la temperatura es uno de los principales factores que pueden retrasar o acelerar la tasa de crecimiento. Sin embargo, al modificar la temperatura pueden verse afectadas otras condiciones del cultivo e incluso los mismos organismos. Ian (2000) observó que al incrementar la temperatura se aceleró el crecimiento de la escalopa *Pecten maximus*, pero bajo estas circunstancias el requerimiento de alimento también es mayor, por lo cual, la necesidad de proporcionar y producir mayores cantidades de alimento eleva los costos de producción. Lo anterior no se ha visto como una ventaja debido a que en muchas ocasiones el aumento en el crecimiento se dirige a la concha y no se ve reflejado significativamente en el callo, debido a los altos requerimientos energéticos.

I.1 Cultivo de moluscos bivalvos

La extracción de moluscos marinos del medio natural se ve facilitada por el hecho de que en su mayoría son organismos sedentarios, lo cual, aunado a la alta demanda de productos marinos en los mercados nacionales e internacionales ha llevado a la explotación y a una incipiente recuperación de diversas especies que presentan un alto valor comercial (Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, 1986; Rangel, 1990; Reyes, 1990).

Un grupo de organismos de gran interés comercial son las escalopas de la familia de los pectínidos, las cuales soportan importantes pesquerías en varias partes del mundo, debido a lo anterior, su captura se ha incrementado en años recientes, sin embargo, la sobrepesca y las fluctuaciones naturales de las poblaciones han ocasionado importantes disminuciones de los bancos naturales de estos organismos (Reyes, 1986).

El cultivo comercial de almejas en México está muy limitado debido a la falta de conocimientos acerca de la biología de las diferentes especies pertenecientes a este grupo, principalmente las experiencias realizadas en este campo son en el ámbito experimental. En el litoral del pacífico mexicano encontramos 28 especies de pectínidos (Keen, 1971), de las cuales sólo tres se consideran de importancia económica: la almeja voladora *Pecten vogdesi*, la almeja catarina *Argopecten circularis* y almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* (Reyes, 1990; Baqueiro *et al.*, 1982).

Se reporta que *Pecten vogdesi* se encuentra en peligro de extinción, que *Argopecten circularis* es una especie sobreexplotada y *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* es una especie en vía de ser sobreexplotada (Baqueiro *et al.*, 1981), mientras que otros investigadores consideran a *Pecten vogdesi* y a *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* como especies en peligro de extinción (Chávez y Cáceres, 1992; Cáceres *et al.*, 1993). Por lo anterior se considera importante llevar a cabo estudios acerca de su biología, reproducción y sobre la aplicación de nuevas técnicas para el cultivo de estas especies.

Las investigaciones realizadas en moluscos bivalvos en el ámbito experimental sólo se han dirigido a unas cuantas especies, entre ellas *Argopecten circularis*, mientras que las investigaciones realizadas en *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* y *Pecten vogdesi* son escasas y han sido enfocadas a la captación de semilla del medio natural con diferentes colectores, a la preengorda y engorda en sistemas submarinos, o al estudio del ciclo reproductivo de estos organismos (Ruiz y Cáceres, 1991; García *et al.*, 1992).

Uno de los principales problemas en el cultivo es la obtención de semilla (Reyes, 1990), en el caso de *Argopecten circularis* se han obtenido resultados favorables en la

producción de juveniles, lo cual no ha sido posible en el caso de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* y *Pecten vogdesi*, lo anterior requiere la realización de estudios enfocados a la producción y alimentación de larvas y semillas competentes para producción comercial (Robles y Serrano, 1995).

Uno de los intereses principales en la pesquería y el cultivo de estas especies radica en su alta tasa de crecimiento durante su primer año de vida, pudiendo variar en la misma especie debido a factores como la disponibilidad de alimento, temperatura del agua, la ración alimenticia, línea genética y la edad del organismo (Mottet, 1979, 1980; Pouvreau *et al.*, 1994; Nikos y Lucas, 2000). En densidades bajas se observaron crecimientos altos, por lo que existe una relación inversa entre el crecimiento de los organismos y la densidad del cultivo (Parsons y Dadswell, 1992).

I.2 Tasa de filtración

La tasa de filtración es un parámetro fundamental en estudios de alimentación en bivalvos, se han investigado un amplio número de métodos para la medición de la tasa de filtración, así como su relación con la concentración algal y la temperatura, sin embargo, los resultados obtenidos causan aún controversia (Riisgard, 1991).

Lo anterior se debe principalmente a que existen factores que alteran las tasas de filtración como lo son la especie, talla, edad, temperatura, corrientes, sustrato, las condiciones hidrodinámicas, la concentración de alimento y la fase en que se cosecha la microalga utilizada para alimento (Sanina, 1976; Griffiths, 1980; Cole *et al.*, 1992; Caers *et al.*, 1999). Otro factor que afecta la tasa de filtración así como la tasa de ingestión es el tamaño de la microalga (Hughes, 1969).

La concentración algal juega un papel importante en la tasa de filtración; se ha observado aparentemente una relación inversa entre la tasa de filtración y la concentración algal en mejillones lo cual es interpretado como un mecanismo regulador que controla la tasa de filtración hasta un punto en la cual permanece constante (Winter, 1973; Navarro y Winter, 1982; Sprung y Rose 1988). Cuando se asume la tasa de filtración como una función del tiempo, después de un período inicial de máxima filtración a altas concentraciones de microalgas la filtración de partículas decrece (Ulrik, 1991).

La tasa de filtración también puede verse alterada por el estrés que pueda sufrir un organismo debido al hecho de que la abertura de las valvas es menor y la cantidad de partículas filtradas se reduce. El decremento en la tasa de filtración como resultado de una abertura menor en las valvas se considera un efecto secundario del mejillón como respuesta a condiciones no adecuadas a los organismos (Riisgard, 1991).

Con relación a la talla del organismo y su efecto sobre la tasa de filtración, Navarro y Winter (1982) encontraron que en el caso de bivalvos la tasa se incrementa con la talla indistintamente de la concentración de alimento. Lo anterior puede deberse a que la capacidad de filtración fluctúa de acuerdo al estado de las branquias, puesto que la superficie de estas estructuras cumple un papel importante en la alimentación (aumenta su tamaño con la edad) (Riisgard y Randlau, 1981; Araya *et al.*, 1993). Lo cual fue confirmado por Fidalgo *et al.* (1998) en el caso de mejillones.

Peakes *et al.* (1969) señalan que hay dos maneras de medir la tasa de filtración de un organismo. El método directo se basa en interceptar y medir la corriente de alimentación. El método indirecto mide la tasa de renovación de partículas suspendidas en un volumen.

Schurink y Griffiths, (1992) estiman la tasa de filtración como el decremento en la concentración de partículas alimenticias (microalgas) en el agua a través de un tiempo determinado, calculada usando la fórmula estándar:

$$T.F (h^{-1}) = \frac{(\log_e N_1 - \log_e N_2) V}{TN}$$

donde N_1 y N_2 son la cantidad inicial y final de las partículas disueltas, V es el volumen del recipiente en litros, T es el tiempo en horas y N es el número de organismos en el recipiente.

I.3 Ración alimenticia

Se han examinado los efectos de varias condiciones de cultivo sobre el crecimiento de bivalvos juveniles relacionados con la cantidad de alimento disponible por organismo, que es uno de los factores más importantes en su cultivo ya que puede llegar a afectar el crecimiento (Walne y Spencer, 1974; Lu y Blake, 1997). Se han usado varios métodos para describir la ración alimenticia de moluscos bivalvos, generalmente ésta se expresa como la ración del peso específico diario, número de células o porcentaje de peso seco del alga por peso vivo del organismo (Urban *et al.*, 1983).

Se conoce que la ración alimenticia depende de varios factores como son la especie y las condiciones de cultivo de las algas que se utilizarán en la dieta (Coutteun *et al.*, 1994), así como también del estadio en que se encuentran los organismos (Webb y Chu, 1982).

Por lo anterior es necesario encontrar una ración alimenticia óptima que satisfaga los requerimientos del organismo. Es necesario considerar que una ración algal puede satisfacer el punto de vista calórico de la dieta, pero puede presentar deficiencias a nivel de componentes bioquímicos que son esenciales para el crecimiento (Urban *et al.*, 1983). Por

ello se han ensayado diversas raciones de alimento, dentro de las cuales se encuentra como la más común una ración equivalente al 6 % del peso del organismo, así como en números de células entre los 1.5 a 40×10^{-6} cel·ml⁻¹ para organismos entre los 13 y 76 mm de longitud (Navarro y Winter, 1982; Martínez *et al.*, 2000).

La importancia de encontrar una ración óptima para cada especie radica en que el proporcionar raciones alimenticias elevadas a la mayoría de los moluscos bivalvos dan como resultado la producción de pseudoheces. Como consecuencia, la calidad del agua se ve afectada y esto puede ocasionar que las válvulas de alimentación de los organismos bivalvos se cierren parcialmente con lo que la tasa de ingestión será menor y producirá un menor crecimiento (Mohlenberg y Riisgard, 1979).

Una desventaja de la producción de pseudoheces por organismos que se han alimentado con raciones mayores es que la energía destinada para el crecimiento se gasta en la producción de estas pseudoheces. Este mismo camino sigue la energía disponible para la reproducción en organismos maduros al ser sobrealimentados (Navarro y Winter, 1982).

Una alta ración alimenticia también puede llegar a afectar el crecimiento del organismo debido a que la eficiencia de asimilación y la tasa de filtración disminuyen (Riisgard y Randlov, 1981).

I.4 *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* (Sowerby, 1935)

Se distribuye desde la Laguna Ojo de Liebre, B.C, hasta Perú. La longitud máxima de su concha es de 175 mm (Keen, 1971). Esta especie habita en fondos blandos y someros (Felix, 1993) de aproximadamente 15 m de profundidad (Bernard, 1988), presenta una

reproducción hermafrodita (Keen, 1971) y es pelágica durante su estadio larval, mientras los juveniles y adultos presentan hábitos epibentónicos (Felix, 1993). Según Keen (1971), su clasificación es la siguiente:

Phylum	Mollusca
Clase	Bivalvia
Subclase	Lamellibranchiata
Orden	Anisomyaria
Super familia	Pectinacea
Familia	Pectinidae
Género	<i>Lyropecten</i>
Subgénero	<i>Nodipecten</i>
Especie	<i>subnodosus</i>

Actualmente existe cierta controversia en la ubicación taxonómica de esta especie, ya que algunos autores consideran al subgénero *Nodipecten* como género. Sin embargo, en este trabajo se presenta un enfoque conservador utilizando la nomenclatura citada anteriormente.

La escasa información sobre la biología y ecología de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*, así como el gran potencial que tiene para la acuicultura han motivado la iniciación de estudios orientados al desarrollo de técnicas de producción y alimentación de semillas en condiciones controladas, para disminuir en esta etapa la mortalidad y elevar la tasa de crecimiento.

Con relación a la cría de larvas, los aspectos más importantes a tomar en cuenta son: el efecto de las variables fisicoquímicas como la temperatura y la salinidad, las condiciones

del medio de cultivo, la densidad y la disponibilidad de alimento (Castagna y Kraeuter, 1981). Estos aspectos varían para cada especie, pero es importante considerar información de otros trabajos acerca de bivalvos marinos, ya que técnicas bien desarrolladas para una especie en particular pueden ser aplicadas y adaptadas a otras especies comerciales (Bourne *et al.*, 1989).

I.5 Justificación

La intensa explotación que han sufrido los bancos naturales de moluscos marinos ha ocasionado que en nuestro país varias especies se encuentren en peligro de extinción; tal es el caso de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*. La obtención de semilla para su cultivo se basa en la captación del medio natural con diferentes colectores lo que dificulta el cultivo de esta especie. Aunado a lo anterior, la existencia de una alta tasa de mortalidad presente en los cultivos tanto en campo como en laboratorio, es un reflejo de la falta de estudios sobre los requerimientos alimenticios en estadios larvales y postlarvales de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*. Por lo anterior consideramos que se requieren realizar estudios sobre los requerimientos alimenticios de larvas y postlarvas para obtener una producción en el ámbito comercial. En el presente trabajo se realizó un estudio a establecer los requerimientos nutricionales necesarios para el desarrollo de esta especie.

II. OBJETIVOS

II.1 Objetivo general

Determinación del valor alimenticio de tres mezclas de microalgas y su efecto en el crecimiento de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*.

II.2 Objetivos específicos

- 1.- Seleccionar la tasa de dilución óptima para tres especies de microalgas.
- 2.- Evaluar la composición bioquímica en sistema semicontinuo de tres especies de microalgas y sus mezclas.
- 3.- Determinar la tasa de filtración y la ración alimenticia óptima de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas de microalgas.
- 4.- Estimar el crecimiento de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas de microalgas.

III. Hipótesis

El valor nutricional de tres mezclas de microalgas influirá positivamente sobre el crecimiento de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1 Obtención de cepas

Las microalgas utilizadas en el presente trabajo son la Prymnesiophyceae *Isochrysis* sp. (IS-XI), la Haptophyceae *Pavlova lutheri* (PA-LI) y la diatomea *Chaetoceros calcitrans* (CH-CL) obtenidas de la Colección de Microalgas del Departamento de Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE).

IV.2 Cultivo de microalgas

El cultivo de las microalgas se inició con inóculos sucesivos partiendo de 10 ml de cultivo y continuando con 100 ml, 2 litros y 15 litros. Se mantuvieron bajo las siguientes condiciones: temperatura entre los 22 ± 1 °C, salinidad de 35 ‰, pH de 7.5-8 (el cual fue controlado con inyección de CO₂), fotoperíodo de 12:12 hrs (luz:obscuridad) el cual se proporcionó con lámparas fluorescentes (luz blanca, fría) para simular la iluminación diurna.

Para los cultivos de 10 ml hasta 2 litros, se utilizó agua de mar previamente esterilizada en autoclave a 110 °C. En el caso de cultivos en volúmenes de 15 l el agua de mar se esterilizó con 3 ml de cloro comercial por litro de agua durante 24 h y se le agregó tiosulfato de sodio en una proporción de 150 mg/l de agua de mar para la eliminación total del cloro. Se proporcionó aireación continua para ayudar al proceso; el aire circuló por filtros con carbón activado para evitar contaminaciones posteriores. El medio fue el medio "f/2" de Guillard y Ryther (1962), con silicatos para el caso de la microalga *Chaetoceros calcitrans*.

IV.3 Determinación de biomasa.

El crecimiento de las microalgas se inició con inóculos de $200,000 \text{ cél}\cdot\text{ml}^{-1}$ para cada cepa, monitoreándose diariamente las variables de temperatura y pH, así como el número de células.

El conteo diario de número de células se realizó en un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad, en el caso de la densidad óptica se midió con un espectrofotómetro Hach 2000.

Inicialmente los cultivos se mantuvieron en sistema estático y una vez alcanzada la fase de crecimiento máximo se inició un cultivo semicontinuo aplicándose tasas de dilución del 20, 30 y 50 % para obtener la dilución óptima de las tres especies de microalgas. El monitoreo del número de células se realizó antes y después de la dilución. El medio a utilizar para la renovación del cultivo en cada dilución fue el medio "f/2".

Para la determinación de la biomasa en base a peso seco, se tomaron volúmenes conocidos de los cultivos estáticos y semicontinuos durante la fase exponencial (por triplicado) cada tercer día. Estos se filtraron a través de filtros Whatman de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro, previamente lavados, incinerados en una mufla a $490 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y pesados. Al filtrar las muestras se lavaron con formiato de amonio al 3% para la eliminación de sales. Los filtros con la muestra se colocaron en una estufa a $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 h para obtener el peso seco constante, posteriormente se calcinaron en una mufla por 12 h para la determinación de cenizas y por diferencia se obtuvo el peso seco orgánico (Sorokin, 1973).

IV.4 Composición bioquímica

Para la realización de los análisis bioquímicos de las microalgas producidas en los cultivos (proteínas, carbohidratos y lípidos), se filtraron volúmenes conocidos por triplicado en filtros Whatman de 25 mm de diámetro. Las técnicas utilizadas fueron: proteínas por el método de Lowry *et al.* (1951), los carbohidratos se analizaron según el método colorimétrico del fenol-ác. sulfúrico de Dubois *et al.* (1956), los lípidos por el método de Pande *et al.* (1963), previa extracción con el método de Bligh y Dyer (1959). Para las curvas de calibración se utilizaron como estándares, albúmina de bovino en el caso de las proteínas, glucosa anhidra para los carbohidratos y tripalmitina con los lípidos.

IV.5 Ácidos grasos

Para la obtención de los ácidos grasos, se tomaron volúmenes conocidos cada tercer día, por duplicado de cada cultivo de las microalgas (*Isochrysis sp.*, *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans*). Las microalgas cosechadas fueron centrifugadas y lavadas con formiato de amonio al 3 % para la eliminación de sales. La muestra obtenida durante la centrifugación fue liofilizada y pesada para la realización de los análisis de ácidos grasos.

La extracción de los lípidos se realizó por el método de Bligh y Dyer (1959). La fase lípidica 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 el análisis se utilizó una columna de tipo capilar, de sílice fundido, 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 μ l 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 1:00, 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 μ g de ácidos grasos por mg de muestra liofilizada (con base en el peso seco orgánico); en porcentajes con base en el total de ácidos grasos y en porcentajes 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.

IV.6 CULTIVO DE *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*

IV.6.1 Obtención y acondicionamiento de semillas

Las semillas de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* se obtuvieron del Laboratorio de producción de moluscos perteneciente al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), localizado en La Paz, B.C.S., se seleccionaron organismos de tallas similares (≈ 4 mm), los cuales se acondicionaron en cubetas de 20 litros con agua pasada por luz UV y filtrada a $1 \mu\text{m}$, los organismos se colocaron al azar en un sistema cerrado con flujo de aire constante (air lift) para minimizar la sedimentación del alimento (microalgas). Los organismos se mantuvieron en condiciones constantes de temperatura (21 ± 1 °C). Durante el tiempo de acondicionamiento (5 días) se alimentaron con la microalga *Isochrysis* sp.

La limpieza del sistema se realizó diariamente para reducir el riesgo de contaminación debido a la producción de heces, así como para evitar daños a los organismos.

Después del período de acondicionamiento se seleccionaron al azar nueve grupos de 25 organismos cada uno y se colocaron en cubetas de 20 l. Los organismos se midieron a lo largo de los ejes dorsoventral (longitud) y anteroposterior (ancho). Se sacrificó un lote de 10 organismos para la obtención del peso húmedo, peso seco total y peso seco orgánico iniciales.

