Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela. Univ. Oriente, 28 (1 & 2). 197 - 201 (1989); 3 tabs., 1 fig.

EVALUACION DE TRES MEDIOS NUTRITIVOS EMPLEADOS EN EL CULTIVO MASIVO DE ISOCHRYSIS AFF. GALBANA GREEN.

ESPERANZA BUITRAGO, CRISTINA NORCINI & MARLENE ARRAGE.

Estación de Investigaciones Marinas de Margarita. Edimar. Fundación La Salle de Ciencias Naturales, Apartado 144, Porlamar, 6301 A, Isla de Margarita, Venezuela.

RESUMEN: Para la producción de larvas de camarones y mejillones, es de vital importancia contar con el suministro continuo de fitoplancton. El costo de dichas larvas está en función directa del costo de los cultivos de microalgas. Es necesario por lo tanto, evaluar medios nutritivos económicos, que permitan un alto rendimiento de los cultivos. Se evaluó el cultivo masivo bajo condiciones semicontroladas de *Isochrysis aff. galbana* Green, conocida como *Isochrysis* variedad "tahitiana", utilizando dos medios orgánicos que aprovechan recursos naturales abundantes en la región, extractos de pescado y macroalgas, comparándolos con fertilizantes de uso agrícola. Los cultivos se realizaron en tanques de 300 l con agua de mar a 30‰ filtrada y esterilizada con luz ultravioneta, la salinidad se ajustó diariamente, la temperatura se mantuvo en 25° C, la iluminación fue luz solar indirecta. Se realizaron mediciones de temperatura, salinidad y pH, densidad celular y volumen celular de los cultivos. Se realizó un análisis estadístico donde se compararon las fases estacionarias y logarítmicas de las curvas obtenidas con los diferentes medios evaluados. No se encontró diferencia significativa entre las fases estacionarias de las curvas, las densidades máximas fueron de 3.09 +- 0.37 *10^6 cel/ml en 4.1 días para el extracto de algas: 3.06 +- 1.12 *10^6 cel/ml para el extracto de pescado en 6.1 días y de 2.86 +- 0.22 *10^6 cel/ml para el fertilizante agrícola, en un tiempo de 8.1. días. Existe diferencia significativa entre las fases logarítmicas obtenidas encontrándose velocidades de crecimiento de 1.4 div/día para el extracto de algas, 1.0 div/día para el extracto de pescado y 0.6 div/día para los fertilizantes agrícolas. Los resultados indican que los extractos de algas y de pescado son aprovechados eficientemente por el fitoplancton, pudiendo así reducir los costos de su cultivo y por lo tanto los costos de los organismos cultivados.

ABSTRACT: In order to produce shrimp and mussel larvae, it is very important to have a continuos availability of phytoplankton. The cost of the larvae produced is in direct relation to the cost of the microalgae cultures. So, it is necessary to evaluate cheap nutrient media which produce a high rentability in the microalgae cultures. Mass culture under semi-controlled conditions, of *Isochrysis aff. galbana* Green, commonly referred to as "Tahitian" *Isochrysis* were carried out with organic media based in natural resources abundant in the region. One was based in fish extract and the other in macroalgae extract, and were compared with agricultural fertilizer. The culture were done in 300 l tanks with 30‰ sea water, filtered and sterilized with U.V. light. Salinity was adjusted daily, temperature was 25 °C. The tanks were kept under indirect solar light. Temperature, salinity, ph, cell density and cell volumen were measured daily. Significant difference was not found between the stationary phases. Maximum cellular densities were: $3.09 \pm 0.37 \times 10^6$ cell/ml, in 4.1 days for the algal medium; $3.06 \pm 1.12 \times 10^6$ cell/ml. in 6.1 days for the fish medium and $2.86 \pm 0.22 \times 10^6$ cell/ml for the agricultural fertilizer. A significant difference was found between the logaritmic phases Growth rates of 1.4 div/day for the algae, 1,0 div/day for the fish and 0.6 div/day for the agricultural fertilizer were found. Results showed that the algae and fish fertilizers are used efficiently by the phytoplankton, reducing the costs in the cultures and hence, the cost of the final product.

