



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y COMPOSICIÓN  
BIOQUÍMICA DE DOS MICROALGAS NATIVAS DE LAS COSTAS  
ORIENTALES DE VENEZUELA PARA SER USADAS COMO ALIMENTO DE  
LARVAS DE LA OSTRERA PERLA *Pinctada imbricata*, Röding 1798 (MOLLUSCA:  
PTERIDAE)

SAIDELIS DEL VALLE GONZÁLEZ ROJAS

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CUMANÁ, 2018

CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y COMPOSICIÓN  
BIOQUÍMICA DE DOS MICROALGAS NATIVAS DE LAS COSTAS  
ORIENTALES DE VENEZUELA PARA SER USADAS COMO ALIMENTO DE  
LARVAS DE LA OSTRERA PERLA *Pinctada imbricata*, Röding 1798 (MOLLUSCA:  
PTERIDAE)

APROBADO POR:

---

Prof. Roraysi Cortez  
Asesor

---

Prof. Luis Freites  
Co-asesor

---

Prof. Olga Gómez  
Jurado principal

---

Prof. Edgar Zapata  
Jurado principal

## DEDICATORIA

*Para las personas que me enseñaron a ser quien soy:*

*A mis padres Sabino González y Yris Rojas, por enseñarme que para triunfar se tiene que luchar.*

*A mis hermanos Sabino y Sayris, porque de una forma u otra también son merecedores de este gran paso que he dado en la vida.*

*A mis sobrinos Yubiris, Yudelis, Roidelis, Maholis, Samuel y Sabiel, porque este logro le sirva como una inspiración para alcanzar el suyo.*

*A ti amor que de una manera a otra estuviste para apoyarme a pesar de la distancia TE AMO.*

*A mi cuñis Rodolfo Ferrer (†), por tu apoyo incondicional y sé que si estuvieras físicamente con nosotros también estuvieras orgulloso.*

*Los amo infinitamente...*

## AGRADECIMIENTO

Al profesor Miguel Guevara, por haberme tenido paciencia durante su tutoría. Muchas gracias por los regaños, la educación, los consejos y brindarme su apoyo, "Mil gracias profe".

Al profesor José Humberto Peñuela por formar parte también de mi tutoría. Gracias por su apoyo incondicional durante la realización de este trabajo y por el interés que tuvo por explicarme.

A la profesora Roraysi Cortez por su ayuda y colaboración a lo largo de la ejecución de este trabajo.

Al profesor Luis Freites por su ayuda y apoyo, inmensamente agradecida con usted.

A mi hermana y amiga Belice Gotera "Gotita" por los consejos, regaños y por la ayuda brindada durante y después de la carrera, siempre estaré agradecida contigo manita.

A mis compañera de residencia Dayany Dona por su invaluable apoyo.

A todos mis compañeros de Laboratorio que de alguna u otra manera estuvieron colaborando en la realización de este trabajo: Elvira Hernández, Lolymar Romero, Heidys Márquez, Rafael Pinto, Jesús Bello.

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por el apoyo a través del proyecto: Caracterización del crecimiento poblacional y composición bioquímica de ocho microalgas marinas como alimento para larvas de la ostra perla *Pinctada imbricata*, Röding 1798 (Mollusca: Pteridae). CI-02-030603-1785-12.

"Mil Gracias a todos"

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
LISTA DE TABLAS .....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	IX
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA	
Cepas y condiciones de cultivo de las microalgas.....	6
Determinación de los parámetros de crecimiento poblacional.....	6
Determinación de la biometría de las microalgas.....	7
Determinación del contenido de biomasa y composición bioquímica.....	7
Proteínas totales.....	8
Carbohidratos totales.....	9
Lípidos totales.....	9
Extracción.....	9
Cuantificación.....	10
Ácidos grasos.....	10
Cultivo de larvas de <i>Pinctada imbricata</i> .....	11
Ensayos de alimentación.....	11
Determinación del crecimiento.....	11
Determinación de la tasa de supervivencia.....	12
Determinación de la composición bioquímica.....	12
Análisis de datos.....	12
RESULTADOS	
Parámetros de crecimiento de las microalgas <i>T. chuii</i> y <i>C. muelleri</i> .....	13
Cuantificación del contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos grasos de las microalgas <i>T. chuii</i> y <i>C. muelleri</i> .....	14
Crecimiento de las larvas de <i>Pinctada imbricata</i> .....	17
Efectos de las dietas de microalgas sobre el valor nutricional de las larvas de <i>P. imbricata</i> .....	19
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES.....	27
RECOMENDACIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA.....	29

