



informe progresivo

nº
36

Julio
1996

Informe integrado de las Operaciones MOPAS 1995
(Agosto-Setiembre-October-Noviembre)

O. Morón-L. Vásquez-E. Delgado-P. Ayon

**Cultivo masivo de la microalga nativa Isochrysis sp.,
como fuente de alimento de post-larvas de moluscos bivalvos**

Rosario Cisneros Burga

DGIO - 12
DGIRH - 21

El Informe Progresivo es una serie de distribución nacional, que contiene artículos científicos y tecnológicos, con información de investigaciones en marcha, conferencias y otros documentos técnicos sobre temas marítimos .

Podrá ser citado como Inf. Prog. Inst. Mar Perú - Callao (mimeo)

INSTITUTO DEL MAR DEL PERU (IMARPE)

Esq. Gamarra y Gral. Valle, Chucuito - Callao.

Apartado 22, Callao - Perú.

Tel. 4297630 - 4299811 Fax. 4656023

E - mail: imarpe + @amauta.rcp.net.pe

CULTIVO MASIVO DE LA MICROALGA NATIVA *Isochrysis sp.*, COMO FUENTE DE ALIMENTO DE POST-LARVAS DE MOLUSCOS BIVALVOS

Rosario Cisneros Burga

CONTENIDO

RESUMEN EJECUTIVO

1. INTRODUCCION
2. MATERIAL Y METODOS
3. RESULTADOS Y DISCUSION
4. CONCLUSIONES
5. AGRADECIMIENTOS

REFERENCIAS

TABLAS

GRAFICOS

RESUMEN EJECUTIVO

Se realizó un experimento de cultivo masivo de la microalga nativa *Isochrysis sp.* en ambiente semicontrolado en la «eclosería» del IMARPE, utilizándose tanques de fibra de vidrio de 500 l de capacidad, con agua de mar filtrada a 1 μm , esterilizada por medio de un equipo ultravioleta y enriquecida con extracto de suelo de jardín, los que aportan principalmente metales traza, compuestos húmicos y vitaminas.

El método de cultivo fue de tipo Batch, el que se implementa una vez y se cosecha completamente, luego que la población ha alcanzado un nivel apropiado de densidad (Uribe, 1992).

Las densidades se ajustaron a un crecimiento de tipo logístico, mediante el modelo de crecimiento poblacional con límite de Verhulst (Hutchinson, 1981).

Se comparó el crecimiento de esta especie con la microalga importada *Isochrysis galbana* var. *tahitiensis* (T-iso), encontrándose mayor crecimiento en la especie nativa.

1. INTRODUCCION

La producción de microalgas en gran escala se desarrolla en ambientes al aire libre, utilizando la luz solar como fuente de energía o ambientes cubiertos en condiciones semicontroladas, lo que constituye una gran opción para la producción de moluscos bivalvos (Vélez y Ortega, 1988).

Los cultivos masivos permiten contar con la cantidad de alimento suficiente para abastecer las exigencias alimentarias de las post-larvas y semillas de moluscos.

La utilización de microalgas nativas, aisladas del medio natural, así como el uso de nutrientes inorgánicos, se presenta como una alternativa, si se desea desarrollar metodologías prácticas y económicas de producción masiva de larvas, a menor costo (Araneda et al., 1993).

La especie utilizada en el presente estudio *Isochrysis* sp. perteneciente a la clase Haptophyceae (Güillard, 1983) fue probada en cultivo masivo de larvas y semillas de la concha de abanico *Argopecten purpuratus*, en el laboratorio del IMARPE con buenos resultados.

El objetivo principal de este trabajo fue comparar la producción masiva de la microalga nativa con la especie importada *Isochrysis galbana* var. *tahitiensis* (T-iso), la cual es utilizada como alimento de larvas y semillas de moluscos bivalvos en el laboratorio, debido a que contiene un alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados en comparación con otras especies, los cuales son esenciales en la nutrición de algunos organismos marinos (López et al., 1992; Napolitano, 1990), además de experimentar con un medio de cultivo rico en nutrientes, de fácil preparación y bajo costo como el extracto de suelo.

2. MATERIAL Y METODOS

La especie *Isochrysis* sp., forma parte del cepario de microalgas en el Laboratorio de Cultivos Marinos del IMARPE, fue aislada de muestras de agua tomadas en la localidad de Pucusana (60 km al sur de Lima).

La identificación del género se realizó en el laboratorio de Fitoplancton del IMARPE, en base a características morfológicas y de pigmentación, flagelado color marrón de forma ovoide (Güillard, 1983), no se identificó la especie.