Contribución Nº 181. Edimar

INTRODUCCION

El fitoplancton continúa siendo el principal alimento en los cultivos artificiales de organismos filtradores, a pesar de los intentos que se han hecho por establecer dietas artificiales (microencapsulados) (HOLLOWAY & HOPKINS, 1987).

Para la producción de larvas de mejillones y camarones es de vital importancia contar con el suministro contínuo de fitoplancton. El costo de dichas larvas está en función directa del costo de los cultivos de microalgas.

El cultivo masivo de fitoplancton tiene un precio elevado debido principalmente a los nutrientes químicos que son utilizados para enriquecer el agua de los cultivos. Es necesario por lo tanto evaluar medios nutritivos más económicos y que permitan un alto rendimiento de los cultivos.

Son muchos los medios nutritivos que se han probado en cultivo masivo de microalgas, éstos van desde medios químicos como el de WALNE (WALNE, 1966), utilizado en cultivos de 200 l en Conwy, Inglaterra (LAING & HELM, 1981), hasta el uso de harina de pescado y girasol, levadura de cerveza, nitrato de amonio y superfosfato triple utilizados por DE LA CRUZ & ALFONZO (1975), en tanques de 100 l en La Habana, Cuba, más recientemente allí mismo evalúan el uso de harina de lombris de tierra y gallinaza en volúmenes de 1 litro (ALFONSO & MARTINEZ, 1987), o la utilización de excretas de vaca y extractos de macrofitas marinas en México en cultivos experimentales de un litro (PANIAGUA-MICHEL, *et al*, 1987).

En este trabajo se evaluó el cultivo masivo en volúmenes de 300 l del fitoplancton marino, *Isochrysis aff galbana* Green, conocida como variedad "tahitiana", utilizando dos medios orgánicos que aprovechan recursos naturales abundantes en la región, como son los extractos elaborados a partir de pescado y de macroalgas, comparándolos con fertilizantes de uso agrícola.

Los resultados indican que los extractos de algas y de pescado son aprovechados eficientemente por el fitoplancton, presentando el extracto de algas el menor costo, lo cual se traduce también en un menor costo de las larvas de mejillones y camarones producidas.

MATERIALES Y METODOS

El cultivo masivo se llevó a cabo en 9 tanques rectangulares de polietileno de 360 l de capacidad, situados en un cobertizo techado que cuenta con sistema de aireación, agua dulce y salada. El agua se mezcló a una salinidad de 30‰, se almacenó en un tanque de 2000 l y se esterilizó mediante una batería de filtros de 10 y 5 um y 4 lámparas ultravioleta, antes de su utilización.

El inóculo se obtuvo a partir de cultivos en botellones de 15 l que se encontraban en fase logarítmica, estos botellones se mantuvieron bajo condiciones de luz, temperatura y aireación constante, el medio que se utilizó fue el de WALNE (1966).

La densidad de siembra de los tanques fue de 200.000 cel/ml. Se evaluaron tres medios nutritivos con tres réplicas cada uno.

La Tabla 1 presenta los medios y concentraciones evaluados. La concentración y proporción de la mezcla de macroalgas se basó en una prueba preliminar en la que se determinó la concentración óptima de extracto en base al porcentaje de sólidos totales de cada tipo de extracto (NORCINI, no publicado).

Las algas se obtuvieron a partir de arribazones en diferentes playas de la Isla de Margarita (Venezuela_ (Tabla 2), fueron almacenadas en bolsas plásticas, lavadas con abundante agua corriente y cortadas en pequeños pedazos. Los extractos se obtuvieron mediante cocción de las algas durante 1 hora seguido de maceración en frío por 48 h según el método descrito por CHALLEN & HEMIGWAY (1966), posteriormente se filtraron y se esterilizaron en el autoclave durante 20 min a 121 °C y 1.1 Kg/cm^2 de presión. En el momento de realizar la fertilización de los tanques se agregó un volumen de extracto necesario para obtener el porcentaje de sólidos totales estipulado en la Tabla 1.

El extracto de pescado se obtuvo por fermentación durante 8 días en agua de mar, según lo descrito por NASCIMIENTO *et al*, (1988), se tamizó y esterilizó en el autoclave. Se utilizó una proporción de 300 ml por cada 100 l de agua para la fertilización de los tanques.