Para conocer los parámetros biométricos iniciales como longitud (eje dorsoventral) y ancho (eje anteroposterior) de la concha se utilizó un microscopio estereoscópico adaptado con una reglilla. Los pesos seco y orgánico se realizaron utilizando el método gravimétrico descrito anteriormente para microalgas, con un tiempo más largo (dos días) para la obtención del peso constante.

IV.6.2 Ración alimenticia y tasa de filtración

La ración diaria de alimento se investigó con experimentos preliminares. Cada ración se suministró durante dos días dos veces al día, con un volumen de cultivo de las mezclas bialgales equivalentes a 200,000; 300,000 y 450,000 cél·ml⁻¹, dejando a los organismos sin alimentar por 24 horas antes de ensayar la siguiente ración para limpiar totalmente el tracto digestivo y evitar sobreestimaciones en el ensayo posterior.

Para monitorear la tasa de filtración de las semillas de mano de león se realizó un conteo del número de células cada hora durante 24 horas, aplicando la fórmula descrita por Schurink y Griffiths, (1992):

$$T.F (h^{-1}) = \frac{(\log_e N_1 - \log_e N_2) V}{TN}$$

donde N_1 y N_2 son la cantidad inicial y final de las partículas disueltas, V es el volumen del recipiente en litros, T es el tiempo en horas y N es el número de organismos en el recipiente.

Una vez seleccionada la ración adecuada a suministrar, ésta se incrementó semanalmente dependiendo del incremento de peso de los organismo, para lo cual se pesaron al azar algunos organismos por tratamiento para la realización de esta corrección.

IV.7 Alimentación

Una vez acondicionados los organismos, se inició el ensayo de alimentación, para lo cual las microalgas fueron cosechadas en la fase exponencial y se probaron tres tipos de dietas que resultan de las combinaciones pareadas de las tres especies utilizadas en el experimento, quedando de la siguiente manera: *Isochrysis* sp.:*Pavlova lutheri*; *Isochrysis* sp.:*Chaetoceros calcitrans* y *Pavlova lutheri* :*Chaetoceros calcitrans*.

La alimentación de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* estuvo en función del tipo de microalga, por lo cual se utilizaron diferentes proporciones. En el caso de las mezclas que contenían la especie *Chaetoceros calcitrans* la proporción fue de 1:2 (2 proporciones de *C. calcitrans*) puesto que se ha reportado que la diatomea *C. calcitrans* contiene hasta un 50% de cenizas y lo que se pretendió es que los organismos se alimentaran con las mismas proporciones de materia orgánica (Cordero com. per.). Para la mezcla de especies flageladas (*Pavlova lutheri* e *Isochrysis* sp.) se utilizó una proporción de 1:1.

La duración del estudio fue de siete semanas, en cada una de ellas los organismos se midieron y pesaron para obtener así el incremento en peso húmedo y en talla (eje anteroposterior y dorsoventral), al final del experimento para el caso del PST y PSO se sacrificaron cinco organismos de cada repetición por tratamiento.

IV.8 Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de homocedasticidad de varianzas, así como de normalidad para la selección del tipo indicado de prueba para el análisis de datos.

Para evaluar el crecimiento de la concha en las semillas de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*, en relación con el ancho y longitud de la misma se aplicó un diseño de bloques al azar, utilizando una ancova de 1 vía sin interacción.

En el caso de la ganancia en peso la estadística aplicada fue un diseño de bloques al azar, utilizando una ancova de 1 vía.

Para la evaluación de la composición bioquímica (proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos grasos), del peso seco total y peso seco orgánico de las tres microalgas se utilizó una ancova de 1 vía, de igual manera para la composición de las tres mezclas bialgales.

Para determinar la variación a través del tiempo en los diferentes muestreo se aplicó en el caso de las tres microalgas una anova de 1 vía y para las mezclas bialgales tanto como para los ácidos grasos fue una anova no paramétrica de Kruskal-Wallis.

V. RESULTADOS

V.1 Cultivos de microalgas

V.1.1 Sistema estático

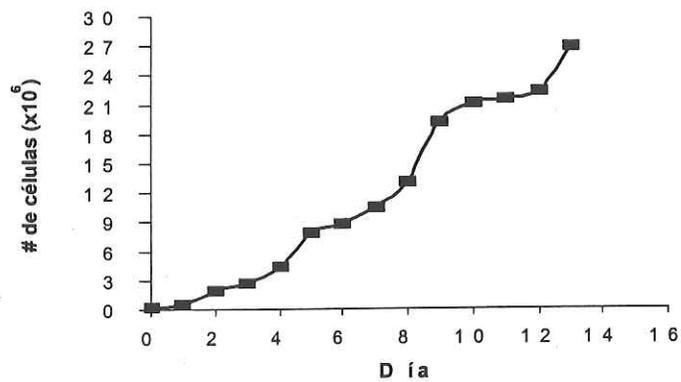
Los cultivos de las diferentes microalgas se iniciaron con un tamaño de inóculo de 200,000 cél·ml⁻¹ alcanzando su máxima biomasa al día 13 (26.787 y 10.687 x 10⁶ cél·ml⁻¹) en el caso de *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri* respectivamente. Sin embargo, *Chaetoceros calcitrans* alcanzó su máximo crecimiento al día 7 del cultivo con una biomasa de 21.55 x 10⁶ cél·ml⁻¹ (Tabla I y Figura 1). Las microalgas iniciaron la fase de crecimiento lento a partir del día 6 en el caso de *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros calcitrans* y en el día 5 en el caso de *Pavlova lutheri*.

Las tasas de crecimiento (μ) obtenidas muestran valores mayores durante los primeros días del cultivo en las tres microalgas (Tabla II). En el caso de *Isochrysis* sp. las tasas de crecimiento máximas se encontraron durante los cinco primeros días del cultivo, registrándose los mayores valores al primer día después del inóculo (1.43) y al tercer día (1.82 divisiones por día), posteriormente se obtuvo una tendencia a la estabilidad en los valores de la tasa de crecimiento hasta alcanzar un valor mínimo de -0.01 al final del cultivo. La tasa de crecimiento en la microalga *Pavlova lutheri* muestran un comportamiento similar al de *Isochrysis* sp. obteniéndose las tasas máximas desde el segundo al cuarto día del cultivo, siendo 1.71 la tasa de crecimiento mayor observada en esta microalga al segundo día del cultivo. *Chaetoceros calcitrans* fue la microalga que presentó las mayores tasas de crecimiento alcanzando valores de 1.27 (día 5) hasta 2.62 (día 3), disminuyendo en los últimos días de cultivo.

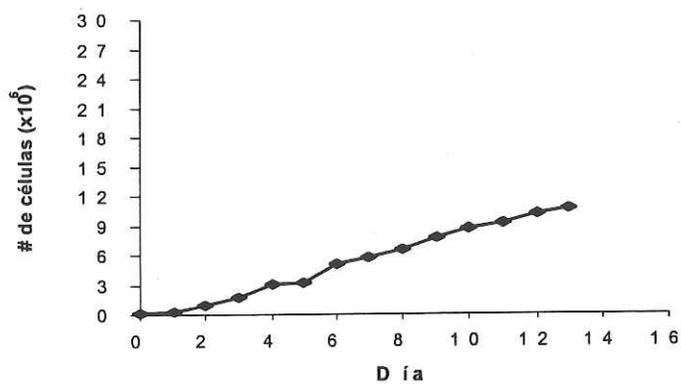
Tabla I.- Número de células x 10^6 cél.-ml⁻¹ (desviación estándar entre paréntesis) de tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático. *Isochrysis* sp.; *Pavlova lutheri*; *Chaetoceros calcitrans*.

DIAS	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
0	0.200 (0.00)	0.200 (0.00)	0.200 (0.00)
1	0.541 (0.03)	0.285 (0.06)	0.237 (0.02)
2	1.912 (0.11)	0.937 (0.07)	0.297 (0.15)
3	2.694 (0.29)	1.687 (0.21)	1.835 (0.14)
4	4.370 (0.17)	3.099 (0.40)	7.568 (0.25)
5	7.874 (1.32)	3.250 (0.21)	18.31 (0.64)
6	8.793 (1.54)	5.012 (0.44)	18.42 (0.91)
7	10.47 (0.88)	5.786 (0.26)	21.55 (0.98)
8	13.08 (1.79)	6.500 (0.35)	
9	19.09 (1.60)	7.715 (0.19)	
10	21.11 (1.41)	8.715 (0.26)	
11	21.45 (1.27)	9.252 (0.36)	
12	22.27 (0.70)	10.18 (0.74)	
13	26.79 (0.08)	10.69 (0.25)	

A)



B)



C)

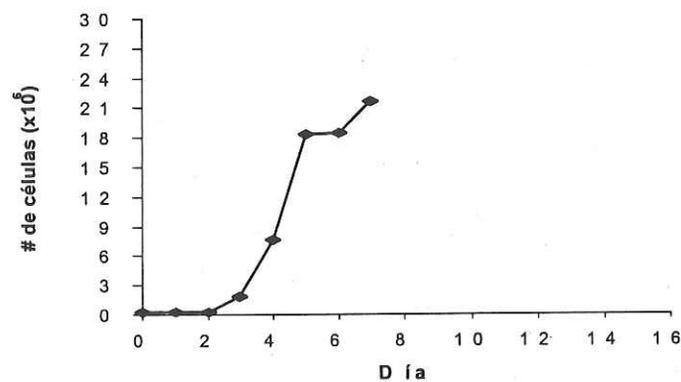


Fig 1.- Número de células ($\times 10^6$ cél. ml^{-1}) de las microalgas *Isochrysis* sp. (A), *Pavlova lutheri* (B) y *Chaetoceros calcitrans* (C) mantenidas en sistema estático.

Tabla II.- Tasa de crecimiento (μ) promedio (desviación estándar entre paréntesis) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático.

	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
DIA			
1	1.43 (0.10)	0.51 (0.33)	0.24 (0.15)
2	1.82 (0.01)	1.71 (0.23)	0.32 (0.92)
3	0.49 (0.07)	0.84 (0.29)	2.62 (0.20)
4	0.69 (0.21)	0.88 (0.37)	2.04 (0.69)
5	0.84 (0.18)	0.06 (0.02)	1.27 (0.09)
6	0.15 (0.01)	0.62 (0.22)	0.01 (0.00)
7	0.25 (0.13)	0.20 (0.06)	0.22 (0.00)
8	0.32 (0.07)	0.16 (0.01)	
9	0.54 (0.07)	0.24 (0.04)	
10	0.14 (0.02)	0.17 (0.00)	
11	0.02 (0.01)	0.08 (0.01)	
12	0.05 (0.01)	0.13 (0.04)	
13	0.26 (0.05)	0.06 (0.02)	
14	-0.01 (0.03)		

V.1.1.1 Peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO)

La determinación de la biomasa celular con relación al peso seco total ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) y peso seco orgánico ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) de las microalgas *Isochrysis* sp. , *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros*

calcitrans mantenidas en sistema estático muestran una tendencia similar a la observada en el número de células, con un aumento en los primeros días del cultivo (Tabla III).

En la microalga *Chaetoceros calcitrans* se obtuvo el mayor contenido de biomasa celular en base al peso seco total ($p < 0.05$), en peso seco orgánico los máximos valores se registraron en *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros calcitrans* ($p < 0.05$).

Los porcentajes de cenizas obtenidos se muestran en la Tabla III. Los valores para *Isochrysis* sp. estuvieron entre el 11.96 y 47.50 %, en cuanto a las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* se registraron valores entre el 24.22 y 48.98 %.

Tabla III.- Peso seco total ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), peso seco orgánico ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) y porcentaje de cenizas (desviación estándar entre paréntesis) de tres especies de microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri*; CH: *Chaetoceros calcitrans*.

	Días	PST ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	PSO ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	% de Cenizas
ISO	3	327.00 (5.00)	212.50 (21.4)	33.49 (2.12)
	5	493.30 (72.8)	481.66 (66.4)	11.96 (4.18)
	7	626.66 (299)	356.66 (114)	42.69 (7.49)
	9	738.33 (46.2)	440.00 (61.4)	40.16 (6.65)
	11	699.83 (71.6)	374.00 (34.7)	46.00 (5.35)
	13	809.66 (46.0)	425.66 (38.5)	47.50 (2.24)
PA	3	303.00 (25.5)	204.16 (29.6)	32.43 (2.49)
	5	275.00 (40.9)	206.66 (24.5)	24.22 (7.38)
	7	568.33 (96.1)	293.33 (44.8)	48.09 (5.98)
	9	736.66 (30.5)	426.66 (30.5)	41.87 (5.91)
	11	662.50 (50.2)	337.33 (9.25)	48.98 (3.20)
	13	631.55 (166)	374.00 (81.2)	37.64 (11.7)
CH	3	380.00 (15.8)	208.33 (57.9)	30.44 (2.8)
	5	641.66 (15.3)	475.00 (22.9)	25.83 (5.4)
	7	696.66 (53.5)	360.00 (18.0)	48.30 (2.66)
	9	795.00 (77.6)	475.00 (67.6)	40.61 (4.77)
	11	719.00 (108)	401.66 (40.9)	44.13 (4.41)
	13	845.33 (36.7)	470.66 (514)	44.43 (3.32)

V.1.1.2 Composición bioquímica

Proteínas

Los resultados obtenidos en los componentes bioquímicos de las tres microalgas mantenidas en sistema estático se muestran en la Tabla IV y Figs. 2 y 3. Con relación al porcentaje de proteínas en base al peso seco total y al peso seco orgánico se observó una tendencia a incrementarse a través del tiempo. El análisis de comparaciones múltiples de Tukey indica que en general no hubo diferencias significativas en días relacionados de los cultivos de las tres microalgas, tanto en base a PST ($p > 0.05$) como en PSO ($p > 0.05$). En particular, en el caso de la microalga *Isochrysis* sp. se registraron valores máximos al noveno y onceavo día del cultivo (12.40 y 23.19% de proteínas en base a PST y PSO respectivamente) seguido de una disminución en los días posteriores. Un comportamiento similar fue observado en la microalga *Chaetoceros calcitrans*, en la cual los mayores porcentajes fueron al día 11 con valores de 13.96 y 21.91% en base al PST y PSO respectivamente, los cuales disminuyeron en ambos casos al día 13. Los porcentajes obtenidos en la microalga *Pavlova lutheri* tuvieron valores máximos al día 13 de cultivo tanto en base al peso seco total como en el peso seco orgánico (13.7 y 22.7% respectivamente).

Carbohidratos

Con relación a los porcentajes de carbohidratos registrados en las microalgas mantenidas en el sistema estático, mostraron la misma tendencia a aumentar conforme se desarrolló el cultivo. En todos los casos se obtuvieron valores máximos al día 13 del cultivo,

sin embargo los valores máximos en el porcentaje de carbohidratos tanto en base a PST como en PSO se encontraron en las microalgas *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros calcitrans* los cuales fueron significativamente diferentes con respecto a *Pavlova lutheri* ($p < 0.05$) donde se registraron valores menores. Los porcentajes alcanzados fueron de 4.77 a 6.24% en base al peso seco total y de 7.91 a 11.93% en base a PSO.

Lípidos Totales

Los porcentajes promedio del contenido lipídico de *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* mantenidas en el sistema estático, mostraron una tendencia similar a la observada en el porcentaje de carbohidratos, con valores máximos al día 13 del cultivo. Los mayores porcentajes fueron encontrados en *Pavlova lutheri* ($p < 0.05$) hasta el día 11 del cultivo. El contenido lipídico en las tres microalgas encontrado al día 13 del cultivo en base a peso seco total fue de 12.42 a 16.26 % y de 23.71 a 29.38 % en base a PSO.

Ácidos grasos

En las Tablas V, VI y VII se muestran los resultados del total de ácidos grasos en las microalgas *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* mantenidas en el sistema estático. Se identificaron los ácidos grasos saturados (14:0, 15:0, 16:0, 18:0), monoinsaturados (16:1, 18:1) y poliinsaturados (18:2, 18:3, 20:4 ω 6, 20:5 ω 3, 22:6 ω 3).

Los ácidos grasos presentes en *Isochrysis* sp. mostraron diferentes tendencias a través del cultivo. Los ácidos 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 aumentaron su

concentración conforme se incremento la edad del cultivo. El ácido graso 22:6 ω 3 duplicó su valor registrado inicialmente (10.2 %) al día 13 del cultivo (20.8 %). Tendencia inversa tuvieron los ácidos 14:0, 16:0, 16:1 y 20:4 ω 6, ya que mostraron una disminución en su contenido a través del tiempo. En el caso del 16:1 disminuyó de 30.7% (día 5) hasta 10.4% (día 13). El ácido 15:0 mostró una variación en sus porcentajes, lo cual no indica una tendencia en particular, registrando valores desde 0.7 a 1.95%.

Pavlova lutheri tuvo tendencias similares a las obtenidas en *Isochrysis* sp. a excepción de los ácidos grasos 15:0 y 16:1, los cuales presentaron en general un incremento en su contenido a través del cultivo (0.29 a 0.55% y de 19.7 a 23.7% respectivamente). Los porcentajes del 18:0 y 20:5 ω 3 se mantuvieron aproximadamente constantes en las diferentes fechas de muestreo. El ácido graso 18:3 tendió a disminuir (de 1.15% al día 5 a 0.54% para el día 13) y el 22:6 ω 3 se mantuvo constante los tres primeros muestreos (días 5, 7 y 9), aumentando posteriormente (hasta 20.6%).

Los porcentajes de ácidos grasos en *Chaetoceros calcitrans* tendieron a aumentar conforme se incrementó la edad del cultivo, principalmente en los ácidos 14:0, 18:1, 18:2, 18:3 y 20:4 ω 6, sin embargo, los ácidos 16:0 y 22:6 ω 3 registraron una tendencia inversa con una disminución a través de los muestreos alcanzando valores máximos de 18.1 a 12.8% y de 11.1 a 2.21% respectivamente. Los porcentajes obtenidos en el ácido graso 20:5 ω 3 fueron aproximadamente constantes en los diferentes días del cultivo, con promedios de alrededor del 30 %. En el caso de los ácidos 18:0 y 16:1 no mostraron una tendencia definida durante el cultivo.

En general las tendencias de los grupos de ácidos grasos como los SFA, MUFA y PUFA a través del cultivo son diferentes en cada una de las tres microalgas. Los ácidos grasos saturados (SFA) totales, tienden a disminuir en el caso de las microalgas *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri* de 50.20 a 32.23% y de 35.04 a 19.68% respectivamente, *Chaetoceros calcitrans* no muestra en general una variación en la cantidad total de SFA durante el cultivo manteniendo valores promedios de 35.32 %.