## LISTA DE TABLAS

<b>Tablas</b>		<b>Pág.</b>
<b>1</b>	Parámetros de crecimiento poblacional de las microalgas <i>T. chuii</i> . y <i>C. muelleris</i> .....	15
<b>2</b>	Perfil de ácidos grasos de las microalgas <i>T. chuii</i> y <i>C. muelleri</i> (% con respecto al total de los ácidos grasos).....	16
<b>3</b>	Características morfométricas de las microalgas <i>T. chuii</i> y <i>C. muelleri</i> y las raciones diarias de cada dieta.....	17

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figuras</b>		<b>Pág.</b>
<b>1</b>	<i>Pinctada imbricata</i> .....	1
<b>2</b>	Crecimiento poblacional de la microalga <i>Tetraselmis chuii</i> cultivada en medio F/2 Guillard, durante 8 días.....	13
<b>3</b>	Crecimiento poblacional de la microalga <i>Chaetoceros muelleri</i> cultivada en medio F/2 Guillard, durante 8 días.....	14
<b>4</b>	Contenidos de proteínas, carbohidratos y lípidos de la microalga <i>Tetraselmis</i> sp.....	15
<b>5</b>	Contenidos de proteínas, carbohidratos y lípidos de la microalga <i>Chaetoceros muelleri</i> .....	16
<b>6</b>	Largo (A) y ancho (B) de la concha de larvas ( $\mu\text{m}$ ) de <i>Pinctada imbricata</i> alimentadas con las microalgas <i>Chaetoceros muelleri</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , y dieta mixta, durante 12 días.....	18
<b>7</b>	Tasa de crecimiento ( $\% \cdot \text{día}^{-1}$ ) de las larvas de <i>Pinctada imbricata</i> sometidas a diferentes dietas microalgales.....	19
<b>8</b>	Tasa de supervivencia (%) de larvas de <i>Pinctada imbricata</i> alimentadas con tres dietas distintas: <i>Chaetoceros muelleri</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> y mixta durante 12 días.....	19
<b>9</b>	Contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos (%) de las larvas de <i>Pinctada imbricata</i> alimentadas con las microalgas <i>Chaetoceros muelleri</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> y dieta mixta, durante 12 días.....	20

## RESUMEN

El crecimiento y la composición bioquímica de las microalgas nativas *Tetraselmis chuii* (Cepa Golfo) y *Chaetoceros muelleri* (cepa Araya) fueron evaluadas para su uso como alimento de larvas de la ostra *Pinctada imbricata*. Los cultivos de las microalgas se realizaron en ambiente controlado (irradiancia de  $100 \mu\text{moles m}^2\text{s}^{-1}$ ,  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y aireación de 200 ml.min), por triplicado, durante ocho días, en matraces de 3 l de capacidad, conteniendo 2,5 l de medio F/2 Guillard. Las máximas densidades celulares alcanzadas por *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri* fueron 526250 cel/ml y 3190000 cel/ml, respectivamente. Los mayores valores de proteínas, lípidos y carbohidratos se obtuvieron en *C. muelleri* con porcentajes de 53,5%, 25% y 15%, respectivamente; mientras que en *Tetraselmis chuii*. Los contenidos de estas macromoléculas fueron 49%, 18% y 12%. Los ácidos grasos poliinsaturados mostraron proporciones similares en ambas microalgas (28%). Los ácidos grasos esenciales: ARA, EPA y DHA en *C. muelleri* presentaron contenidos de 3,6%; 12,1% y 7%, respectivamente; mientras que en *Tetraselmis chuii*, destacó el ácido EPA con un 5,2% y el ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3n-3) con 17,1%. La tasa de supervivencia de las larvas de *P. imbricata* presentó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) con las distintas dietas suministradas, presentando el mayor porcentaje las larvas que se les proporcionó la dieta mixta (86%), seguido por las alimentadas con *Tetraselmis chuii* (70%) y por último los organismos alimentados con *Chaetoceros muelleri* (56%). Los componentes bioquímicos de las larvas de *P. imbricata* mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las diferentes dietas microalgales, siendo las larvas alimentadas con la dieta mixta las que presentaron mayores contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos. Estos resultados evidencian la potencialidad de las mezclas de microalgas nativas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri* como una alternativa para la alimentación y nutrición de larvas de *P. imbricata*.

## INTRODUCCIÓN

La ostra *Pinctada imbricata* es un bivalvo de hábitat sublitoral, de aguas someras, encontrándose adherida mediante el biso a sustratos duros y en algunos casos, se le asocia con la fanerógama *Thalassia testudinum*. Es una especie cuya longitud dorso-ventral, en los bancos naturales, oscila entre 38 y 98 mm. La concha es redondeada, frágil y de color variable en su exterior, puede ser marrón, amarillo hasta verde y bronce, interiormente es nacarada. La valva izquierda es más cóncava que la derecha y posee una apertura de donde sale el biso. El periostraco o capa externa de la concha se encuentra formando láminas concéntricas con proyecciones espinosas frágiles, más evidentes en los individuos juveniles Lodeiros *et al.* (1999).