El experimento se realizó por duplicado, en cuatro tanques de fibra de vidrio de 500 litros de capacidad, con agua de mar filtrada a $1\mu\text{m}$, esterilizada por medio de un equipo de luz ultravioleta y enriquecida con extracto de suelo de jardín, el que aporta principalmente metales traza y compuestos húmicos y vitaminas, principalmente la B_{12} . El extracto se preparó extrayendo los nutrientes de 200 g de suelo, a los que se agregó 300 ml de agua de mar filtrada y esterilizada, colocándose luego en el fuego por espacio de 20 a 30 minutos; finalmente, el sobrenadante fue filtrado y autoclavado por 20 minutos (Paniagua et al., 1989).

El análisis de nutrientes del extracto se realizó en el laboratorio de Química del IMARPE, determinándose la presencia de nitratos, fosfatos y silicatos.

El inóculo inicial para cada tanque, se efectuó con microalgas cultivadas en ambiente controlado, en botellones de plástico de 12 litros de capacidad.

Los cultivos se mantuvieron con aireación constante, con la finalidad de mantener las células en suspensión, evitando la sedimentación y aumentando el contacto de las células con la fuente de luz, además de proveer el dióxido de carbono necesario para el crecimiento y estabilizar el pH de los cultivos (Güillard, 1983).

Diariamente se realizó la toma de muestras de cada tanque y el recuento del número de células con un hemocitómetro y un microscopio binocular, con el fin de obtener las curvas de crecimiento de las microalgas.

Asimismo, se llevó el registro de la temperatura, pH y salinidad de los cultivos.

El experimento se realizó con un fotoperíodo de 13 horas de luz natural y 11 horas de luz artificial, durante los meses de febrero y marzo.

El método de cultivo fue de tipo Batch, el que se implementa una vez y se cosecha completamente, luego que la población ha alcanzado un nivel apropiado de densidad (Uribe, 1992).

Las densidades se ajustaron a un crecimiento de tipo logístico, mediante el modelo de crecimiento poblacional con límite de Verhulst (Hutchinson, 1981), expresado por la siguiente ecuación:

$$N_t = \frac{K}{1 + e^{-a-rt}}$$

Donde:

- Nt = Tamaño de la población al tiempo t
- K = Asíntota superior o máximo valor de N
- a = Constante de integración definiendo la posición de la curva relativa al origen
- r = Tasa de crecimiento de la población
- t = Tiempo en días

El valor de K fue calculado mediante la aplicación de la siguiente ecuación (ecuación de Ford-Walford modificada), tomándose los valores de la población a partir del punto de inflexión:

$$N(t + \Delta t) = a + b Nt$$

El resto de los parámetros, se determinaron mediante la ecuación de Verhulst con base en una regresión lineal por mínimos cuadrados:

$$\ln(K-N)/N = a - rt$$

(Araneda et.al.,1993).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

La temperatura de los cultivos varió entre 25 a 28 °C, debido a la estación de Verano, además de que el cultivo se realizó en ambiente semi-controlado. La salinidad fluctuó entre 35 a 36 ‰. El pH se incrementó a medida que aumentó la concentración de células, variando entre 7.7 a 8.4, lo que estuvo dentro de los rangos normales, de lo contrario el crecimiento disminuye (Araneda et al.,1993). El

pH comunmente se incrementa por absorción del ión nitrato, el que es nivelado por la adición de CO₂ mediante la aireación, ya que el aire contiene cerca de 0.03 % de CO₂ por volumen, sin embargo éste no puede controlar el pH completamente en cultivos densos (Güillard,1983).

La concentración inicial en cada tanque fue de 42,000 cél/ml, para *Isochrysis sp.* y 45,000 cél/ml para T-iso.

El punto de inflexión de la curva de crecimiento de *Isochrysis sp.* se observó a los 7 días de cultivo a la concentración de 1.47 x 10⁶ cél/ml y para T-iso también a los 7 días con 1.35 x 10⁶ cél/ml.

La constante de crecimiento K, que mide la eficiencia del crecimiento (Fogg,1965), fue de 2,600 y 2,188 para *Isochrysis sp.* y T-iso, respectivamente.

La concentración máxima alcanzada por *Isochrysis sp.* fue de 2.9 x 10⁶ cél/ml y para T-iso 2.1 x 10⁶ cél/ml a los 11 días de cultivo, las curvas de crecimiento se pueden apreciar en la fig.1 y los valores observados y calculados en la tabla 1.

La curva de ajuste del crecimiento de *Isochrysis sp.* y T-iso, se observa en la fig.2, correspondiendo a las siguientes ecuaciones finales respectivamente:

$$N_t = \frac{2,600}{1 + e^{4.4 - 0.67t}}$$

$$N_t = \frac{2,188}{1 + e^{4.6 - 0.70t}}$$

Aunque la especie nativa no alcanzó concentraciones muy elevadas, ésta presentó un crecimiento similar al de la especie importada T-iso, tal como indican los resultados.