La tendencia del total de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) conforme aumento la edad del cultivo se incremento y fue diferente en cada una de las microalgas. Los porcentajes de MUFA's en *Isochrysis* sp. disminuyeron de 33.10 a 23.30%, inversamente *Pavlova lutheri* incrementó el contenido de este grupo de ácidos grasos alcanzando valores de 26.12 % al día 13 del cultivo, mientras que en *Chaetoceros calcitrans* no se apreció una tendencia en el porcentaje de MUFA's a través del cultivo, manteniendo un porcentaje promedio de 22 %.

Las tendencias de los porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's) conforme se incrementó la edad del cultivo fueron similares en *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri*, las cuales registraron un aumento en los porcentajes de PUFA's a través del cultivo alcanzaron valores de 43.71 y 53.86 % al día 13 respectivamente, *Chaetoceros calcitrans* mantuvo ligeras variaciones durante el cultivo manteniendo un porcentaje promedio de 47%.

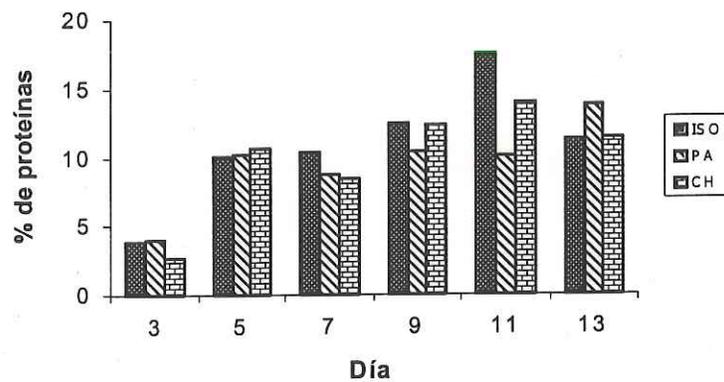
Tabla IV.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) (desviación estándar entre paréntesis) en base a peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO) en tres especies de microalgas mantenidas en el sistema estático. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri*; CH: *Chaetoceros calcitrans*.

A						
Día	PST			PSO		
	ISO	PA	CH	ISO	PA	CH
3	3.78 (0.32)	3.93 (0.27)	2.74 (1.14)	5.38 (0.66)	5.89 (0.62)	4.49 (0.43)
5	10.09 (1.29)	10.23 (1.50)	10.70 (0.33)	10.34 (1.45)	13.48 (0.97)	14.48 (0.88)
7	10.36 (2.01)	8.68 (1.45)	8.40 (0.79)	16.90 (1.30)	16.71 (2.13)	16.22 (1.16)
9	12.40 (0.74)	10.36 (0.53)	12.28 (1.14)	21.03 (2.65)	17.92 (2.73)	20.70 (2.73)
11	11.41 (0.66)	10.05 (0.63)	13.96 (0.64)	23.19 (0.96)	19.68 (0.52)	21.91 (0.44)
13	11.19 (0.73)	13.73 (3.76)	11.41 (0.18)	21.38 (2.08)	22.74 (4.97)	20.11 (1.34)

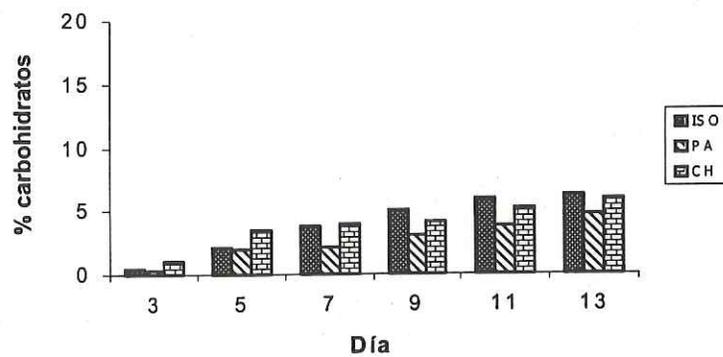
B						
Día	PST			PSO		
	ISO	PA	CH	ISO	PA	CH
3	0.46 (0.03)	0.26 (0.09)	1.08 (0.36)	0.71 (0.05)	0.39 (0.17)	1.93 (0.72)
5	2.18 (0.11)	2.00 (0.47)	3.55 (0.13)	2.24 (0.19)	3.85 (0.49)	4.80 (0.26)
7	3.79 (0.43)	2.17 (0.08)	3.96 (0.23)	6.26 (0.75)	4.20 (0.29)	7.66 (0.42)
9	5.01 (0.14)	3.01 (0.18)	4.13 (0.08)	8.49 (0.93)	5.21 (0.35)	6.95 (0.37)
11	6.01 (0.26)	3.86 (0.34)	5.23 (0.80)	11.24 (0.55)	7.57 (0.41)	9.30 (0.97)
13	6.24 (0.34)	4.77 (1.35)	5.95 (0.55)	11.93 (1.03)	7.91 (1.80)	10.72 (0.08)

C						
Día	PST			PSO		
	ISO	PA	CH	ISO	PA	CH
3	2.94 (0.31)	6.14 (0.82)	2.54 (0.27)	4.56 (0.59)	9.15 (1.17)	4.89 (2.32)
5	4.33 (0.31)	7.21 (0.37)	5.22 (0.17)	4.44 (0.32)	9.60 (1.01)	7.06 (0.420)
7	5.76 (1.31)	8.69 (1.21)	6.41 (0.22)	9.33 (0.41)	16.80 (2.23)	12.39 (0.44)
9	6.81 (0.74)	10.41 (0.85)	8.71 (0.37)	11.44 (0.49)	17.96 (0.47)	14.64 (0.68)
11	9.80 (0.91)	10.81 (0.53)	11.46 (0.81)	18.31 (1.52)	21.18 (0.26)	20.42 (0.70)
13	12.42 (0.69)	14.39 (4.21)	16.26 (0.51)	23.71 (2.04)	23.81 (5.65)	29.38 (2.55)

A)



B)



C)

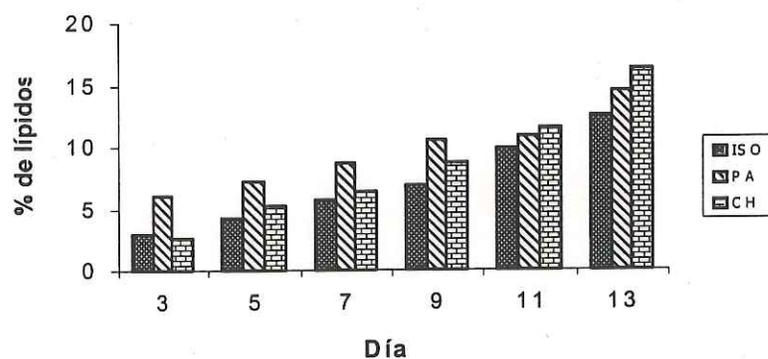
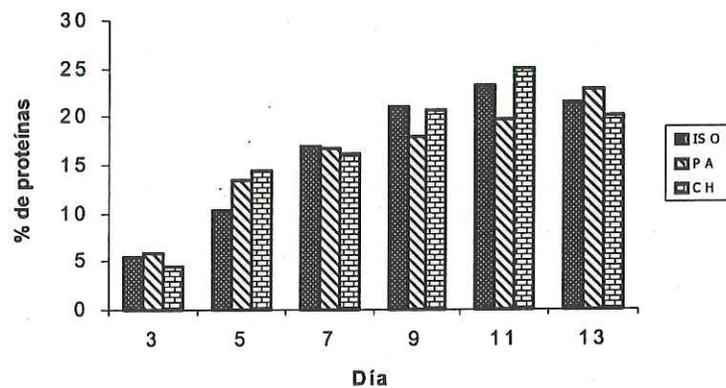
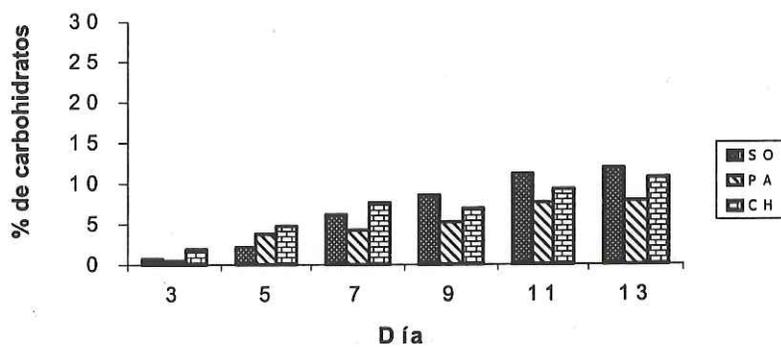


Fig 2.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco total de tres microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri* y CH: *Chaetoceros calcitrans*.

A)



B)



C)

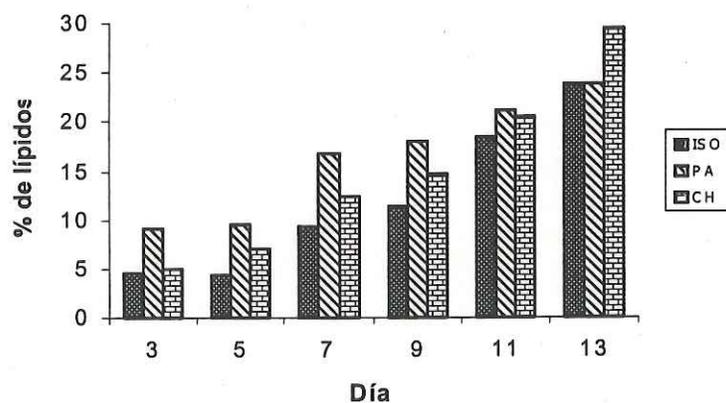


Fig 3.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco orgánico de tres microalgas mantenidas en sistema estático. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri* y CH: *Chaetoceros calcitrans*.

Tabla V.- Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de la microalga *Isochrysis* sp. mantenida en sistema estático (desviación estándar entre paréntesis).

Ácido graso	DÍAS DE CULTIVO				
	5	7	9	11	13
SFA					
14:0	27.7 (0.08)	25.2 (0.31)	20.2 (0.30)	14.4 (0.21)	16.4 (0.65)
15:0	1.95 (0.19)	0.82 (0.19)	0.70 (0.00)	1.53 (0.14)	1.88 (0.04)
16:0	20.5 (0.08)	18.5 (0.18)	14.5 (0.02)	13.5 (0.28)	13.4 (0.41)
18:0	0.05 (0.01)	0.12 (0.19)	0.19 (0.02)	0.20 (0.04)	0.55 (0.54)
	50.20	44.64	35.59	29.63	32.23
MUFA					
16:1	30.7 (1.52)	26.1 (0.01)	20.7 (0.11)	16.4 (0.57)	10.4 (0.28)
18:1	2.61 (0.14)	3.29 (10.0)	8.42 (0.34)	12.4 (0.36)	12.9 (0.44)
	33.31	29.39	29.12	28.4	23.3
PUFA					
18:2	0.25 (0.05)	3.70 (0.08)	6.26 (0.35)	8.65 (0.35)	6.05 (0.03)
18:3	0.64 (0.22)	3.12 (1.21)	8.09 (0.54)	11.2 (1.22)	11.0 (0.31)
20:4 ω 6	0.25 (0.01)	0.03 (0.00)	0.06 (0.01)	0.05 (0.01)	0.08 (0.00)
20:5 ω 3	0.30 (0.00)	4.20 (0.86)	4.11 (0.00)	4.98 (1.15)	5.78 (0.22)
22:6 ω 3	10.2 (0.25)	10.5 (0.45)	13.3 (0.37)	15.5 (0.65)	20.8 (0.09)
	11.64	21.55	31.82	40.38	43.71

Tabla VI.- Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de la microalga *Pavlova lutheri* mantenida en sistema estático (desviación estándar entre paréntesis).

Ácido graso	DÍAS DE CULTIVO				
	5	7	9	11	13
SFA					
14:0	14.3 (0.85)	14.8 (0.99)	10.6 (0.74)	10.2 (0.00)	10.4 (2.25)
15:0	0.29 (0.02)	0.38 (0.02)	0.23 (0.03)	0.46 (0.00)	0.55 (0.00)
16:0	20.4 (0.07)	20.7 (0.26)	19.6 (0.33)	10.1 (0.00)	8.64 (0.26)
18:0	0.05 (0.00)	0.08 (0.00)	0.06 (0.00)	0.10 (0.00)	0.09 (0.00)
	35.04	35.96	30.49	20.86	19.68
MUFA					
16:1	19.7 (0.04)	20.0 (1.15)	21.7 (2.14)	23.7 (0.00)	23.7 (2.73)
18:1	0.20 (0.01)	1.30 (0.06)	2.45 (0.06)	2.50 (0.00)	2.42 (0.03)
	19.9	21.30	24.15	26.20	26.12
PUFA					
18:2	0.13 (0.00)	0.17 (0.00)	0.17 (0.00)	0.51 (0.00)	0.75 (0.05)
18:3	1.15 (0.05)	0.18 (0.02)	0.24 (0.02)	0.36 (0.00)	0.54 (0.00)
20:4 ω 6	0.00 (0.00)	0.07 (0.02)	0.83 (0.00)	1.00 (0.00)	0.17 (0.00)
20:5 ω 3	29.6 (0.47)	25.6 (3.13)	29.2 (0.27)	31.7 (0.00)	31.8 (0.23)
22:6 ω 3	13.4 (0.10)	13.5 (0.47)	14.4 (0.11)	18.4 (0.00)	20.6 (0.42)
	44.28	39.52	44.84	51.97	53.86

Tabla VII.- Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de la microalga *Chaetoceros calcitrans* mantenida en sistema estático (desviación estándar entre paréntesis).

Ácido graso	DÍAS DE CULTIVO				
	5	7	9	11	13
SFA					
14:0	11.5 (4.48)	18.5 (2.87)	18.6 (3.88)	20.4 (0.14)	20.4 (0.55)
15:0	1.21 (0.29)	1.08 (0.00)	1.40 (0.35)	2.62 (0.27)	2.15 (0.38)
16:0	18.1 (0.07)	18.6 (0.06)	16.7 (0.26)	11.1 (1.17)	12.8 (0.92)
18:0	0.11 (0.00)	0.05 (0.00)	0.04 (0.01)	0.60 (0.06)	0.60 (0.08)
	30.92	38.23	36.74	34.72	35.95
MUFA					
16:1	20.0 (3.16)	18.4 (0.60)	17.2 (3.72)	24.6 (2.60)	20.4 (1.67)
18:1	0.14 (0.03)	0.67 (0.07)	1.51 (0.07)	2.77 (0.15)	3.44 (0.57)
	20.14	19.07	18.71	27.37	23.84
PUFA					
18:2	0.06 (0.00)	0.05 (0.01)	0.16 (0.01)	0.28 (0.01)	0.64 (0.06)
18:3	0.06 (0.00)	0.33 (0.12)	0.72 (0.00)	1.24 (0.02)	2.50 (0.28)
20:4 ω 6	0.04 (0.00)	0.11 (0.01)	1.37 (0.05)	2.56 (0.04)	2.65 (0.28)
20:5 ω 3	32.6 (0.21)	30.7 (0.09)	29.9 (0.00)	31.8 (0.08)	31.3 (0.39)
22:6 ω 3	11.1 (0.04)	6.34 (0.45)	6.77 (0.14)	5.00 (0.00)	2.21 (0.71)
	46.86	37.53	38.92	40.88	39.30

V.1.2 Sistema semicontinuo

V.1.2.1 Tasa de dilución

El cultivo semicontinuo de las tres microalgas se inició en el tiempo en el cual la fase de crecimiento máximo fue obtenida en cada especie (determinada en experimentos preliminares). De las tasas de dilución ensayadas, con la de 20% se observó una recuperación celular para las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans*, no así, en la microalga *Isochrysis* sp. donde se reportó un período de estabilización antes de alcanzar una recuperación celular constante (Fig. 4).

Con relación a la tasa de dilución del 30%, la microalga *Isochrysis* sp. mantuvo una recuperación constante en el número de células después de la dilución. *Chaetoceros*

calcitrans tuvo un comportamiento similar, a excepción del último día de la dilución. Sin embargo, la microalga *Pavlova lutheri* mostró una tendencia a la disminución del número de células durante el tiempo de esta dilución, por lo cual se consideró un tiempo de recuperación celular para posteriormente aplicar la tasa de dilución.

En el caso de la tasa de dilución del 50%, se observó un comportamiento similar en las tres especies de microalgas, donde se obtuvo una disminución drástica en el número de células, la cual no permitió mantener los cultivos celulares por más de cuatro días. Por lo anterior, se seleccionó la dilución del 20 % para mantener los cultivos de las microalgas *Isochrysis* sp, *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans*.

V.1.2.2 Peso seco total y peso seco orgánico

En la Tabla VIII se muestran los valores promedios de biomasa algal en base al peso seco total y peso seco orgánico obtenidos durante los cultivos en el sistema semicontinuo con una tasa de dilución del 20%. La microalga *Isochrysis* sp. mantuvo los valores más elevados de 664.8 y 408.9 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de PST y PSO respectivamente. Las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* mantuvieron valores de peso seco total de 550 y 600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ respectivamente, y de 285.8 a 304.6 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de peso seco orgánico; el análisis paramétrico de una ancova de una vía no mostró diferencias significativas en el PST y PSO entre estas dos microalgas ($p > 0.05$). Los valores observados de peso seco total y peso seco orgánico de las tres microalgas mantenidas en el sistema semicontinuo concuerdan con los obtenidos en el sistema estático durante la fase de máximo crecimiento, las variaciones reportadas durante

el tiempo en que se mantuvieron los cultivos de microalgas en este sistema fueron más bajos del 20 % en la mayoría de los casos.

Los porcentajes de cenizas igualmente fueron similares a los obtenidos en el sistema estático con un intervalo de 40.6 y 50.0 %.

Tabla VIII.- Peso seco total ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), peso seco orgánico ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) y porcentaje de cenizas (desviación estándar entre paréntesis) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema semicontinuo con una tasa de dilución del 20% por día. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri*; CH: *Chaetoceros calcitrans*.

	PST ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	PSO ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	% CENIZAS
ISO	664.83 (78.88)	408.93 (73.05)	40.62 (5.36)
PA	550.97 (101.1)	285.80 (47.65)	49.18 (6.44)
CH	599.96 (92.67)	304.68 (51.63)	49.08 (4.58)

V.1.2.3 Composición bioquímica

Proteínas

Los porcentajes promedios de proteínas en base a peso seco total obtenidos en las microalgas *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* en el sistema semicontinuo se mantuvieron entre 10.83 a 13.93 % (Tabla IX, Fig. 5). Encontrándose diferencias significativas en el porcentaje de proteínas en base al peso seco total entre *Isochrysis* sp. con respecto a *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* ($p < 0.05$).

Con relación al porcentaje promedio en base al peso seco orgánico los valores encontrados fueron entre el 20.37 % y 23.70 %. No se registraron diferencias significativas en el porcentaje de proteínas en base al peso seco orgánico entre las tres microalgas ($p > 0.05$).