Para la selección de las proporciones de los fertilizantes agrícolas se consideraron los resultados obtenidos por YAMASHITA & DA SILVA (1984), modificando la concentración de úrea según resultados obtenidos previamente en el laboratorio (ARMAS, 1987).

Se realizaron mediciones diarias de temperatura y pH, la salinidad se ajustó diariamente a 30‰. La iluminación fue luz solar indirecta.

Para determinar el crecimiento se realizaron recuentos celulares cada dos días utilizando un hematocitóme-

tro. Para el cálculo del volumen celular se midió con un ocular micrométrico un número significativo de células de cada tratamiento y se asumió esfericidad en las células.

Se realizó un análisis estadístico donde se comparan las fases estacionarias y logarítmicas de las curvas obtenidas con los diferentes medios evaluados.

RESULTADOS Y DISCUSION

El fitoflagelado tropical *Isochrysis aff. galbana* conocido como variedad "*tahitiana*" es una de las microalgas más utilizadas en alimentación de larvas de bivalvos y camarones dada su ventajosa característica de tolerar altas temperaturas en cultivo (HELM & LAING, 1987). Su cultivo masivo en el exterior y el estudio de la respuesta a diferentes medios nutritivos nos permiten conocer las condiciones para una máxima producción así como para predecir su crecimiento, lo que hace que sea mejor aprovechado su uso en la acuicultura.

Durante todo el ensayo la temperatura de los cultivos se mantuvo en 25 ± 0.5 °C, el pH permaneció dentro del rango óptimo (KAIN & FOGG, 1958), oscilando entre 7.6 y 7.9 para el extracto de algas, 8.0 y 8.2 para el extracto de pescado y 8.0 y 8.5 para el fertilizante agrícola.

El crecimiento de *I. aff. galbana* con los medios evaluados está representado en la Fig. 1. Después de una fase de latencia de dos días, las células entraron en crecimiento exponencial, siendo la duración de esta fase entre 4 y 8 días. Los cultivos con extracto de algas y pescado alcanzaron la densidad máxima antes que los de fertilizante agrícola, siendo este último el que presentó una fase exponencial más larga. No se encontró diferencia significativa (F=0.19) (Tabla 3) entre las fases estacionarias de las curvas, pero si se observa gran diferencia en el tiempo en el que se alcanzó esta fase. Las densidades máximas fueron de 3.09 x 10^6 cel/ml en 4.1 días para el extracto de algas, de 3.06 x 10^6 cel/ml en 6.1 días para el extra-

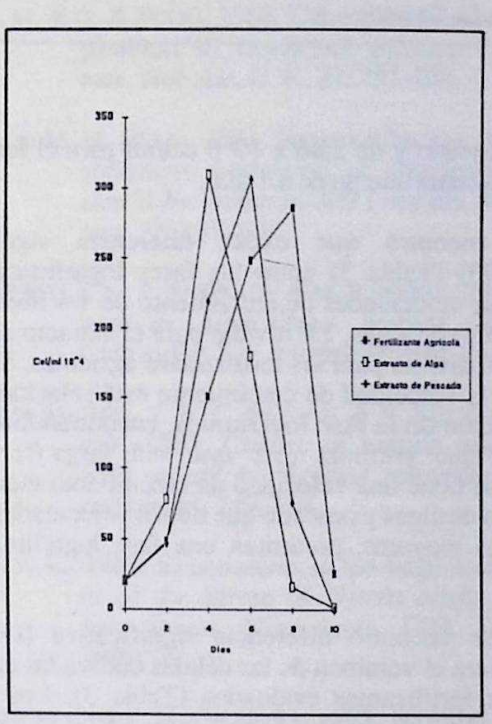


Fig. 1.- Crecimiento de *Isochrysis aff. galbana* en los medios evaluados.