Es posible que no se obtuvieran altas concentraciones debido a que el medio de cultivo experimental no presentó un nivel alto de nutrientes como el medio f/2 de Güillard, que es el utilizado normalmente en el laboratorio, utilizando este último medio, durante la estación de Verano, las especies *Isochrysis sp.* y T-iso alcanzaron las concentraciones de 5.4 x 10⁶ Cél/ml y 5.2 x 10⁶ Cél/ml.

Otro factor que pudo haber influenciado, fue que durante la época en que se realizó el experimento (Febrero '93), se tuvieron altas temperaturas, cabe destacar que el óptimo de temperatura para el cultivo de microalgas está entre 20 y 25 °C (Fogg, 1965). Se tuvo además la presencia constante de mareas rojas y altas concentraciones de bacterias en la bahía del Callao, lo que ocasionó una elevación de las concentraciones de sulfuro, pudiendo esto afectar el desarrollo de los cultivos.

Es posible que se pueda incrementar el rendimiento de la especie nativa utilizando el extracto de suelo como medio de cultivo, adicionando variantes en la preparación del medio, así como llevando un mayor control de la composición de nutrientes del mismo.

4. CONCLUSIONES

Es viable realizar el cultivo masivo de la especie nativa *Isochrysis sp.*, en ambiente semi-controlado con medio enriquecido a base de extracto de suelo o con el medio f/2 de Güillard, como fuente de alimento de moluscos bivalvos, ya que si bien es cierto las concentraciones alcanzadas no fueron muy altas, superaron aunque en proporciones no muy significativas al de la especie importada y fueron suficientes para alimentar post-larvas de *A. purpuratus*.

Los resultados obtenidos nos presentan una alternativa de producción a bajo costo, pues no estaríamos dependiendo de las especies importadas ni de los nutrientes químicos para la producción de moluscos en laboratorio.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo del Canadá (CIID-Canadá), a través del Proyecto SCALLOPS -PERU (IMARPE-CIID). Al Ing. Ernesto Valderrama, quien realizó el aislamiento de la especie nativa, por autorizarnos a continuar con la investigación de esta especie. A Zenobia Navarro J. por los muestreos realizados y por haber introducido en el hatchery la utilización del extracto de suelo como medio de cultivo. Al Dr. Marco Espino por la revisión de la parte estadística.

A los Biólogos Renato Guevara y Juan Argüelles por sus sugerencias.

REFERENCIAS

- Araneda, G., B.Hernández, A.Ramírez y F.Ortiz, 1993. Cultivo Masivo de la Microalga *Crisofita Chromulina sp.* Endémica del Caribe, como fuente de Alimento en Acuicultura. Boletín Red Acuicultura, Vol.7-N°3:17-20,Bogota-Colombia.
- Fogg, G.E., 1965. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. The University of Wisconsin Press.
- Güillard, R., 1983. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Culture of Marine Invertebrate. Selected readings. Hutchinson Ross Publ. Co. 385.
- Lewis, T.E., C.D. Garland and T.A. McMeekin, 1986. Manual of Hygiene for shellfish hatcheries. University of Tasmania, Department of agricultural Science.
- López A., D., E.Molina, J.A. Sánchez, J.L. García Sánchez and F. García, 1992. Isolation of clones of *Isochrysis galbana* rich in eicosapentaenoic acid. Aquaculture,102:363-371.
- Napolitano, G. E., 1990. Fatty Acid Composition of Three Cultured Algal Species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) Used as Food for Bivalve Larvae. Aquaculture, 1990.

- Paniagua J., F. Buckle, C. Granados y D. Loya, 1989. Manual de Metodologías y Alternativas para el Cultivo de Microalgas. CICESE, Acuicultura, Baja California, México.
- Ricker, W.E., 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish population. Bulletin of the Fisheries Research board of Canada.
- Uribe, E., 1992. Manual V Curso Internacional en Cultivo de moluscos. Programa de Cooperación Técnica Chile-Japón, 19 Oct. al 12 de Nov., 1992. Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.
- Vélez, A.y L. Ortega, 1988. Cultivo de Microalgas en Gran Escala n el Trópico para A l i - mento de Post-larvas de Bivalvos. Rev.Lat.Acui., N° 36-71-88, Lima-Perú.