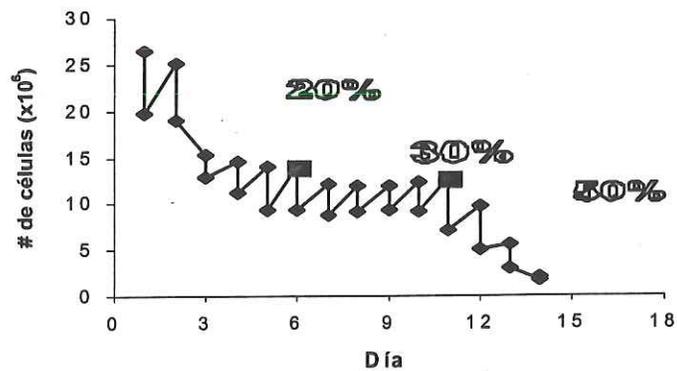
En general, durante la toma de muestras a través del tiempo no se encontraron variaciones significativas en el porcentaje de proteínas en base a peso seco total en la microalga *Isochrysis* sp., con excepción en el día 37. En cuanto a los porcentajes en base a peso seco orgánico la variación se presentó entre los días 9, 14 y 24.

Una variación mayor en el porcentaje de proteínas en PST y PSO fue observada en los muestreos en *Pavlova lutheri*, principalmente los días 9 y 14, así como 9, 14 y 21 respectivamente ($p < 0.05$). *Chaetoceros calcitrans* mostró una diferencia significativa mayor en base al PST al día 3 ($p < 0.05$) con respecto a los 10 muestreos restantes y en PSO los días del 11 al 21 ($p < 0.05$) (Tabla IX; Fig. 5 y 6).

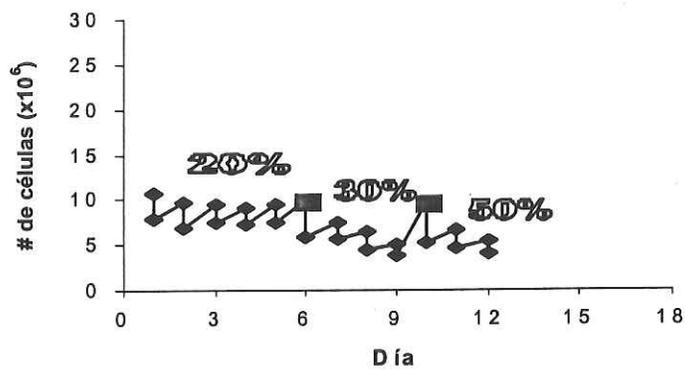
Carbohidratos

Los valores de carbohidratos obtenidos en peso seco total fueron entre el 3.52 y 6.07%. Un comportamiento similar fue observado en los porcentajes de carbohidratos en base al peso seco orgánico, con aumentos de 50 % más que los registrados en base a peso seco total (Tabla IX; Fig. 5 y 6). El análisis paramétrico de una ancova de una vía indicó diferencias significativas en la cantidad de carbohidratos en base al PST y PSO en *Isochrysis* sp. comparada con *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* ($p < 0.05$).

A)



B)



C)

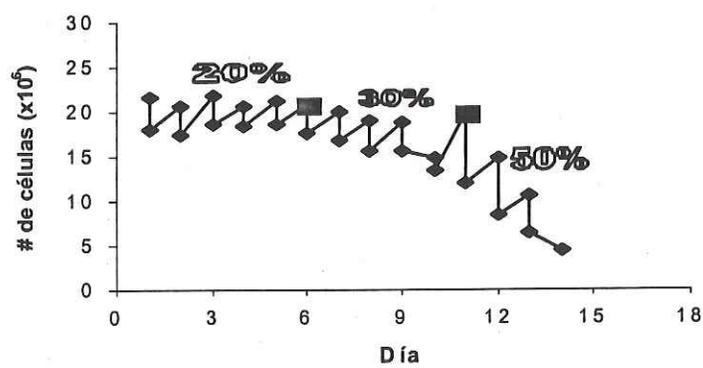


Fig 4.- Número de células (10^6 cél·ml⁻¹) obtenidas en el cultivo semicontinuo aplicando tres tasas de dilución (20%, 30% y 50%) en las microalgas *Isochrysis* sp. (A), *Pavlova lutheri* (B) y *Chaetoceros calcitrans* (C).

En general, no hubo una variación significativa en el porcentaje de carbohidratos a través del tiempo de muestreo en la microalga *Isochrysis* sp. ($p > 0.05$), a excepción de los días 37, 40 y 44 en base a PST y una pequeña diferencia en PSO el día 4 ($p < 0.05$). Una variación en los porcentajes se registró en *Pavlova lutheri* en los diferentes muestreos, principalmente los días 1, 3 y 9 en los resultados con base en PST y en PSO ($p < 0.05$). En *Chaetoceros calcitrans* la variación en el porcentaje de carbohidratos en base al peso seco total y peso seco orgánico se encuentra en el día 3 ($p < 0.05$).

Lípidos Totales

En el porcentaje lipídico registrado en las tres especies de microalgas mantenidas en el sistema semicontinuo (Tabla IX; Fig. 5 y 6), se obtuvieron promedios de 7.44 y 11.62 % (en base al PST y PSO respectivamente) en la microalga *Isochrysis* sp.

El máximo promedio en base al peso seco orgánico fue obtenido en *Chaetoceros calcitrans* con 14.37 %. En cuanto a la microalga *Pavlova lutheri* registró valores menores en PST y PSO (5.69 y 11.20 % respectivamente). Se encontraron diferencias significativas en el contenido de lípidos en base al PST y PSO ($p < 0.05$) entre las microalgas *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros calcitrans* con respecto a *Pavlova lutheri*.

En general, *Isochrysis* sp. no mostró variaciones a través de los muestreos (anova paramétrica de una vía, $p < 0.05$), a excepción de los días 11 y 21 en base al peso seco total y en los días 21 y 24 en peso seco orgánico. Se obtuvieron variaciones menores durante los días de muestreo con la microalga *Pavlova lutheri*, la cual mostró gran estabilidad a través

del tiempo en los porcentajes lipídicos en PST y PSO. En relación a *Chaetoceros calcitrans* la variación principal se registró el día 3 ($p < 0.05$).

Ácidos grasos

En la Tabla X se muestran los resultados de los ácidos grasos de las tres microalgas mantenidas en el sistema semicontinuo. Se identificaron los mismos ácidos grasos registrados en el cultivo estático, cuatro del grupo de los saturados (14:0, 15:0, 16:0 y 18:0), dos de los monoinsaturados (16:1 y 18:1) y cinco poliinsaturados (18:2, 18:3, 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3).

Con relación al total de ácidos grasos saturados se obtuvieron valores entre 32.05 % (en *Isochrysis* sp.) y 37.40 % (en *Chaetoceros calcitrans*), en monoinsaturados los porcentajes se encontraron en un intervalo del 19.8 (*Pavlova lutheri*) y el 25.5 % (*Isochrysis* sp.). Los ácidos grasos poliinsaturados tuvieron valores desde 37 % hasta el 46 % encontrándose en este grupo los más altos porcentajes correspondientes al 20:5 para las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* (31.0 y 26.8 % respectivamente) (Fig. 7).

En el análisis de una ancova de una vía se encontraron diferencias significativas en el contenido de ácidos grasos entre las tres microalgas ($p < 0.05$). *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* presentaron mayores porcentajes de 16:0, 20:4 ω 6 y 20:5 ω 3 que *Isochrysis* sp. ($p < 0.05$). Por otra parte *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros calcitrans* son significativamente diferentes en el contenido de 14:0 con respecto a *Pavlova lutheri* ($p < 0.05$). En cuanto a los 18:1, 18:2, 18:3 y 22:6 ω 3 los valores obtenidos en *Isochrysis* sp. son

significativamente mayores ($p < 0.05$) que los registrados en *Chaetoceros calcitrans* y *Pavlova lutheri*. Con relación al 16:0 *Pavlova lutheri* tuvo los mayores porcentajes de las tres microalgas ($p < 0.05$). Sin embargo, *Chaetoceros calcitrans* contiene mayores porcentajes de 16:0 con respecto a *Isochrysis* sp. ($p < 0.05$).

En general no se encontraron diferencias significativas en el contenido de ácidos grasos entre los días de muestreo en la microalga *Isochrysis* sp. a excepción de los días 1 (14:0, 18:0, 18:1, 22:6 ω 3), 3 (16:1, 18:0, 18:2, 18:3, 22:6 ω 3) y 21 (20:4 ω 6, 20:5 ω 3).

Una Anova no paramétrica de Kruskal-Wallis no mostró en general diferencias significativas en el contenido de ácidos grasos entre los días del muestreo en *Pavlova lutheri* a excepción del día 1 (18:0, 20:4 ω 6), 3 (18:1, 20:4 ω 6), 9 (18:1) y 21 (18:1, 20:4 ω 6, 22:6 ω 3).

En el caso de *Chaetoceros calcitrans* no se registraron diferencias significativas en el contenido de ácidos grasos entre los días de muestreo a excepción de los días 1 (14:0, 18:1, 20:5 ω 3), 3 (20:4 ω 6), 9 (18:1, 22:6 ω 3), 14 (14:0, 16:1, 20:4 ω 6) y 21 (14:0, 18:1).

Tabla IX.- Porcentaje de proteínas (PRO), carbohidratos (CHO) y lípidos (LIP) (desviación estándar entre paréntesis), en base a peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO) en tres especies de microalgas mantenidas en sistema semicontinuo con una tasa de dilución del 20 % por día. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri*; CH: *Chaetoceros calcitrans*.

	PST			PSO		
	PRO	CHO	LIP	PRO	CHO	LIP
ISO	13.93 (1.86)	6.07 (0.50)	7.44 (0.98)	23.70 (2.10)	10.00 (1.75)	11.62 (1.43)
PA	10.83 (1.52)	3.52 (1.11)	5.69 (0.92)	20.37 (0.83)	7.02 (2.35)	11.20 (1.22)
CH	11.89 (1.43)	4.58 (1.00)	7.31 (0.75)	23.36 (1.45)	9.00 (1.77)	14.37 (0.82)

Tabla X.- Porcentaje promedio de ácidos grasos (en base al total de ácidos grasos) de tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo. ISO: *Isochrysis* sp.; PALI: *Pavlova lutheri*; CHAE: *Chaetoceros calcitrans*.

Ácido graso	ISO		PALI		CHAE	
	A	B	A	B	A	B
SFA						
14:0	16.7 ^a	16.3	12.1 ^b	10.0	17.6 ^a	17.3
15:0	0.41 ^b	0.33	0.42 ^b	0.40	0.80 ^a	0.72
16:0	14.9 ^c	13.6	20.2 ^a	18.4	18.2 ^b	14.9
18:0	0.41 ^b	0.36	0.42 ^b	0.85	0.80 ^a	0.90
	32.05	34.54	33.14	29.65	37.40	33.82
MUFA						
16:1	13.9 ^b	3.70	17.8 ^a	16.2	18.5 ^a	27.3
18:1	11.6 ^a	13.0	1.99 ^b	2.23	3.00 ^b	3.23
	25.50	16.70	19.79	18.43	21.50	30.53
PUFA						
18:2	7.63 ^a	4.60	0.67 ^b	2.00	0.71 ^b	0.68
18:3	7.66 ^a	5.40	0.40 ^b	1.20	0.82 ^b	0.83
20:4 ω 6	0.50 ^b	0.51	1.66 ^a	1.60	1.99 ^a	3.10
20:5 ω 3	5.10 ^b	0.62	31.0 ^a	20.7	26.8 ^a	15.6
22:6 ω 3	19.1 ^a	11.7	12.7 ^b	9.20	6.83 ^c	2.63
	39.99	22.83	46.43	34.70	37.15	22.84

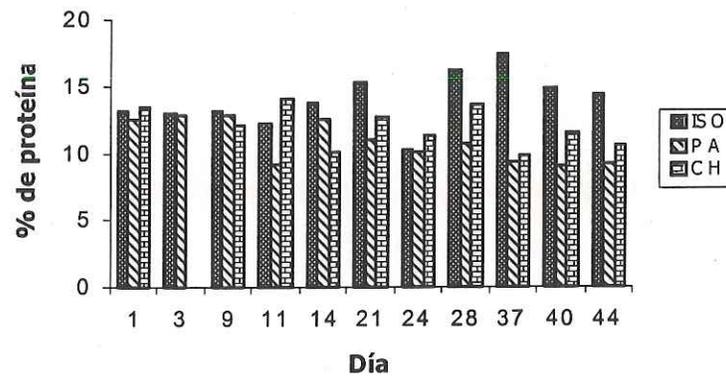
SFA: ác. grasos saturados; MUFA: ác. grasos monoinsaturados; PUFA: ác. grasos poliinsaturados.

A: porcentaje de ác. grasos obtenidos en este estudio.

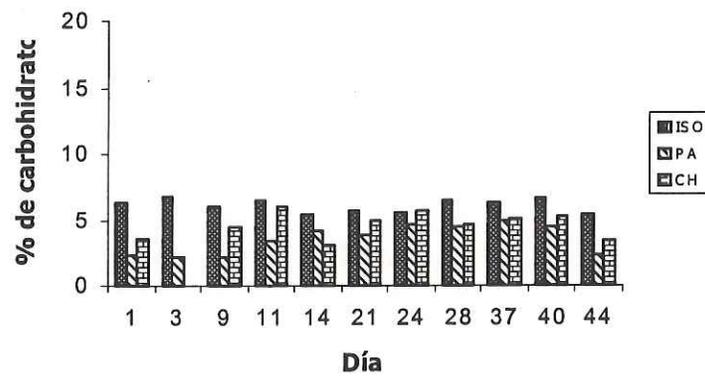
B: porcentaje promedio de ác. grasos obtenidos por Volkman *et al.* (1989); Thompson *et al.* (1990); Cordero *et al.* (1993); Dunstan *et al.* (1993); Albentosa *et al.* (1994); Reitan *et al.* (1994); Servel *et al.* (1994); Zhukova y Aizdaicher (1995); Caers *et al.* (1998); D'Souza y Loneragan (1999); Renaud *et al.* (1999)

a significativamente > b > c.

A)



B)



C)

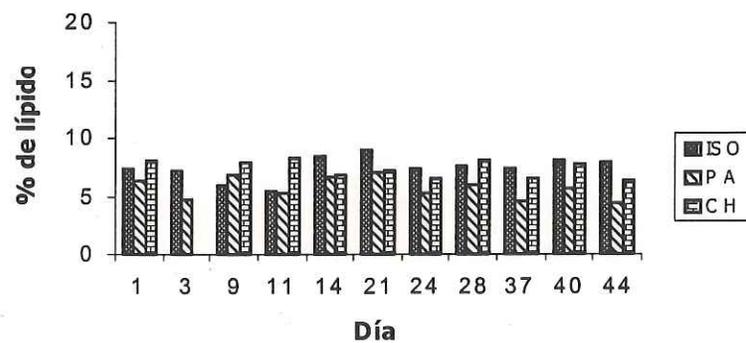
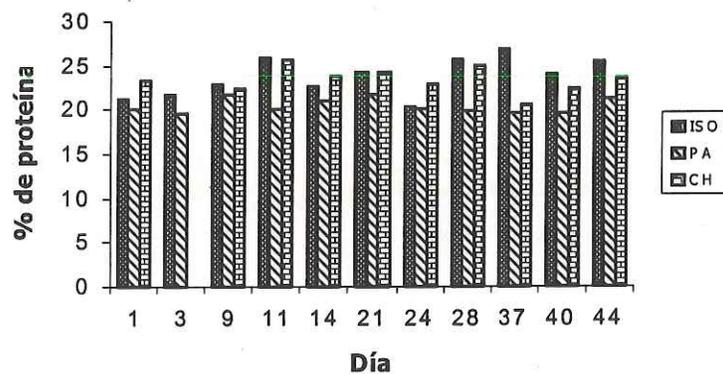
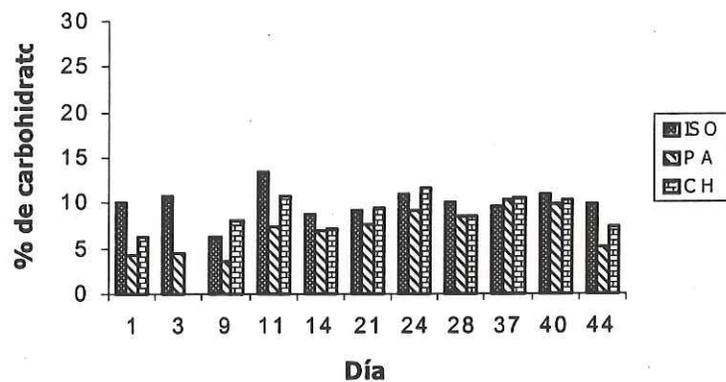


Fig 5.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco total de tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo. ISO: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri* y CH: *Chaetoceros calcitrans*.

A)



B)



C)

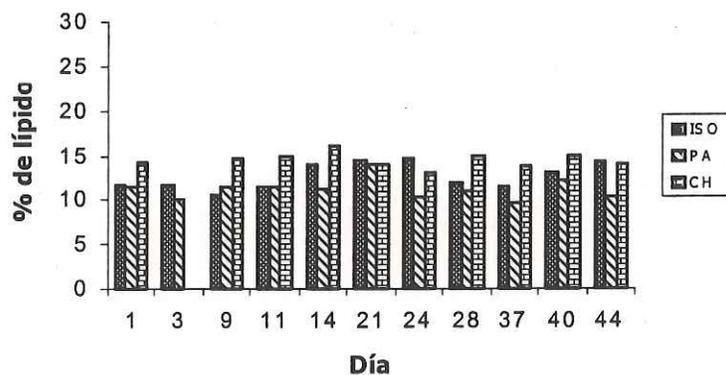


Fig 6.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco orgánico en tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo. ISO.: *Isochrysis* sp.; PA: *Pavlova lutheri* y CH: *Chaetoceros calcitrans*.