TABLA 1: COMPOSICION Y CONCENTRACION DE LOS MEDIOS EVALUADOS

MEDIO NUTRITIVO	COMPOSICION	CONCENTRACION	% DE SOLIDOS TOTALES
Extracto de algas	*Grateloupia* sp.	459 mg/l	
	Ulva fasciata	459 mg/l	* 50
	Sargassum sp.	229 mg/l	* 30
			* 20
Etracto de pescado	1 Kg de lamparosa (Vomer setapinning)	300 ml/100 l	
Fertilizantes Agrícolas	Sulfato de Amonio	130 mg/l	
	Urea	75 mg/l	
	Superfosfato triple	25 mg/l	

TABLA 2: LOCALIDAD Y TIPO DE ALGAS COLECTADAS

LOCALIDAD	ALGAS COLECTADAS
Playa Oasis	*Ulva fasciata*
Playa El Tirano	*Sargassum* sp.
Playa Caribe	
Playa Parguito	*Grateloupia* sp.
Malecon La Guardia	

to de pescado y de 2.86 x 10^6 cel/ml para el fertilizante agrícola en un tiempo de 8.1 días.

Se encontró que existe diferencia significativa (F=37.93) (Tabla 3) entre las fases logarítmicas obteniéndose velocidades de crecimiento de 1.4 div/día para el extracto de algas, 1.0 div/día para el extracto de pescado y 0.6 div/día para los fertilizantes agrícolas. Se observa que la velocidad de crecimiento está relacionada con la duración de la fase logarítmica, encontrándose que el cultivo que presenta esta fase más larga (fertilizante agrícola) tiene una velocidad de crecimiento menor, y el extracto de algas y pescado que tienen velocidades de crecimiento mayores, presentan una fase logarítmica más corta.

No se encontró diferencia significativa (F=0.17 y 0.20) entre el volumen de las células cultivadas en los diferentes fertilizantes evaluados (Tabla 3). Los valores medios obtenidos se encuentran entre 50.7 y 51.2 um3 para la fase estacionaria y entre 47.8 y 50.0 um3 para la fase logarítmica. Tampoco existe diferencia significativa en el volumen entre la fase estacionaria logarítmica para los diferentes tratamientos. ALFONSO & MARTINEZ (1987), afirman que el volumen celular de las microalgas está en dependencia de los componentes del medio cultivo, esto ha sido confirmado con varias especies, FABREGAS *et al* (1985), trabajando con *Tetraselmis suecica* encontró que el volumen guarda una relación estrecha con la concentración de los nutrientes, sin embargo encuentra que el volumen celular de *I. galbana* no es afectado por la concentración de nutrientes (FABREGAS *et al*, 1986), siendo difícil la generalización de esta relación.

No se encontró correlación entre la densidad celular y el volumen de las células en los diferentes tratamientos observándose que diferentes densidades presentan igual volumen celular.

Los resultados indican que los extractos de algas y de pescado son aprovechados eficientemente por *I. aff. galbana* sin presentar una diferencia importante con los fertilizantes agrícola, del análisis de costos de los medios nutritivos evaluados se encontró que el medio más económico es el de extracto de algas con un valor de Bs. 0.30 para los 900 l empleados, los fertilizantes agrícolas tienen un costo de Bs. 3.05 para el mismo volumen empleado y por último, el extracto de pescado tuvo el mayor costo, Bs. 27.15, debido a que el pescado que se utilizó en este trabajo es una especie comercial, sin embargo, este precio puede ser reducido si se utiliza cualquier otra especie de bajo contenido graso sin valor en el mercado o desechos sin utilidad. Por otra parte, hay que tener en cuenta que el bajo costo de los fertilizantes agrícolas es debido a que en Venezuela se encuentran por el momento subsidiados, pero es bien sabido que los fertilizantes nitrogenados tienen un alto costo de producción el cual se debe a su vez a la escasez y alto costo de la fuente de energía de combustibles fósiles.

TABLA 3: ANALISIS ESTADISTICO (ANOVA) DE LAS CURVAS DE CRECIMIENTO DE ISOCHRYSIS AFF. GALBANA EN CULTIVO MASIVO CON LOS DIFERENTES FERTILIZANTES EVALUADOS.