Tabla 1. Valores observados y calculados del crecimiento de las dos especies de algas utilizadas

| Días | Isochrysis nativa Densidad (Cél/ml x 1000) | | T-iso Densidad (Cél/ml x 1000) | |
|------|---|-----------|-----------------------------------|-----------|
| | Observado | Calculado | Observado | Calculado |
| 1 | 42 | 61 | 45 | 42 |
| 2 | 106 | 116 | 95 | 84 |
| 3 | 290 | 218 | 110 | 162 |
| 4 | 475 | 395 | 306 | 304 |
| 5 | 875 | 674 | 525 | 536 |
| 6 | 1060 | 1056 | 985 | 864 |
| 7 | 1470 | 1487 | 1350 | 1242 |
| 8 | 1750 | 1880 | 1675 | 1585 |
| 9 | 2060 | 2174 | 1850 | 1838 |
| 10 | 2406 | 2363 | 1950 | 1995 |
| 11 | 2950 | 2473 | 2450 | 2084 |
| 12 | 2450 | 2533 | 2150 | 2131 |

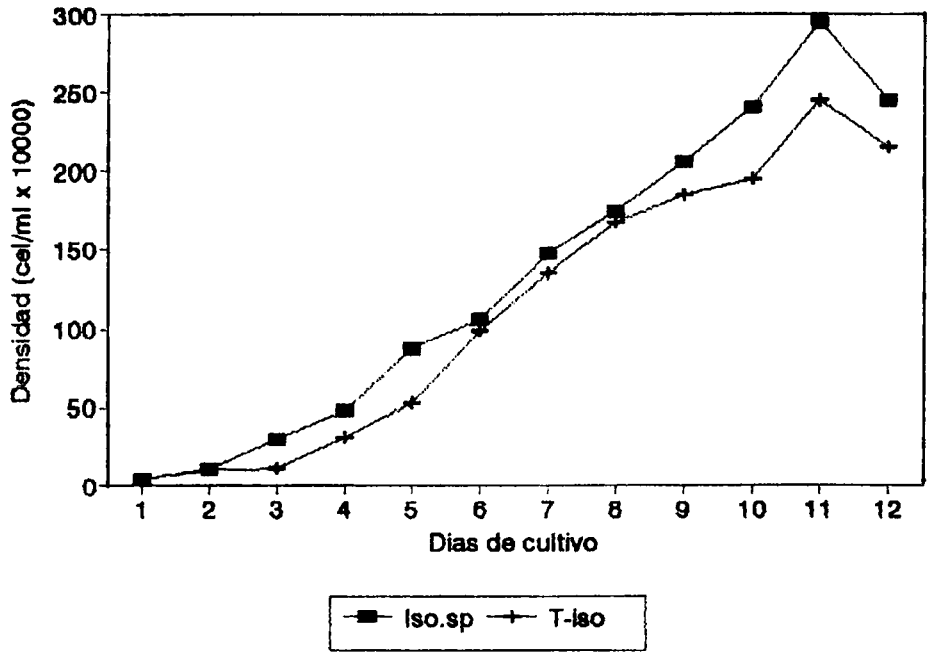


Fig. 1 CURVAS DE CRECIMIENTO Isochrysis

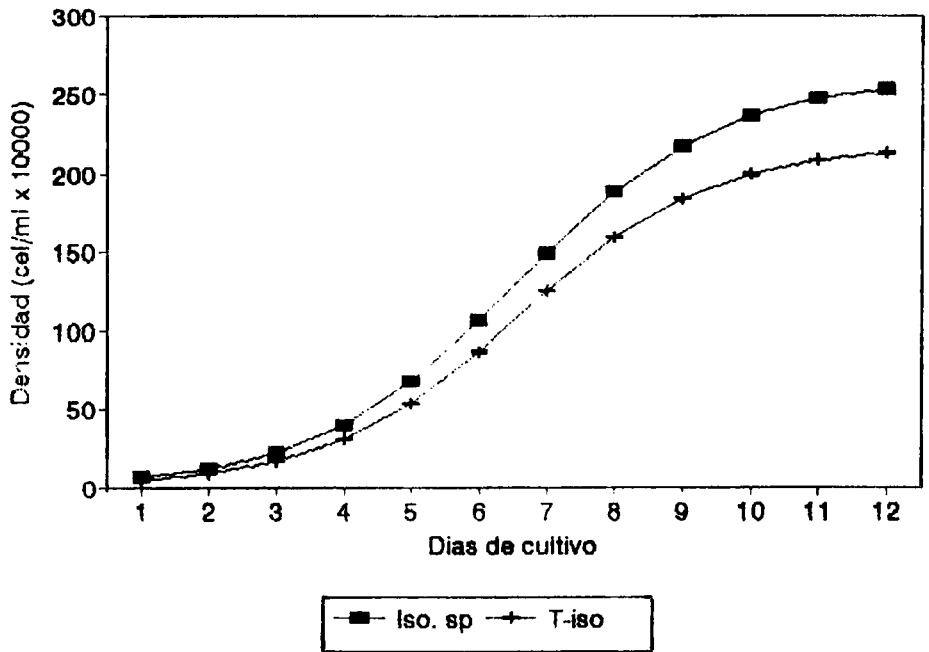


Fig. 2 AJUSTE DE CURVAS Isochrysis