Figura1. *Pinctada imbricata*. Tomado de Lodeiros *et al.* (1999).

Este bivalvo se distribuye en el Atlántico occidental, desde Carolina del Norte hasta Brasil, formando bancos naturales densos, los cuales han sido explotados desde la época de la colonia, principalmente en las islas de Cubagua y Margarita, en el nororiente de Venezuela Makenzie *et al.* (2003).

*Pinctada imbricata* constituye un valioso recurso económico en la región nororiental de Venezuela, especialmente en el estado Nueva Esparta, donde los bancos naturales producen cerca de 2000 toneladas anuales, con un promedio aproximado de 380 toneladas en producción de carne (Gómez, 1999). Y es conocida con diferentes nombres vulgares, todos relativos a su formación de perlas, siendo los más comunes ostra perla o perlífera, madre perla y tripa perla.

Los cultivos de la ostra perlera *P. imbricata* en la zona nororiental de Venezuela se han

venido desarrollando de forma experimental (Lodeiros y Freites, 2008; Lodeiros *et al.*, 2016). El interés que existe por este recurso se debe, principalmente, a sus características de rápido crecimiento y alta supervivencia en condiciones de cultivo suspendido (Lodeiros *et al.*, 2002), además del alto valor comercial que posee en los mercados locales y a la disponibilidad de semillas a través del año (Jiménez *et al.*, 2000; Velasco *et al.*, 2011). Sin embargo, la captación de semillas del ambiente natural puede verse seriamente influenciada por el cambio climático global.

En los últimos años se ha observado que el incremento de la temperatura en los periodos de verano ha ocasionado mortalidades masivas en cultivos de ostras. Para el año 2005, se registró por primera vez un huracán en el Atlántico Sur Oriental, así como fuertes vientos y oleajes, causando efectos destructivos en el litoral de Santa Catarina, Brasil destruyendo muchas estructuras de cultivo (Rupp *et al.*, 2008).

Con respecto a Venezuela, se ha indicado que la región nororiental es una de las áreas más vulnerables al cambio climático, ya que la producción pesquera, se vería seriamente afectada si, por efectos del cambio climático, los procesos de surgencia costera (afloramientos de nutrientes acompañados con baja temperatura) se detuvieran, ya que éstos son los que inducen la elevada productividad en la zona del Caribe (Freón *et al.*, 2003). Ante este escenario descrito, es necesario plantear investigaciones que permitan masificar la producción de semillas de bivalvos a nivel de laboratorio a fin de disminuir la dependencia con el medio natural. En lo que respecta a trabajos sobre producción de semillas de *P. imbricata* bajo sistemas controlados de laboratorio, actualmente solo se cuenta con información a nivel de informes de laboratorio en lo referente a esta investigación, relacionados con la experiencia realizada en la Estación Hidrobiológica de Turpialito, donde se logró la producción de semillas de esta especie bajo el proyecto “FONACIT-UDO 201100299: *Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente como Centro de Monitoreo Ambiental y Producción de Semillas de Moluscos Bivalvos*”.

La alimentación de larvas de moluscos bivalvos requiere del uso de grandes cantidades de microalgas, las cuales deben tener una elevada calidad nutricional; siendo las microalgas un grupo variado de microorganismos fotosintéticos con características morfológicas y fisiológicas capaces de responder a variaciones ambientales particulares tales como: pH, temperatura, intensidad lumínica y disponibilidad de nutrientes (Whotton, 1992; Lebeau y Robert, 2003). Las microalgas presentan altas tasas de producción, adaptabilidad a distintas condiciones ambientales, encontrándose presentes en cualquier medio acuático donde exista una fuente de carbono, nutrientes y luz suficientes, junto con márgenes apropiados de temperatura (Shelef y Soeder, 1980).

El cultivo de microalgas se ha utilizado desde principio del siglo pasado en investigaciones fundamentales de la fisiología y bioquímica vegetal (Bold, 1942). En las décadas de los años 30 y 40 se concibe la idea del cultivo masivo para ser utilizadas como fuente de alimentos, siempre y cuando se mantengan las condiciones óptimas de cultivo. Estas técnicas se han difundido considerablemente en los últimos años, haciendo del estudio del fitoplancton en ambientes controlados, un método útil en diversas investigaciones (Richmond, 1980).

En la acuicultura, las microalgas son esenciales ya que son utilizadas como alimento vivo de moluscos y de estadios larvarios de algunos crustáceos y peces, así como especies zooplanctónicas intermedias (rotíferos, copépodos, artemias, etc.), formando parte de la cadena alimentaria de cualquier criadero convencional (Cañizares *et al.*, 1995; Sánchez *et al.*, 2008).