	Fase del Crecimiento	P	Extracto de Algas		Extracto de Pescado		Fertilizantes agrícolas
Cel/mlx10^6	Estacionaria	0.001	3.09 +- 0.37	=	3.06 + - 1.12	=	2.86 +-0.22
Intervalo (días)			4.1 - 2.2		6.1 - 2.2		8.1 - 2.2
K (div/d[ia)	Logarítmica	0.001	1.4 +- 0.2	>	1.0 +- 0.2	>	0.6 +- 0.1
Volumen (μm^3)	Estacionaria	0.001	51.2 +- 8.1	=	50.8 +-8.9	=	50.7 +- 8.8
Volumen (μm^3)	Logarítmica	0.001	47.8 +-10.1	=	48.5 +- 9.9	=	50.0 +- 10.5

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los Drs. MARTIN LLANO, RAMON VARELA y JOAQUIN BUITRAGO por sus valiosas críticas y sugerencias, así como por la lectura del primer manuscrito. Esta investigación fue financiada parcialmente por el proyecto: "Desarrollo de Sistemas Masivos de Producción de Post-larvas y Semillas de Especies Acuáticas" de la Organización de los Estados Americanos.

REFERENCIAS

ALFONSO, E & L. MARTINEZ, 1987. Comparación del volumen celular y del crecimiento de *Tetraselmis* spp. con diferentes fertilizantes. *Rev. Invest. Mar.* 8(3): 13-22.

ARMAS, R, 1987. Evaluación de tres medios nutritivos para la obtención de cultivo masivo de *Tetraselmis chui*. Trabajo especial para optar al título de Técnico Superior en Acuicultura. *IUTEMAR. Fundación La Salle*. 46 pp.

CHALLEN, S & J. HEMINGWAY, 1966. Growth of higher plants in response to feeding with seaweed extract. In: Young, E. & G. Maclachland (eds.) *Proc. Intl. Seaweed Symp.* 5: 359-367.

DE LA CRUZ, A. & E. ALFONZO, 1975. Cultivo Masivo de algas planctónicas marinas mediante fertilización. *Invest. Mar.* 8(17): 1-25.

FABREGAS, J., C. HERRERO, B. CABEZAS & J. ABALDE. 1986. Mass culture and biochemical variability of the marine microalga *Tetraselmis suecica* Kylin (Butch) with high nutrient concentrations. *Aquaculture*, 49: 231-244.

FABREGAS, J., C. HERRERO, B. CABEZAS & J. ABALDE. 1986. Biomass production and biochemical composition in mass cultures of the marine microalga *Isochrysis galbana* Parke at varying nutrient concentrations. *Aquaculture*, 53: 101-113.

HELM, M. M., & I. LAING, 1987. Preliminary Observations on the Nutritional value of "Tahiti *Isochrysis*" to bivalve larvae. *Aquaculture*, 62: 281-288.

HERRERO, M. C. 1985. *Las microalgas como una nueva fuente de proteína, vitaminas y minerales. Universidad Santiago de Compostela, España. Tesis Doctoral*, 367 pp.

HOLLOWAY, J. D. & J. S. JOPKINGS. 1987. Comparison of live and inert diets for larval shrimp. *Aquaculture Digest*. 9: 7-10.

KAIN, J. M. & G. E. FOGG. 1958. Growth of Marine Phytoplancton II. *Isochrysis galbana* Parke. *J. mar. biol. Ass.* U. K. 37: 781-788.

LAING, I & M. M. HELM. 1981. Factors affecting the semicontinuos production of *Tetraselmis suecica* Kilin Buthc in 200 l vessels. *Aquaculture*. 22: 137-148.

NASCIMENTO, I. A., S. ANDRADE & M. B. NEIVA. 1988. *Manual de Algacultura. Salinas Camaroes Cultivados, S.A. Informe Interno*, 24 pp.

PANIAGUA-MICHEL, J. B. C. FARFAN & F. BUCKLE-RAMIREZ. 1987. Culture of marine microalgae with natural biodigested resources. *Aquaculture*. 64: 249-256.

WALNE, P. R., 1966. Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fishery Invest. Min. Agric. Fish. Series* 2. 24(4): 8.

YAMASHITA, C. & P. M. DA SILVA, 1984. Métodos simples para o cultivo da alga *Tetraselmis chui*. *Bol. de Pesquisa*. 8: 7-20.