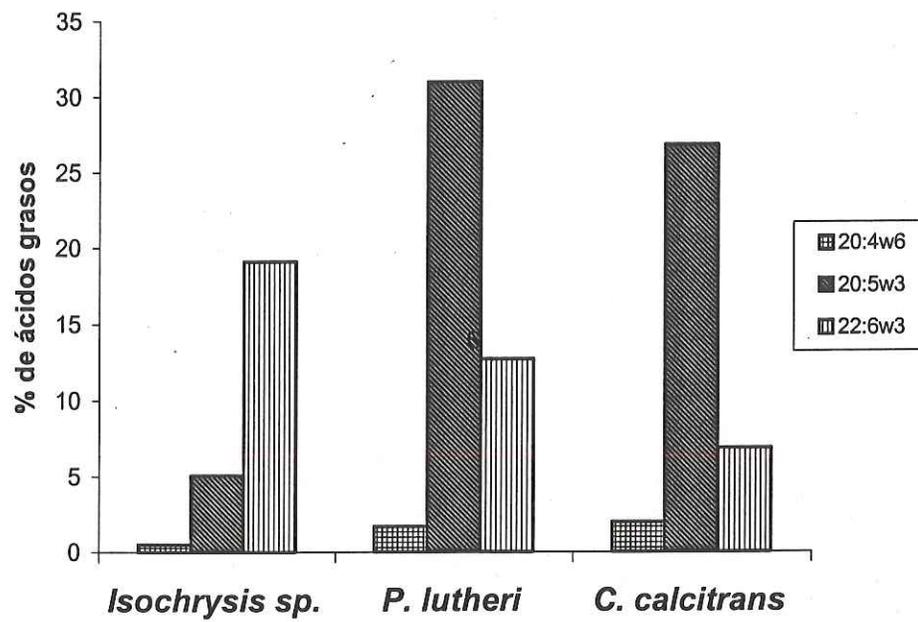


Fig 7.- Porcentaje promedio de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's) 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 de tres microalgas mantenidas en sistema semicontinuo.

V.1.3 Mezclas bialgales destinadas para la alimentación de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*.

V.1.3.1 Peso seco total y peso seco orgánico

Los resultados de biomasa en base al PST y PSO (Tabla XI) de las tres mezclas bialgales (M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans* y M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.) utilizadas para los bioensayos de alimentación mostraron que M3 presentó un mayor contenido en PST y PSO (622.7 y 337.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ respectivamente) ($p < 0.05$), estos valores son similares a los obtenidos en las microalgas individuales (en el sistema semicontinuo) que conforman esta dieta. Los porcentajes de cenizas fueron ligeramente más altos en las mezclas M1 y M2 que los obtenidos en el sistema semicontinuo.

Tabla XI.- Peso seco total (PST), peso seco orgánico (PSO) y porcentaje de cenizas (desviación estándar entre paréntesis) de tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.

	PST ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	PSO ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	% CENIZAS
M1	599.55 (124.2)	304.27 (51.38)	51.17 (4.96)
M2	586.77 (67.41)	314.88 (70.60)	53.58 (4.78)
M3	622.66 (112.9)	337.05 (51.73)	45.46 (6.43)

V.1.3.2 Composición bioquímica

Proteínas

En el porcentaje de proteínas obtenido en las mezclas bialgales (Tabla XII, Fig. 8 y 9), se observan valores máximos en M2 de 14.51 y 27.60 % (en base al PST y PSO respectivamente) con respecto a M1 y M3 ($p < 0.05$); en estos últimos casos no se encontraron diferencias significativas entre ambos ($p > 0.05$).

En general no se encontraron diferencias significativas entre los muestreos en base a PST a través del tiempo ($p > 0.05$), con excepción en M1 y M2 principalmente el día 11 y los días 37 y 40 en base a PSO básicamente en M1. En el caso de M3 las variaciones se encontraron en los días 11, 14 y 40 para PS; en el caso de PSO los días 11 y 40.

Tabla XII.-Porcentaje de proteínas, carbohidratos y lípidos (desviación estándar entre paréntesis), en base a peso seco total (PST) y peso seco orgánico (PSO) de tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans* y M3: *Chaetoceros calcitrans-Isochrysis sp.*

	PST			PSO		
	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos
M1	11.04 (1.91)	6.21 (1.73)	6.99 (1.23)	21.13 (1.59)	12.29 (2.85)	13.38 (0.99)
M2	14.51 (5.13)	5.84 (2.82)	7.61 (3.61)	27.60 (3.93)	10.12 (2.96)	15.18 (0.42)
M3	10.28 (1.78)	5.90 (1.28)	8.20 (1.03)	18.62 (1.71)	10.85 (2.50)	14.94 (1.30)

Carbohidratos

Los carbohidratos obtenidos en las mezclas bialgales fueron de alrededor del 6 % (en base al PST). Los referidos en base al peso seco orgánico se comportan de manera similar a la observada con base al peso seco total, con valores de 12.29% en M1 y entre 10.12 a 10.85

% en M2 y M3 respectivamente (Tabla XII, Fig. 8 y 9). El análisis de comparaciones múltiples de Tukey mostró una diferencia significativa entre M1 y M3 con respecto a M2 ($p < 0.05$), no así entre M1 y M3 ($p > 0.05$).

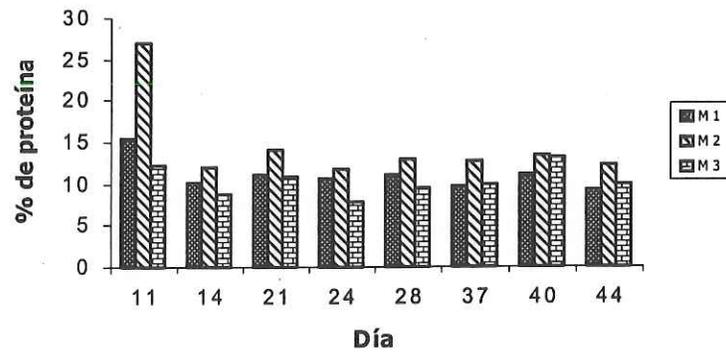
Se presentaron variaciones significativas (anova no paramétrica de Kruscal-Wallis) en las diferentes mezclas entre los días de muestreo tanto en PST como PSO ($p < 0.05$).

Lípidos totales

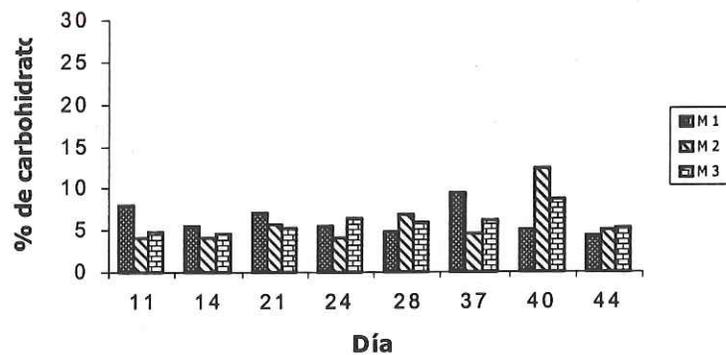
Con relación a los porcentajes promedios de lípidos entre las tres mezclas bialgales (Tabla XII, Fig. 8 y 9,) se observó que en general la mezcla M2 presentó los porcentajes lipídicos más elevados en relación al peso seco orgánico (15.18 %), sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los resultados con las tres mezclas bialgales ($p > 0.05$). En los porcentajes lipídicos en base al PST sí se encontraron diferencias significativas, donde M2 y M3 obtuvieron los porcentajes más elevados con respecto a M1 ($p < 0.05$).

En general no se encontraron diferencias significativas en M1 entre los días de muestreo ($p > 0.05$) (anova de Kruscal-Wallis) con excepción del día 11 en base a PST, en el caso de los porcentajes de lípidos en M1 en base a PSO se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$). En M2 las principales diferencias fueron en los días 11 (PST) y 14 (PSO). Para M3 se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de lípidos entre los diferentes días de muestreo tanto en los obtenidos en base al PST como en base a PSO ($p < 0.05$).

A)



B)



C)

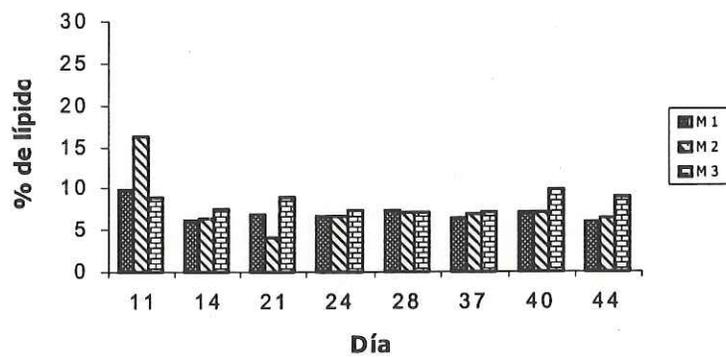
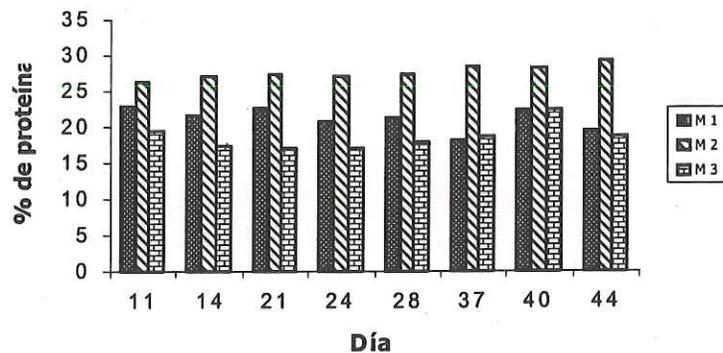
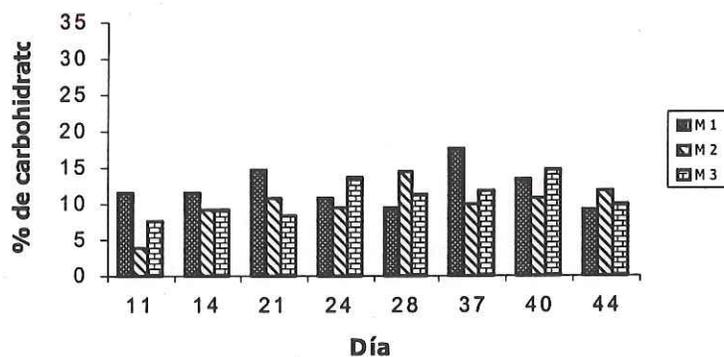


Fig 8.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco total en tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Chaetoceros calcitrans*-*Pavlova lutheri* y M3: *Isochrysis* sp.-*Chaetoceros calcitrans*.

A)



B)



C)

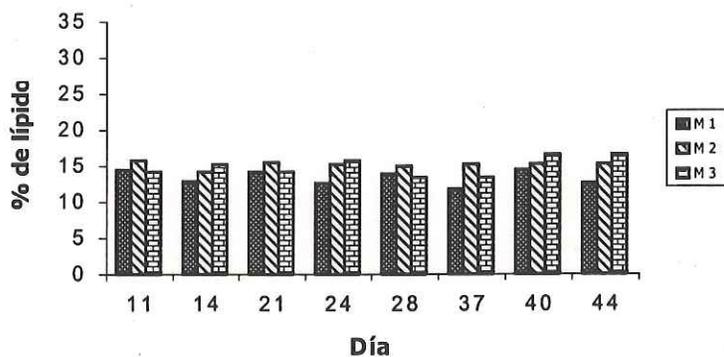


Fig 9.- Porcentaje de proteínas (A), carbohidratos (B) y lípidos (C) en base a peso seco orgánico en tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Chaetoceros calcitrans*-*Pavlova lutheri* y M3: *Isochrysis* sp.-*Chaetoceros calcitrans*.

V.2 Cultivo de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*

V.2.1 Alimentación

V.2.1.1 Tasa de filtración y Ración alimenticia

Los resultados obtenidos con relación a la tasa de filtración de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales para cada una de las raciones se muestra en la Tabla XIII. Las mayores tasas de filtración por organismos se registraron a las primeras horas después de adicionarle el alimento, disminuyendo a través del tiempo. Las tasas de filtración obtenidas en las semillas de mano de león con las tres mezclas a la ración del 4 % en base al peso húmedo ($200,000 \text{ cél}\cdot\text{ml}^{-1}$) mostraron una tendencia a disminuir en las primeras dos horas, estabilizándose después de cuatro horas manteniendo los organismos una tasa de filtración constante (Fig. 10).

Con respecto a las tasas de filtración de los organismos correspondientes a los alimentados con la ración del 6 % del peso húmedo del organismo ($300,000 \text{ cél}\cdot\text{ml}^{-1}$), se registró una tendencia de disminución similar con las tres mezclas de microalgas (Fig. 10), en la que las tasas tienden a bajar en las primeras horas, observándose posteriormente estabilidad después de 6 y 7 horas.

En el caso de la ración alimenticia equivalente al 8 % ($450,000 \text{ cél}\cdot\text{ml}^{-1}$), se observó una variación mayor en la tasa de filtración con las tres mezclas (Fig. 10), con una disminución en las primeras dos horas, continuando hasta la cuarta hora y enseguida se registró un mínimo incremento seguido de una disminución posterior alcanzándose la estabilidad en sus valores.

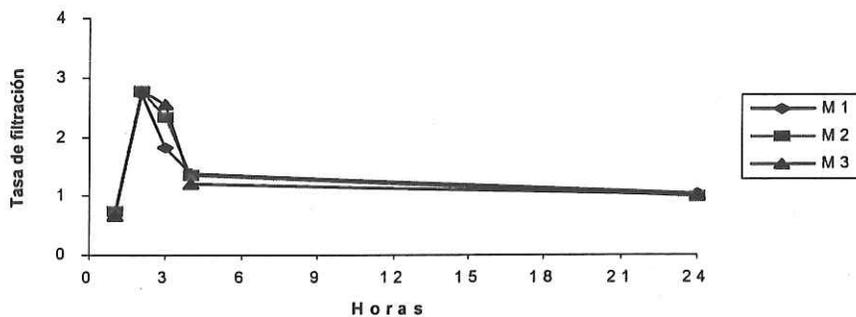
La mayor tasa de filtración en las semillas de mano de león fue la obtenida con la ración de 300,000 cél·ml⁻¹ en las tres mezclas, en las primeras tres horas de alimentación, sin embargo, ésta disminuye hasta el 50 % después de este periodo.

Se observó la producción de pseudoheces con la ración de 450,000 cél·ml⁻¹, además se registró alimento remanente después de las 24 horas en la ración antes mencionada al igual que en la de 300,000 cél·ml⁻¹, por lo anterior se seleccionó la ración de 200,000 cél·ml⁻¹ para los ensayos de alimentación de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* con las tres mezclas bialgales.

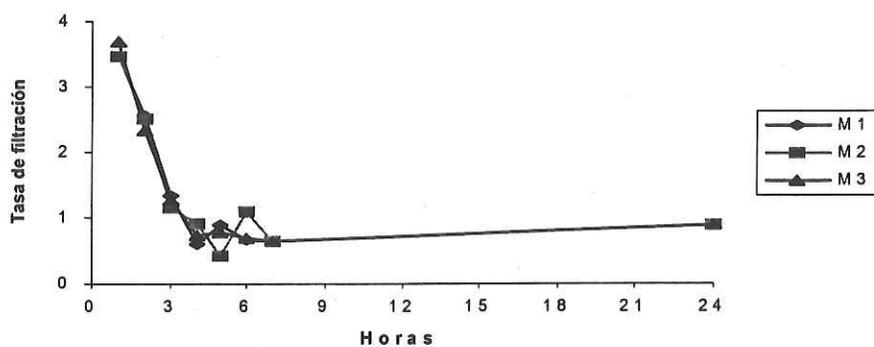
Tabla XIII.- Tasa de filtración (ml·min⁻¹) con tres raciones alimenticias A: 200,000; B: 300,000 y C: 450,000 cél·ml⁻¹ de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.

Ración	Horas	M1	M2	M3
A	1	0.7143	0.7382	0.6668
	2	2.7263	2.7642	2.7739
	3	1.8101	2.3335	2.5423
	4	1.3677	1.3509	1.2038
	24	1.0340	0.9911	1.0173
B	1	3.4612	3.4571	3.6895
	2	2.5634	2.5155	2.3351
	3	1.3322	1.1503	1.2732
	4	0.6080	0.9047	0.7297
	5	0.8798	0.4170	0.7832
	6	0.6584	1.0873	0.6995
	7	0.6443	0.6401	0.6437
	24	0.0893	0.8890	0.8982
C	1	2.9859	2.9859	2.8087
	2	1.1608	1.0996	1.2362
	3	1.1809	1.2485	1.3218
	4	0.4358	0.5179	0.4813
	5	0.6871	0.6165	0.5805
	6	0.5003	0.4367	0.5269
	7	0.0665	0.0728	0.0620
	24	0.3661	0.3676	0.3722

A)



B)



C)

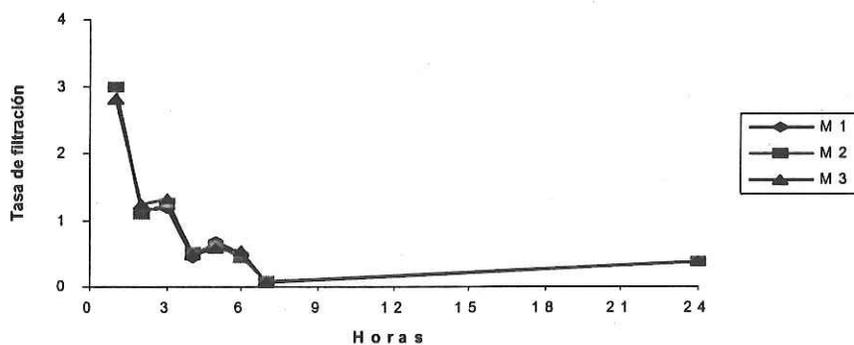


Fig. 10.- Tasa de filtración (ml·min⁻¹) con diferentes raciones alimenticias (A: 200,000; B: 300,000; C: 450,000 cél·ml⁻¹) de la almeja mano de león (*Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*) alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans* y M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.

IV.2.2 Crecimiento de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*

La talla máxima alcanzada (en longitud, eje dorso-ventral) de la concha (Tabla XIV, Fig. 11A), en la almeja mano de león después de un período de siete semanas fue obtenida en los organismos alimentados con la mezcla M2 (*Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans*) cuya talla alcanzó 6.98 mm, la longitud promedio registrada con M1 (*Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*) y M3 (*Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.) fue de 5.76 y 5.28 mm respectivamente. Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento M2 con respecto a M1 ($p < 0.05$) y M3 ($p < 0.05$), no así entre M1 y M3 ($p = 0.16$).

Con relación a los resultados en base al incremento en longitud (Tabla XV, Fig. 12A) se observó la misma tendencia, siendo M2 la mezcla con que se obtuvo el mayor incremento promedio (2.96 mm) con un 73.4% de incremento, seguida de M1 (1.74 mm) y M3 (1.26 mm), al final de experimento en estos dos casos se tuvieron incrementos del 43.2 y 31.3 % respectivamente.

Los resultados con relación al ancho promedio (eje antero-posterior) (Tabla XVI, Fig. 11B) de la concha presentaron tendencias similares a la longitud, siendo 6.71 mm el mayor ancho promedio registrado después de siete semanas de alimentación con la mezcla M2, seguida por la M1 y M3 con 5.48 y 5.00 mm respectivamente. Se observaron diferencias significativas entre la mezcla M2 con respecto a M1 ($p < 0.05$) y M3 ($p < 0.05$), no así entre M1 y M3 ($p = 0.27$).

Los incrementos promedios con referencia en el ancho de la concha (Tabla XVII, Fig. 12B) en la almeja mano de león mostraron un valor máximo en los organismos

alimentados con M2 el cual fue de 2.98 mm (80.0%), en comparación con M1 (47.0 %) y M3 (34.1 %) alcanzaron valores de 1.75 y 1.27 mm respectivamente.

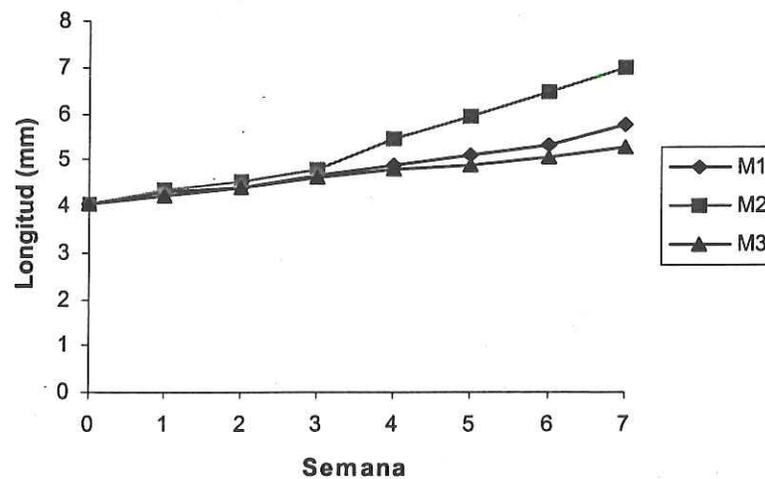
Tabla XIV.- Longitud promedio (en mm) (eje dorso-ventral de la concha) y desviación estándar (entre paréntesis) de la almeja mano de león (*Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*) alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans-Isochrysis sp.*

Dieta	Inicial	Semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
M1	4.03	4.29	4.39	4.64	4.86	5.09	5.31	5.76
	(0.32)	(0.42)	(0.48)	(0.48)	(0.51)	(0.60)	(0.63)	(0.82)
M2	4.03	4.34	4.53	4.78	5.44	5.93	6.46	6.98
	(0.32)	(0.36)	(0.36)	(0.46)	(0.54)	(0.66)	(0.73)	(0.86)
M3	4.03	4.24	4.41	4.62	4.78	4.88	5.04	5.28
	(0.32)	(0.34)	(0.40)	(0.48)	(0.50)	(0.55)	(0.54)	(0.62)

Tabla XV.- Incremento promedio en longitud (eje dorso-ventral de la concha) en mm (A) y en porcentaje (B) (desviación estándar entre paréntesis) de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans-Isochrysis sp.*

Dieta		Semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
M1	A	0.27	0.36	0.62	0.83	1.07	1.29	1.74
		(0.08)	(0.04)	(0.05)	(0.06)	(0.06)	(0.08)	(0.08)
	B	6.7	8.9	15.4	20.6	26.5	32.0	43.2
M2	A	0.31	0.51	0.75	1.42	1.90	2.43	2.96
		(0.06)	(0.04)	(0.05)	(0.06)	(0.07)	(0.08)	(0.05)
	B	7.7	12.7	18.6	35.2	47.1	60.3	73.4
M3	A	0.21	0.38	0.59	0.76	0.86	1.01	1.26
		(0.04)	(0.04)	(0.05)	(0.05)	(0.05)	(0.06)	(0.06)
	B	5.2	9.4	14.6	18.9	21.3	25.1	31.3

A)



B)

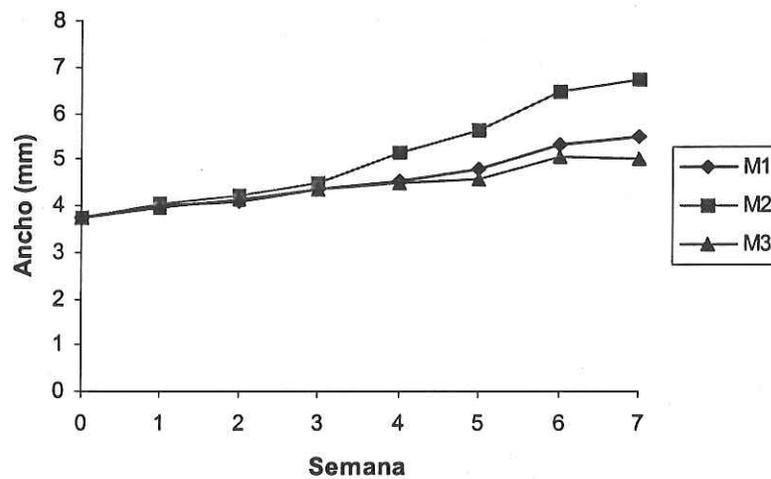
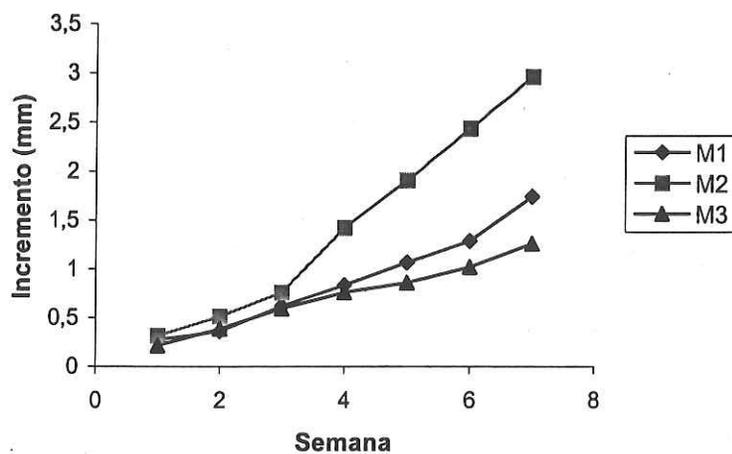


Fig. 11.- Longitud promedio por semana (eje dorso-ventral) (A) y ancho promedio (eje antero-posterior) (B) de la concha de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Chaetoceros calcitrans-Pavlova lutheri* y M3: *Isochrysis sp.-Chaetoceros calcitrans*.

A)



B)

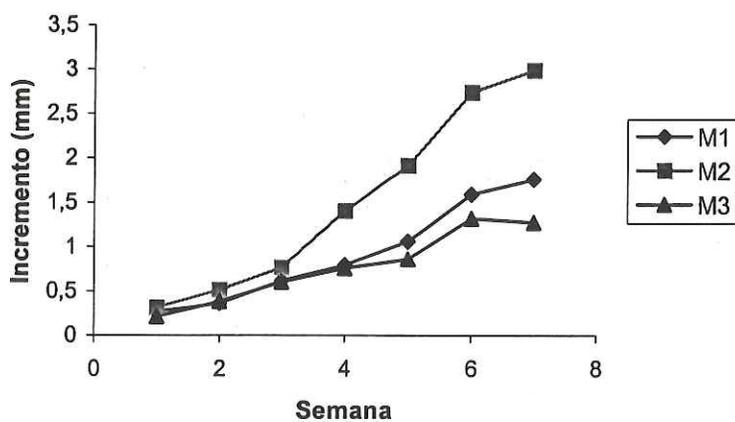


Fig. 12.- Incrementos (mm) en talla (eje dorso-ventral) (A) y ancho (eje antero-posterior) (B) de la concha de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Chaetoceros calcitrans-Pavlova lutheri* y M3: *Isochrysis sp.-Chaetoceros calcitrans*.

Tabla XVI.- Ancho (mm) promedio (del eje antero-posterior de la concha) y desviación estándar (entre paréntesis) de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.

Dieta	Inicial	Semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
M1	3.72	4.00	4.09	4.34	4.52	4.78	5.31	5.48
	(0.32)	(0.48)	(0.48)	(0.51)	(0.57)	(0.64)	(0.82)	(0.81)
M2	3.72	4.04	4.24	4.50	5.13	5.64	6.46	6.71
	(0.32)	(0.36)	(0.46)	(0.54)	(0.67)	(0.71)	(0.86)	(1.04)
M3	3.72	3.94	4.11	4.33	4.78	4.58	5.04	5.00
	(0.32)	(0.40)	(0.48)	(0.51)	(0.55)	(0.54)	(0.62)	(0.66)

Tabla XVII.- Incremento promedio en ancho (eje antero-posterior de la concha), en mm (A) y en porcentaje (B) (desviación estándar entre paréntesis) de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.

Dieta		Semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
M1	A	0.27	0.36	0.62	0.79	1.06	1.58	1.75
		(0.04)	(0.04)	(0.05)	(0.05)	(0.06)	(0.08)	(0.08)
	B	7.3	9.7	16.7	21.2	28.5	42.5	47.0
M2	A	0.31	0.51	0.76	1.40	1.91	2.73	2.98
		(0.03)	(0.04)	(0.05)	(0.06)	(0.07)	(0.08)	(0.04)
	B	8.3	13.7	20.4	37.6	51.3	73.4	80.1
M3	A	0.21	0.38	0.60	0.75	0.85	1.31	1.27
		(0.04)	(0.04)	(0.05)	(0.05)	(0.05)	(0.06)	(0.06)
	B	5.6	10.2	16.1	20.1	22.8	35.2	34.1

En base al peso húmedo promedio (Tabla XVIII, Fig. 13A) de los organismos alimentados con tres mezclas bialgales al término del experimento (7 semanas), se registró un mayor peso promedio en las almejas alimentadas con la mezcla M2 con 67.66 mg; en los organismos a los cuales se les proporcionó M1 y M3 se obtuvieron incrementos de 47.92 y 34.99 mg respectivamente. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos M2 con respecto a M1 ($p < 0.05$) y M3 ($p < 0.05$), no así entre M1 y M3 ($p = 0.42$).

Con respecto a los resultados en base al incremento promedio (Tabla XIX, Fig. 13B) en peso húmedo, se observó similitud con respecto a los registrados anteriormente, en donde el valor máximo al final del experimento fue de 57.83 mg, con un incremento de 588.3% que correspondió a los organismos alimentados con la mezcla M2, seguida de M1 (38.09 mg) y M3 (25.16 mg). En estos dos casos, los porcentajes de incremento estuvieron muy por debajo del registrado con la mezcla M2 (con 387.5 % para M1 y 256.0 % para M3).

Al final del experimento se obtuvieron incrementos entre 100 y 200 % en relación al peso seco de la carne (Tabla XX-C) en los organismos alimentados con las tres mezclas. En los incrementos de peso seco de concha+carne (A) los valores se encontraron entre 247 y 294 % con respecto al peso seco inicial. Los incrementos en peso de la concha (B) fueron de 366 a 432 %.

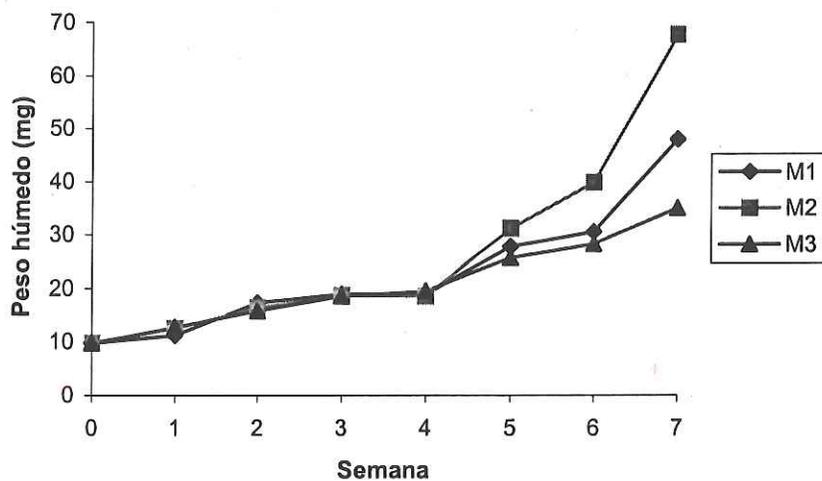
Tabla XVIII.- Peso húmedo promedio (en mg) (desviación estándar entre paréntesis), de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans-Isochrysis sp.*

Dieta	Inicial	Semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
M1	9.83 (1.16)	11.18 (3.07)	17.38 (5.27)	18.88 (1.78)	18.80 (2.78)	27.82 (7.22)	30.53 (4.14)	47.92 (3.98)
M2	9.83 (1.16)	12.60 (5.72)	16.48 (5.02)	18.68 (5.05)	18.49 (3.97)	31.25 (3.82)	39.88 (3.95)	67.66 (10.4)
M3	9.83 (1.16)	12.77 (3.77)	16.82 (4.66)	18.48 (2.76)	19.45 (1.81)	25.72 (6.31)	28.31 (5.40)	34.99 (6.87)

Tabla XIX.- Incremento promedio en peso húmedo (en mg) (A) y porcentaje (B) (desviación estándar entre paréntesis) de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri-Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans-Isochrysis sp.*

Dieta		Semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
M1	A	1.34 (0.30)	7.55 (3.27)	9.05 (1.78)	9.97 (2.78)	17.99 (7.22)	20.70 (4.14)	38.09 (3.98)
	B	13.6	76.8	92.1	101.4	183.0	210.6	387.5
M2	A	2.77 (0.05)	6.65 (2.02)	9.85 (3.50)	9.66 (3.97)	21.42 (3.62)	30.05 (5.95)	57.83 (0.42)
	B	28.2	67.7	100.2	98.3	218.0	305.7	588.3
M3	A	3.94 (0.37)	6.99 (2.66)	8.65 (2.76)	9.62 (1.81)	15.89 (6.31)	18.48 (5.40)	25.16 (6.87)
	B	40.1	71.1	88.0	98.0	161.6	188.0	256.0

A)



B)

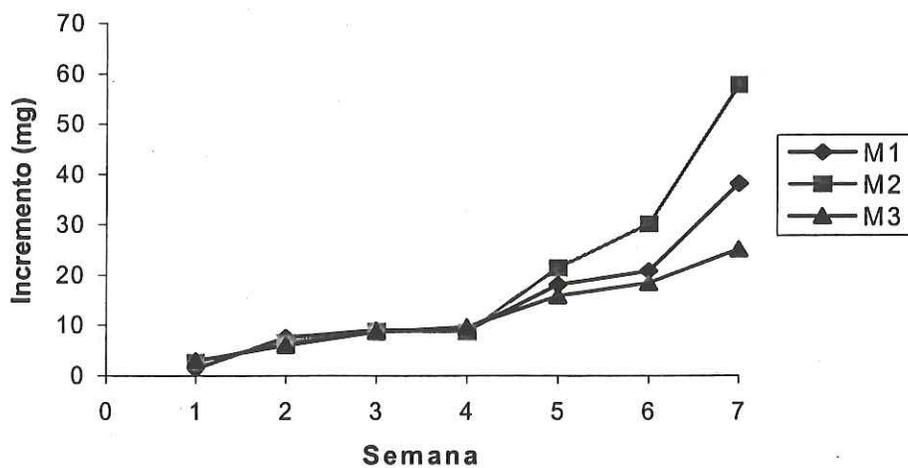


Fig. 13.- Peso húmedo promedio (A) e incrementos (B) de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis sp.-Pavlova lutheri*; M2: *Chaetoceros calcitrans-Pavlova lutheri* y M3: *Isochrysis sp.-Chaetoceros calcitrans*.

Tabla XX.- Peso seco en mg (A: concha+carne; B:concha y C: carne) de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* alimentada con tres mezclas bialgales. M1: *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri*; M2: *Pavlova lutheri*-*Chaetoceros calcitrans*; M3: *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp.

Dieta		Inicial	Final	Incremento (mg)	%
M1					
A	9.51 (1.34)	23.5 (3.71)	14.0 (1.07)	247	
B	3.87 (0.88)	14.2 (3.67)	10.3 (1.78)	366	
C	5.63 (0.60)	9.28 (1.00)	3.65 (0.09)	164	
M2					
A	9.51 (1.34)	28.0 (4.10)	18.5 (2.09)	294	
B	3.87 (0.88)	16.7 (2.36)	12.8 (1.97)	432	
C	5.63 (0.60)	11.3 (1.78)	5.69 (0.99)	201	
M3					
A	9.51 (1.34)	21.6 (3.98)	12.1 (1.07)	227	
B	3.87 (0.88)	14.4 (2.92)	10.5 (0.09)	372	
C	5.63 (0.60)	7.21 (0.98)	1.57 (0.00)	128	

VI. DISCUSIÓN

Las microalgas siguen siendo consideradas hasta la fecha, el mejor alimento para organismos filtradores, a pesar de los esfuerzos por tratar de remplazarlas por dietas artificiales. Por esta razón son ampliamente utilizadas en la acuicultura de estos organismos. Se seleccionan tomando en cuenta sus características de tamaño, tasas de crecimiento y composición bioquímica. Sin embargo, los resultados de biomasa reportados en la literatura son variables, debido a las diferentes condiciones en que se cultivan; tales como medio de cultivo, temperatura, intensidad de luz, y fase de crecimiento en que éstas son cosechadas, entre otros (Brown *et al.*, 1997).

La biomasa celular obtenida en la fase exponencial de las tres microalgas analizadas en este estudio fue mayor a la obtenida por otros autores, tanto en volúmenes de cultivo similares como mayores (González, 1991; Dunstan *et al.*, 1992; Brown *et al.*, 1998; Chavira, 2000). En cultivos masivos (300 l) se han reportado biomásas de 1.5×10^6 cél·ml⁻¹ para *Isochrysis* (cepa similar a la utilizada en este trabajo), los cuales generalmente son cultivados al exterior en los estados de Sonora y Sinaloa, donde son expuestos a las diferentes condiciones ambientales que prevalecen durante los ciclos de producción de los organismos en cultivo a través del año (larvas de camarón). En dichos lugares, no se llevan controles estrictos en las rutinas de cultivo, lo cual aumenta la variación en las biomásas obtenidas (Saenz, 2000, Rodríguez, 2000, López en prep.). En nuestro caso la tendencia a un aumento de la biomasa celular a través del tiempo en los cultivos estáticos fue similar a la expresada por Brown *et al.* (1993) y Dunstan *et al.* (1993). En *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros calcitrans* que alcanzaron más rápidamente la fase de máximo crecimiento en comparación con

Pavlova lutheri, la cual ha sido reportada anteriormente como la que presenta menores crecimientos. Esta microalga es más susceptible a variaciones en las condiciones de cultivo, principalmente debido a la temperatura (González, com. personal), lo cual además de otros factores puede tener efectos negativos en sus tasas de crecimiento (Brown *et al.*, 1993). En el presente estudio las tasas de crecimiento obtenidas fueron diferentes en cada especie de microalgas, presentándose las mayores generalmente durante los primeros días de cultivo. Los valores obtenidos son similares a los descritos por González (1991) y Herrero *et al.* (1991).

Las tasas de crecimiento de microalgas pueden variar ampliamente entre sus diferentes fases de crecimiento, Herrero *et al.* (1991) mencionó valores de 1.58 divisiones por día en la fase exponencial para la microalga *Dunaliella tertiolecta*. En este estudio se observó que la especie *Chaetoceros* alcanzó las fases de crecimiento exponencial y lento más rápidamente. También se observó un decaimiento en el cultivo debido a una elevada producción de exudados, que puede tener como consecuencia una mayor proliferación de bacterias (González, 1991; Chavira, 2000).

Para que las microalgas tengan una composición bioquímica estable al momento de ser cosechadas, es ampliamente recomendable mantener el cultivo en sistema semicontinuo, seleccionando primeramente una adecuada tasa de dilución, la cual dependerá de la tasa de crecimiento de cada microalga en particular.

Se ha observado que las diatomeas principalmente del género *Chaetoceros* soportan diluciones mayores al 50 % (González, 1991; Cordero 1994). Sin embargo, *Chaetoceros calcitrans* mantuvo un número celular constante sólo con las tasas de dilución menor al

30%. En el caso de *Isochrysis* y *Pavlova* la tasa de dilución correspondiente al 20 % ha sido utilizada y recomendada por Brown *et al.* (1993) y Dunstan *et al.* (1993) para el mantenimiento de un cultivo semicontinuo en la fase de crecimiento exponencial. En este estudio *Pavlova lutheri* soportó únicamente la dilución del 20 % y aunque González (1991) reportó que *Isochrysis* puede ser mantenida con una tasa de dilución mayor al 30 %, en este trabajo sólo se mantuvo con diluciones menores al 30 %.

Los porcentajes promedio de ceniza obtenidos en las tres especies de microalgas mantenidas en el sistema estático y semicontinuo, así como los porcentajes promedios de las tres mezclas bialgales muestran valores elevados con relación a los obtenidos por otros autores en las microalgas *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri*. En el caso de la diatomea *Chaetoceros calcitrans* los valores observados se encuentran dentro de los valores promedio, esta diferencia se explica por la cubierta celular silíceica de esta microalga (González, 1991; Cordero, 1994; Flores 1998; Renaud, *et al.*, 1999).

Las diferencias en el porcentaje de cenizas puede deberse a la edad del cultivo. Además, si las muestras filtradas no tienen un tratamiento adecuado ó no son enjuagadas suficientemente se corre el riesgo de que residuos de sales provenientes del medio de cultivo se queden en el filtro (González, 1991). Este pudo ser el caso en el presente estudio para las microalgas flageladas. Sin embargo, es recomendable que para evitar problemas en la administración de dietas para organismos en cultivo, éstas se formulen con base en la materia orgánica presente en las microalgas. En el presente trabajo este fue el criterio usado.

La fase de crecimiento en la cual se cosechan las microalgas es sumamente importante debido a que el valor nutricional es diferente a través de la curva de crecimiento.

La fase de máximo crecimiento exponencial es la ideal para que puedan tenerse condiciones bioquímicas adecuadas para la alimentación. La composición bioquímica, el peso seco y el peso seco orgánico de las microalgas cultivadas en este estudio fueron diferentes en las fases de crecimiento en las que se cosechó la microalga. Generalmente la mayor cantidad de proteínas se encuentra en la fase de crecimiento exponencial (37-45%), seguida por los lípidos (22-32%) y los carbohidratos (8-10%); estos porcentajes cambian a través de la edad del cultivo (Fidalgo *et al.*, 1998), por lo que las microalgas utilizadas como alimento en este trabajo fueron cosechadas en la fase tardía de crecimiento exponencial.

Los valores y tendencias registrados en este estudio con relación a los porcentajes de proteínas, carbohidratos y lípidos obtenidos en las microalgas *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* mantenidas en el sistema estático y semicontinuo se encuentran en el intervalo de los obtenidos en otros estudios (González, 1991; Brown *et al.*, 1993; Cordero, 1994; Flores, 1998; Renaud, *et al.*, 1999), al igual que la pequeña variación entre los porcentajes de los componentes en el sistema semicontinuo y los registrados en la fase exponencial de los cultivos estáticos. Las fluctuaciones que se presentaron en la composición bioquímica de las microalgas en el presente estudio ha sido registrada también en otros laboratorios (Fidalgo *et al.*, 1998; Nikos y Lucas, 2000).

Es por ello, que además de la importancia de mantener cultivos de microalgas que proporcionen un adecuado valor nutricional para cada especie de organismo, es también necesario tomar en cuenta los diferentes factores que alteran su composición bioquímica. Dentro de estos factores se encuentra la intensidad de luz, la temperatura, suministro de CO₂, aireación, frecuencia de dilución y densidad del cultivo (Herrero *et al.*, 1991; Caers *et al.*,

1999; Chavira, 2000; Nikos y Lucas, 2000; Rodríguez, 2000), ya que la optimización de los cultivos de microalgas es importante para lograr tener una composición bioquímica constante al momento de ser administrada como alimento, sobre todo dependiendo de la finalidad de esta alimentación. Tal es el caso de la importancia que presentan los carbohidratos como fuente de energía para la gametogénesis de los reproductores, así como los lípidos cuya función radica en ser precursores de tejido y componentes de reserva energética en los organismos (Martínez, *et al.*, 2000).

El contenido de ácidos grasos ha sido ampliamente estudiado en diversas especies de microalgas, debido a que son componentes que influyen en su valor nutricional, principalmente por su función como componentes de membranas celulares de los organismos y por su capacidad energética. Actualmente se ha hecho énfasis en el estudio acerca del contenido de ácidos grasos en las microalgas. Tal es el caso de los ácidos poliinsaturados considerados esenciales para los organismos en cultivo, ya que algunos de ellos no pueden ser sintetizados por éstos y cuando lo son, la cantidad producida no es suficiente (Dunstan *et al.*, 1992). La variación existente en los perfiles y contenido de ácidos grasos entre las diferentes especies de microalgas es atribuido a las distintas condiciones de cultivo utilizadas (Viso y Marty, 1993). Hatate *et al.* (1998) encontró que *Pavlova lutheri* contiene grandes cantidades de 20:5 ω 3 (ácido eicosapentaenoico) y 22:6 ω 3 (ácido docosahexaenoico), así como *Chaetoceros gracilis* los contiene de forma moderada, lo cual fue confirmado en este trabajo. Al analizar los ácidos grasos existentes en *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* se obtuvieron porcentajes que se encuentran entre los intervalos y promedios obtenidos por otros autores (Volkman *et al.*, 1989; Thompson *et*

al., 1990; Cordero *et al.*, 1993; Dunstan *et al.*, 1993); Albentosa *et al.*, 1994; Reitan *et al.*, 1994; Servel *et al.*, 1994; Zhukova y Aizdaicher, 1995; Caers *et al.*, 1998; D'Souza y Loneragan, 1999; Renaud *et al.*, 1999). Las variaciones en el contenido de ácidos grasos de las microalgas registradas a través de un cultivo estático así como en el semicontinuo han sido reportadas por Brown *et al.* (1993) y Dunstan *et al.* (1993).

Es importante considerar que las variaciones de los resultados registrados en la literatura son debidos a las condiciones particulares, los métodos y técnicas de análisis según el autor y aunque son consideradas poco significativas, pueden explicar algunas de las discrepancias que se obtienen al comparar estos resultados (Soeder, 1981). Por lo anterior es necesario encontrar una dieta que satisfaga los requerimientos nutricionales de cada una de las especies de organismos que se cultivan, sin olvidar los factores que influyen en el crecimiento de éstos, como la temperatura, la cantidad de alimento disponible, la edad y la línea genética (Ian, 2000; Nikos y Lucas, 2000).

Además de la evaluación nutricional de dietas algales es necesario medir dos parámetros que juegan un papel muy importante en los ensayos de alimentación y crecimiento como lo son la ración alimenticia y la tasa de filtración. Estos dos parámetros se ven afectados por diversos factores que influyen en su cuantificación (temperatura, especie, talla, edad, corrientes y la tasa de reproducción del alimento) (Caers *et al.*, 1999; Cole *et al.*, 1992; Sanina, 1976). Dado que en este estudio se observó una reproducción de las microalgas que se administraron como alimento a *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*, fue necesario realizar los experimentos de alimentación en la obscuridad para descartar subestimaciones en la tasa de filtración debido a este factor. Asimismo, fue necesario

mantener un sistema de flujo apropiado para evitar el hundimiento de las microalgas que pudiera afectar la cuantificación de la tasa de filtración (Cole *et al.*, 1992).

Las raciones alimenticias utilizadas en este trabajo se encuentran en el intervalo promedio de valores utilizados por otros autores como Cordero (1994) y Martínez *et al.* (2000), las cuales fluctúan entre el 3 y 10 % del peso del organismo. Además, se menciona que éstas son adecuadas para bivalvos en general. En este caso para la escalopa *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*, se seleccionó la ración del 4 % de su peso húmedo. Esta selección se hizo debido a la relación que se presentó entre cada una de las raciones probadas y sus tasas de filtración a través de un tiempo determinado; así como a la presencia de pseudoheces en la concentración mayor. Aunque se ha mencionado que los pectínidos típicamente no producen grandes cantidades de pseudoheces comparados con los mitílidos y ostreideos (Bricelij y Shumway, 1991), en el presente estudio se observó una producción de pseudoheces en los organismos alimentados con la ración del 8% de su peso húmedo. Resultados similares fueron reportados por Cordero (1994) en *Mytilus galloprovincialis*.

Navarro y Winter (1982), encontraron que al aumentar la concentración de alimento se disminuye la tasa de filtración en el caso de *Mytilus chilensis*. También Lu y Blake (1997) obtuvieron la mayor tasa de filtración a concentraciones bajas de alimento las cuales decrecieron cuando se incremento la ración.

Lo anterior puede explicarse debido al hecho de que al proporcionar concentraciones mayores de alimento este excedente es expulsado en forma de pseudoheces, lo cual afecta la calidad de agua en los contenedores ocasionando el cierre parcial de las valvas y a su vez influencia de manera importante la tasa de filtración. Una de las repercusiones mayores en la

producción de pseudoheces es la utilización de energía que se encontraba disponible para el crecimiento corporal, trayendo consigo un incremento no significativo en la talla del organismo.

La influencia de la producción de pseudoheces en la tasa de filtración en el presente trabajo no fue cuantificada. Sin embargo, este efecto con respecto a la tasa de filtración ha sido registrado por Navarro y Winter (1982).

La mejor tasa de filtración fue obtenida en la concentración menor de alimento, en donde no hubo producción de pseudoheces ni depositación de microalgas en el fondo. Los valores mayores en las tasas de filtración de *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* se presentaron durante las primeras horas. Mohlenberg y Riisgard (1979) obtuvieron las mayores tasas de filtración durante los 30 minutos después de aplicado el alimento.

Los valores de filtración en el presente trabajo son menores a los obtenidos para otros bivalvos, probablemente debido a la talla y edad del organismo, así como al hecho de que la temperatura del medio en el cual se cultivaron los organismos fue diferente. Además es necesario mencionar que las tasas de filtración son distintas dependiendo de la especie (Caers *et al.*, 1999; Cole *et al.*, 1992; Sanina, 1976). Desafortunadamente no fue posible comparar con otros datos de *Lyropecten*, ya que los estudios sobre esta especie son escasos.

La variación en la tasa de filtración es una característica común en bivalvos (Schulte, 1975). Griffiths (1980) demostró que pueden observarse fluctuaciones en la tasa de filtración en *Choromytilus meridionalis*, probablemente debido a la actividad digestiva, la saturación y la reducción de la filtración hasta la clarificación del agua. Lo anterior puede explicar las pequeñas variaciones que se presentaron en la tasa de filtración principalmente en las

raciones del 6 y 8 % del peso húmedo, lo cual se correlaciona con las concentraciones mayores utilizadas en este experimento. Sin embargo, la tendencia de la tasa de filtración a decrecer en función del tiempo es similar a la obtenida por otros autores.

El valor nutricional de una dieta generalmente se puede medir a través del crecimiento del organismo (una vez seleccionada su ración alimenticia), y a la conjunción de los componentes de la dieta. Estos se ven enriquecidos si se utilizan en dietas con más de una microalga (Webb y Chu, 1982; Fidalgo *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 2000; Nikos y Lucas, 2000). Aparentemente el factor determinante, más que la cantidad de calorías consumidas, es la complementación cuantitativa de las dietas (Díaz y Martínez, 1992; Velasco, 1997).

El uso de dietas monoalgales en estudios de alimentación ha sido amplio. En ellos se ha observado que *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri* poseen un buen valor nutritivo comparado con otras microalgas para mitílidos, ostiones y crustáceos (Delaunay *et al.*, 1993; D'Souza y Loneragan, 1999). Además, el tamaño y la estructura de la pared celular de estas microalgas favorece una alta eficiencia de ingestión como se ha observado en pectínidos (Araya *et al.*, 1993). Cuando estas microalgas son utilizadas en mezclas ofrecen elevadas tasas de crecimiento en organismos marinos, principalmente en mezclas con *Pavlova* y *Chaetoceros* (D'Souza y Loneragan, 1999; Ian, 2000).

El efecto de las microalgas sobre el crecimiento varía en las diferentes especies a alimentar, así como *Pavlova lutheri* parece ser buen alimento para larvas de diferentes bivalvos como la escalopa *Mimachlamys asperrema* y el mejillón *Mytilus edulis* (Meei *et al.*, 1997; Nikos y Lucas, 2000), pero para otras es pobre siendo un ejemplo la escalopa

Patinopecten yessoensis (Nikos y Lucas, 2000). Podemos observar que el valor nutricional de cada una de las microalgas o sus mezclas depende del estadio y especie de organismo, por lo cual se presentan variaciones entre autores aún con la misma especie pero con diferente talla.

En el caso de *Lyropecten*, su tasa de crecimiento dió como resultado incrementos en longitud (eje dorso-ventral), peso seco y peso seco carne hasta de un 73, 299, y 201 % respectivamente, para la mezcla de *Chaetoceros calcitrans* y *Pavlova lutheri*, la cual registró los mejores resultados. Estos valores difieren de los obtenidos por otros autores en otros organismos tanto en dietas monoalgales como bialgales debido posiblemente a la diferencia en el tamaño de los organismos que utilizó cada autor (Castagna, 1975; Cary *et al.*, 1981; Albentosa *et al.*, 1994, 1996; Caers *et al.*, 1998).

Las mezclas de *Isochrysis* sp.-*Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans*-*Isochrysis* sp., fueron relativamente más pobres en su valor nutricional posiblemente debido a que la conjunción de sus componentes bioquímicos principalmente los ácidos grasos. Aunque éstos hacen a *Chaetoceros calcitrans* y *Pavlova lutheri* una mezcla con una mayor calidad nutricional para la escalopa *Lyropecten* (*Nodipecten*) *subnodosus*, la diferencia entre estas dietas fue la presencia de los ácidos grasos 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3, los cuales han sido considerados esenciales para el crecimiento de organismos acuáticos (Langdon y Waldock, 1981; Delaunay *et al.*, 1993; Brown *et al.*, 1997, 1998; Caers *et al.*, 1999; D'Souza y Coneragan, 1999).

VII. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio demuestran que no se debe generalizar acerca de la calidad alimenticia de dietas particulares para bivalvos. Cada especie debe ser estudiada en forma individual, considerando por separado el tipo de dieta, la estrategia de suministro y el tamaño de ración, ya que todos estos factores son importantes para determinar las condiciones bajo las cuales se puede optimizar el crecimiento de un organismo.

En el caso de los cultivos de microalgas se determinó que la cantidad y calidad de la biomasa producida varía en cada especie y depende de la fase de crecimiento en que ésta es cosechada. En este caso, los análisis finos a nivel de ácidos grasos, principalmente los poliinsaturados definieron la calidad nutricia de las microalgas analizadas. Las microalgas *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* contienen la mayor cantidad de los ácidos grasos considerados esenciales como lo son el 20:4 ω 6 y el 20:5 ω 3. El ácido graso 22:6 ω 3, se registró en mayor proporción en *Isochrysis* sp. y *Pavlova lutheri*.

El elevado contenido de ácidos grasos como el 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 en la mezcla de *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* dieron como resultado un mayor incremento en la tasa de crecimiento de la almeja mano de león *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus*.

Literatura citada

- Albentosa, M., U. Labarta, A. Pérez-Camacho, M.J. Fernández-Reriz y R. Beiras. 1994. Fatty acid composition of *Venerupis pullastra* spat fed on different microalgae diets. *Comp. Biochem. Physiol.* 108^a(4):639-648.
- Albentosa, M., A. Pérez, U. Labarta, M.J. Fernández. 1996. Evaluation of live microalgal diets for the seed culture of *Ruditapes decussatus* using physiological and biochemical parameters. *Aquaculture*, 148:11-23.
- Araya, P., A. Pozo, M. Avendaño y R. Escribano. 1993. Dinámica de alimentación de individuos *Argopecten purpuratus* L. en condiciones de laboratorio. *Rev. Biol. Mar.* 28(2):313-329.
- Bajpai, P. y P.K. Bajpai. 1993. Ecosapentaenoic acid (EPA) production from microorganism: a review. *J. Biotechnol.*, 30 (2):161-183.
- Baqueiro, E., I. Peña y J.A. Massó. 1981. Análisis de una población sobreexplotada de *Argopecten circularis* (Swerwby, 1835) en la Esenada de la Paz, B.C.S., Méx. *Ciencia Pesquera Inst. Nal. Pesca, Méx.*, 1 (2):57-65.
- Baqueiro, E., J.A. Massó y H. Guajardo. 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur. *Serie divulgación Inst. Nal. Pesca, Sria. de Pesca*, 11:32 pp.
- Benemann, J.R. 1992. Microalgae acuaculture feeds. *Journal of Applied Phycology* 4:233-245.
- Bernard, F.R. 1988. Catalogue of the living bivalvia of the Eastern Pacific Ocean: Bering Strait to Cape Hom. *The Festivus*, 20(6):46 pp.
- Bligh, E.G. y W.J. Dayer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Bonotto, S. 1988. Food and Chemicals from microalgae. *Progr. Oceanogr.* 21:207-215.
- Borowitzka, L.J. 1988. Development of western biotechnology's algal β -carotene plant. *bioresource technology*, 38:251-252.
- Borowitzka, L.J. 1997. Microalgae for aquaculture: Opportunities and constraints. *Journal of Applied Phycology* 9:393-401.
- Bourne, N., A. Hudgson y J. Whyte. (1989). *A Manual for Scallop Culture in British Columbia*. Canadian Technical report of Fisheries and Aquatic Sciences, 167 pp.

- Bricelij, V.M. y S. Shumway. (1991). Physiology: energy acquisition and utilization. In Shumway SE (ed) Developments in aquaculture and fisheries science, Biology Ecology and Aquaculture. Elsevier, Amsterdam, 21:305-346.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey y C.D. Garland. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture; a Literature review. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Marine Laboratories, Report. 205.
- Brown, M.R., C.D. Garland, S.W. Jeffrey, I.D. Jameson y J.M. Leroi. 1993. The gross and amino acid composition of batch and semi-continuous culture of *Isochrysis* sp. (Clone T.Iso), *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. Journal of Applied Phycology 5:285-296.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman y G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture, 151:315-331.
- Brown, M.R., M.A. McCausland y K. Kowalski. 1998. The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat. Aquaculture, 165:281-293.
- Cáceres, M.C., J.V. Chavez y D.H.F. Ramirez. 1993. Cultivo de almeja catarina en México. En: Serrano Guzmán, S. (ed.) Primer Encuentro Regional para el Cultivo Comercial de la Almeja Catarina (*Argopecten circularis*). Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora, Hermosillo, Son. México.
- Caers, M., P. Coutteau, P. Lombeida y P. Sorgeloos. 1998. Effect of lipid supplementation on growth fatty acid composition of *Tapes philippinarum*. Aquaculture 162:287-299.
- Caers, M., P. Coutteau y P. Sorgeloos. 1999. Dietary impact of algal and artificial diets, fed at different feeding rations on the growth and fatty acid composition of *Tapes philippinarum* (L) spat. Aquaculture 170:307-322.
- Cary, S.C., D.L. Leighton y C.F. Phleger. 1981. Food and feeding strategies in culture of larval early juvenile purplehige rock scallops. *Hinnites multirugosus* (Gale). J. World Maricul. Soc. 12 (1): 156-169.
- Castagna, M. 1975. Culture of the bay scallop, *Argopecten irradians*, in Virginia. Mar. Fisheries Rev. 37 (1):19-24.
- Castagna, M. y J.N. Krauter. 1981. Manual for growing the hard clam *Mercenaria*. special Report in Applied Marine Science and Ocean Engineering, 249:110 pp.

- Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID). 1988. Producción de larvas y juveniles de Especies Marinas. Taller Internacional. Organizado por la Universidad del norte. Sede coquimbo. Patrocinio CIID, Canadá. 118 pp.
- Chávez, V.J. y M. Cáceres. 1992. Scallop culture in the northwest of México. *World Aquaculture*. 23 (4):20-26.
- Chavira, O.C.O. 2000. Evaluación del sistema de producción de microalgas de un laboratorio comercial. Tesis. Univ. Aut. de Sin.
- Cole, B.E., J.K. Thompson y J.E. Cloern. 1992. Measurement of filtration rates by infaunal bivalves in a recirculating flume. *Marine Biology* 113:219-225.
- Cordero, B.E., D. Voltolina-Lobina y F. Correa. 1993. The biochemical composition of two diatoms after different preservation techniques. *Comp. Biochem. Physiol.* 105B(2):369-373.
- Cordero, E.B. 1994. Evaluación de diferentes métodos de preservación de dietas de microalgas y su efecto sobre el crecimiento de *Mytilus galloprovincialis*. Tesis. C.I.C.E.S.E.
- Cordero, B. y D. Voltolina. 1994. Growth of *Mytilus galloprovincialis* fed with four microalgae and two feeding regimes. *Journal of World Aquaculture society*. 25 (3):471-474.
- Coutteau, P., K. Curé y P. Sorgeloos. 1994. Effect of algal ration on feeding and growth of juvenile manila clam *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve). *Journal of Shellfish Research*, 13 (1):47-55.
- Dalaunay, F., Y. Marty, J. Moal y J.F. Samain. 1993. Effect of monoespecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L) larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 173:163-179.
- De Pauw, N. y G. Persoone. 1988. Micro-algae for aquaculture. 197-221. En: Borowitzka, M.A. y L.J. Borowitzka, (eds.): *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, New York.
- De Pauw, N., J. Morales y G. Persoone. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: Progress and constraints.
- D'Souza, F.M.L. y N.R. Loneragan. 1999. Effect of monoespecific and mixed-algae diets on survival, development and fatty acid composition of *Penaeid* prawn (*Penaeus* spp.) larvae. *Marine Biology* 133:621-633.

- Díaz, M.A. y G. Martínez. 1992. Efecto de diferentes dietas sobre el balance energético en juveniles de *Argopecten purpuratus* L. Rev. Biol. Mar. 27(2):163-173.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Analytical Chemistry, 28:350-356.
- Dunstan, G.A., J.K. Volkman, S.W. Jeffrey y S.M. Barrett. 1992. Biochemical composition of microalgae from the green algal classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. 2. Lipid classes and fatty acid. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 16:115-134.
- Dunstan, G.A., J.K. Volkman, S.M. Barrett y D.C. Garland. 1993. Changes in the lipid composition and maximisation of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. Journal of Applied Phycology 5:71-83.
- Fábregas, J., J. Abalde, C. Herrero, B.C. Abezas y M. Veija. 1984. Growth of the marine microalgal *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities. Aquaculture, 42:207-215.
- Felix, E.F. 1993. Estudio biológico de la almeja catarina, *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en Bahía Magdalena B.C.S., Méx. Tesis M.C., Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 43 pp.
- Fidalgo, J.P., A. Cid, I. López-Muñoz, J. Abalde y C. Herrero. 1994. Growth and biochemical profile of juvenile mussels (*Mytilus galloprovincialis*) fed on different algal diets. Journal of Shellfish Research 13(1):67-75.
- Fidalgo, J.P., A. Cid, E. Torres, A. Sukenik y C. Herrero. 1998. Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*. Aquaculture 166:105-116.
- Flores, V.C. 1998. Crecimiento y composición bioquímica de microalgas bentónicas cultivadas bajo diferentes condiciones de temperatura e intensidad de luz. Tesis. C.I.C.E.S.E.
- García, F., P. Castro y E.F. Felix. 1992. Spat settlement and early growth of *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1835) in Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México, 1989-1990. J. Shellfish Res. 11 (1):195.
- González, M.S. 1991. Determinación de la tasa de dilución óptima y de contenido proteico de tres especies de microalgas cultivadas en un sistema semicontinuo. Tesis. C.I.C.E.S.E.
- Griffiths, R.J. 1980. Filtration, respiration and assimilation in the black mussel *Choromytilus meridionalis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 3:63-70.

- Guillard, R.L. y J.H. Rhyter. 1962. Studies on marine planctonic diatoms I.- *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve) Grand. Can. J. Micro. 8:229-239.
- Hatate, H., M. Ohgai, N. Murase, N. Miyake y N. Suzuki. 1998. Accumulation of fatty acid in *Chaetoceros gracilis* (Bacillariophyceae) during stationary growth phase. Fisheries Science 64(4):578-581.
- Herrero, C. y A. Cid. 1991. Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media. Aquacultural Engineering 10:99-110
- Hughes, R.N. 1969. A study of feeding in *Scrobicularia plana*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 49:805-823.
- Ian, L. 2000. Effect of temperature and ration on growth and condition of King Scallop (*Pecten maximus*) spat. Aquaculture 183:325-334.
- Keen, A.M. 1971. Sea shells of tropical West American. Marine mollusks from Baja California to Perú. Stanford University Press. Stanford.
- Kinsella, J.E. 1990. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. Am. J. Clin. Nutr., 52(1):1-28.
- Langdon, C.J. y M.J. Waldock. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* Spat. J. Mar. Biol.Assoc. U.K. 61:431-448.
- Lango, J.A.A. 1999. Análisis de costos para la producción másiva de microalgas en un laboratorio comercial de poslarvas de camarón del sur de Sonora, México. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. 72 pp.
- Lowry, H.O., N.J. Rosebrough, A. Lewis Farr y R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Biological Chemistry, 193:265-275.
- Lu, Y.T. y N.J. Blake. 1997. Clearance and ingestion rates of *Isochrysis galbana* by larval and juvenile bay Scallops *Argopecten Irradians concentricus* (Say). Journal of Shellfish Research 16(1):47-54.
- Martínez, G., Cristián A. y L. Mettifogo. 2000. Interactive effects of diets and temperature on reproductive conditioning of *Argopecten purpuratus* broodstock. Aquaculture 183:149-159.
- Meei Su H., Mao Sen Su y I Chiu Liao. 1997. Collection and culture of live foods for aquaculture in Taiwan. Hidrobiologia 358:37-40.

- Mohlenberg, F. Y H.U. Riisgard. 1979. Filtration rate, using a new indirect technique in thirteen species of suspensión- feeding bivalves. *Marine Biology* 54:143-147.
- Mottet, M.G. 1979. A review of the fishery biology of scallop. Washington Dep. Fish. Prog. Tech. Rep. 39:292 pp.
- Mottet, M.G. 1980. Research problems concerning the culture of clam spat and seed. State of Washington, Department of Fisheries Technical Report, 63:105 pp.
- Napolitano, G.E., R.G. Ackman y W.M.N. Ratnayake. 1990. Fatty acid composition of three cultured algae species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as food for bivalve larvae. *Journal of World Aquaculture Society*, vol.21, No 2, 122-130.
- Navarro, J.M. y J.E. Winter. 1982. Ingestion rate, assimilation efficiency and energy balance in *Mytilus edulis* in relation to body size and different algal concentrations. *Mar. Biol.* 67:255-266.
- Nikos, L. y I.A.N. Lucas. 2000. The nutritional value of algae growth under different culture conditions for *Mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture* 182:301-315.
- Nikos, L. y I.A.N. Lucas. 2000. The use of larval fatty acid as an index of growth in *Mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture* 184:155-166.
- Pande, S.V., R. Parvin Khan y T.A. Venkitasubramanian. 1963. Microdetermination of lipid and serum total fatty acid. *Analyt. Biochem.*, 6:415-423.
- Paniagua, M.J., L.F. Buckle, C.M. Granados y D.H. Loya. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. Segunda edición, revisada y modificada por Voltolina, D.; Buckle, L.F. y Morales, E.R. Acuicultura, CICESE. 66 p.
- Parsons, G.J. y M.J. Dadswell. (1992). Effect of stocking density on growth, production and survival of the giant scallops, *Placopecten magellanicus*, held in intermediate suspension culture in Passamaquoddy Bay, New Brunswick. *Aquaculture*, 103:291-309.
- Peakes, Laboratory, B. Waterside, Essex y England. 1969. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Mar. Biol.* 2:356-358.
- Persoone, G. y C. Claus. 1980. Mass culture of algae: A bottleneck in nursery culturing of molluscs. En: Shelef, G. y C.J. Soeder (eds). *Algae Biomass*. Elsevier/North Holland Biomedical Press., Amsterdam.

- Pouvreau, S., J. Tiapari, A. Ganghery, F. Lagarde, M. Garnier, H. Teissier, G. Haumani, D. Buestel y A. Bodoy. 1994. Growth of the black lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*, in suspended culture under hydrobiological condition of Takapoto Lagoon (French polynesia). *Aquaculture* 184:133-154.
- Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo y Y. Olsen. 1994. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae. *J. Phycol.* 30:972-979.
- Renaud, S.M., L.V. Thinh y D. L. Parry. 1999. The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. *Aquaculture* 170: 147-159.
- Rangel, D.C. 1990. El cultivo de moluscos marinos en México. 107-138. En: De la Lanza-Espino, G y J.L. Arredondo-Figueroa (eds.): *La acuicultura en México: de los conceptos a la producción*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Reyes, C.F. 1986. Preliminary results on spat collection and grown of the catarina scallop, *Argopecten circularis*, in Bacochibampo Bay, Guaymas, Sonora, México. En: Williams, F. (Ed.) *Proc. XXXVII Ann. Rep. Gulf Carib. Fish. Inst.* 37: 201-208.
- Reyes S.C. 1990. El cultivo de pectínidos en México. Serie Científica, U.A.B.C.S., México, 1 (No. Esp. 1 AMAC): 25-29.
- Riisgard, H.U. y A. Randlov. 1981. Energy budget, growth and filtration rates in *Mytilus edulis* at different algal concentrations. *Marine Biology* 61:227-234.
- Riisgard, H.U. 1991. Filtration rate and growth in the blue mussel, *Mytilus edulis* Linneaus, 1758: Dependence on algal concentration. *Journal of Shellfish Research* 10(1):29-35.
- Robles, M. y S. Serrano. 1995. Larval growth, survival and spat production of *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) in a Mexican commercial hatchery. *Rivista Italiana Acquacoltura*. 30:187-193.
- Rodríguez, R.B.B. 2000. Evaluación de las técnicas de producción de microalgas en el laboratorio comercial Generación Cincuenta, S.A. de C.V. Tesis. Uni. Aut. de Sin.
- Roessler, P.G. 1990. Environment control of glycerolipid metabolisms in microalgae, comercial implications and future research directions. *J. Phycol.*, 26:393-399.
- Ruiz, C.A. y C. Cáceres. 1991. Experimental spat collection of scallops *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) and *Pecten Vogdesi* (Arnold, 1906) on a filament substrate in Falsa Bay, B.C.S. México. En: Shumway, S.E. y P.A. Sandifer (Eds.) *World Aquaculture Workshops*, 1:21-26 p.

- Senz, L.M.G. 2000. Producción de microalgas del laboratorio de cultivo de camarón No. 2 de Maricultura del Pacífico. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. 48 pp.
- Sanina, L. V. 1976. Rate and intensity of filtration in some caspian sea bivalve mollusk. *Oceanology (U.S.S.R.)* 15:496-498.
- Sato, N. y N. Murata. 1988. Membrane lipids. *Methods and Enzimology*. 167:251-259.
- Servel, M.O., C. Claire, A. Derrien, L. Coiffard y Y. De Roeck-Holtzhauer. 1994. Fatty acid composition of some marine microalgae. *Phytochemistry* 36(3):691-693.
- Shelef, G. y C.J. Soeder (eds). 1980. Algal biomass. Production and use. Elsevier-North Holland Biomedical Press. Amsterdam. 852 p.
- Schulte, E.G. 1975. Influence of algal concentration and temperature on the filtration rate of *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 30:331-341.
- Schurink, C.V.E. y C.L. Griffiths. 1992. Physiological energetics of four south african mussel species in relation to body size, ration and temperature. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A (4):779-789.
- Soeder, C. 1981. Chemical composition of microbial biomass as compared to some other types of single cell protein (SCP). 73-85. In. J. Grobbelaar, C. Soeder y D. Toerien (Eds.) *Wastewater for aquaculture*. U.O.F.S., Bloemfontein, Publication Series 3.
- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. 321-343. En: Stein, J.R. (ed.): *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurement*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sprung, M. y U. Rose. 1988. Influence of food size and quantity on the feeding of the mussel *Dreissena polymorpha*. *Oecologia* 77:526-532.
- Sukenik, A. y R. Wahnon. 1990. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition, *Isochrysis galbana*. *Aquaculture*, 97:61-72.
- Sukenik, A., H. Takahashi y S. Makady. 1994. Dietary lipids from marine unicellular algae enhance the amount of liver and blood omega-3 fatty acids in rats. *Ann. Nutr. Metab.*, 38:85-96.
- Sorgeloos, P. y P. Léger. 1992. Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn. *J. World Aquac. Soc.* 23:251-264.

- Thomas, W.H., D.L.R. Siebert, M. Alden, A. Neori y P. Eldridge. 1984. Yields Photosynthetic efficiencies and proximate composition of dense marine microalgae culture. I. Introduction and *Phaeodactylum tricornutum* experiments. *Biomass*, 5:181-209.
- 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.
- Trujillo-Valle, Ma.L. y D. Voltolina. 1994. Cultivos de microalgas para la acuicultura. Serie Científica, U.A.B.C.S. 2(1).
- Ulrik, H. 1991. Filtration rate and growth in the blue mussel, *Mytilus edulis* L., 1758: Dependence on algal concentration. *Journal of Shellfish Research*, 10:29-35.
- Urban, E.R.Jr., G.D. Pruder y C.J. Langdon. 1983. Effect of ration on growth and growth efficiency of juveniles of *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Journal Shellfish Res.* 3 (1):51-57.
- Velasco, G.B. 1997. Cultivo larvario a nivel piloto del callo de hacha *Atrina maura* Sowerby y de la almeja mano de león *Lyropecten subnodosus* Sowerby con dos especies de microalgas. Tesis. C.I.C.E.S.E. pp 59.
- Viso, A.C. y J.C. Marty. 1993. Fatty acid 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. Dunstan, S.M. Barrett, P.D. Nichols y S.W. Jeffrey. 1992. Essential polyunsaturated fatty acid of microalgae used as feedstocks in aquaculture. In: G.L. Allan and W. Dall (Eds), Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, 15-17 April 1991. NSW Fisheries, Brackish Water Fish Culture Research Station, Salamander Bay, Australia, pp. 180-186.
- Webb, K.L. y F.L. Chu. 1982. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In G.D. Pruder, C. Langdon y D. Conklin (Eds.), Biochemical and physiological Approaches to Shellfish Nutrition. Wld. Mari. Soc. Spec. Publ. 2, Baton Rouse, Louisiana. 272-291.
- Whyte, J.N.C. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 68:231-241.
- Wikfors, G.G., J.W. Twarong y R. Ukeles. 1984. Influence of chemical composition of algal food sources on growth of juvenile oyster, *Crassostrea virginica*. *Biol. Bull.* 167(1):251-263.
- Wikfors, G. 1986. Alterin growth and gross chemical composition of two microalgal molluscan food species by varying nitrate and phosphate. *Aquaculture*, 59:1-14.
- Winter, J.E. 1973. The filtration rate of *Mytilus edulis* and its dependence on algal concentration, measured by a continuous automatic recording apparatus. *Mar. Biol.* 22:317-328.
- Yantian, T. Lu. Y N.J. Blake. 1996. Optimum concentration of *Isochrysis galbana* for growth of larvae and juvenile bay Scallops *Argopecten irradians concentricus* (Say). *Journal of Shellfish Research* 15(3):635-643.
- Yongmanitchai, W. y O.P.Ward. 1991. Growth and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornerutum* under different culture conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(2):419-425.
- Zhukova, N.V. y N.A. Aizdaicher. 1995. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. *Phytochemistry*, 39(2):351-356.