El valor nutricional de las microalgas depende principalmente de su composición bioquímica. Los porcentajes de proteínas, carbohidratos y lípidos han sido ampliamente estudiados en estos organismos, demostrándose que el éxito de los cultivos de larvas de peces, moluscos y crustáceos, entre otros, está directamente relacionado con la calidad y cantidad de estas macromoléculas que aportan las mismas (Knauer y Southgate, 1999; Brown, 2002; Helm *et al.*, 2006; Ponis *et al.*, 2006).

Dentro de los lípidos, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) derivados de las microalgas, como el docosahexaenoico (DHA), el eicosapentaenoico (EPA) y el araquidónico (ARA) han sido identificados como esenciales, observándose que estos favorecen el crecimiento y desarrollo de larvas y juveniles de moluscos bivalvos (Sargent *et al.*, 1997; Spolaore *et al.*, 2006; Hemaiswarya *et al.*, 2011).

Entre las microalgas identificadas como alimento de buena calidad para el cultivo de bivalvos, se encuentran *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Tetraselmis chuii*, *Pseudoisochrysis paradoxa*, *Chaetoceros gracilis*, *Skeletonema costatum* y *Rhodomonas salina* (Persoone y Claus, 1980; Gagne *et al.*, 2010; Lodeiros *et al.*, 2016). Estas especies pueden variar significativamente su valor nutricional en función de las condiciones de cultivo (Brown *et al.*, 1997; Guevara *et al.*, 2016). Esto podría tener efecto positivo por la posibilidad de modificar la calidad nutritiva de una determinada especie, manipulando las condiciones de luz, nutrientes, etc., pero al mismo tiempo aumenta la complejidad para mantener una misma calidad a lo largo de todo el proceso de alimentación de los bivalvos. Por ello, generalmente, se propone el uso de mezclas de microalgas para favorecer un efecto sinérgico por la complementación de metabolitos importantes (Uriarte *et al.*, 2001; Pernet *et al.*, 2005).

Con respecto a las microalgas utilizadas en la presente investigación, la clorofita *Tetraselmis chuii*, se caracteriza por presentar cuatro flagelos, que salen de una hendidura en uno de los extremos de la célula. Las células están cubiertas por escamas orgánicas que suelen desprenderse. Presentan un solo cloroplasto y su tamaño está 10-16  $\mu\text{m}$  de diámetro (Morineau *et al.*, 2001). Esta microalga ha sido ampliamente utilizada en estudios de bioquímica (Ronquillo *et al.*, 1997) y en acuicultura como alimento para adultos y estadios larvarios de moluscos, ya que es fácilmente digerible (Abalde *et al.*, 1995). La composición química de *T. chuii* varía con la edad del cultivo; presentando, por lo general, un contenido proteico de 42%; 12% de carbohidratos, 16% de lípidos, 5% de ARA, 8% de EPA y 4% de DHA (Farhadian *et al.*, 2009).

La microalga *Chaetoceros muelleri*, por su parte, es una diatomea que presenta células rectangulares, con tamaños entre 4 y 9  $\mu\text{m}$  (Raymont, 1980; Trujillo, 1993). Sus valvas muestran una marcada complejidad de la orientación de puntas, las cuales se pueden presentar en forma de espinas, alvéolos o en forma de canales tubulares. Esta microalga es uno de los principales alimentos para larvas de moluscos y peneidos; posee una elevada tasa de reproducción y tienen facilidad de crecimiento en medio simplificado (Trujillo, 1993). Poseen un alto contenido de PUFA y, han sido considerada como fuente de lípidos neutros útiles para la producción de energía en la industria biotecnológica (Ahlgren *et al.*, 1990). Los ácidos grasos poliinsaturados sintetizados por esta especie, como el DHA, EPA y AA, son considerados esenciales, durante la etapa larvaria, en diferentes especies de organismos acuáticos cultivables, incluyendo a los bivalvos (Sergeant *et al.*, 1997). Usualmente esta diatomea presenta una alta biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, 33% de proteínas, 17% de carbohidratos y 10% de lípidos (Renaud *et al.*, 2002).

Tomando en consideración que el cultivo de la ostra *P. imbricata* representaría un valioso recurso pesquero que vendría a colaborar con el sustento de varias comunidades costeras del estado Sucre, Venezuela, se planteó la siguiente investigación, la cual evaluará el cultivo de dos microalgas nativas del oriente venezolano, *T. chuii* y *C. muelleri* para ser usadas como alimento de larvas de *P. imbricata*.

## METODOLOGÍA

### **Cepas y condiciones de cultivo de las microalgas**

En esta investigación se utilizaron dos cepas de microalgas previamente identificadas como *Tetraselmis chuii* (BAGUDO-28), la cual fue aislada del golfo de Cariaco y *Chaetoceros muelleri* (BAGUDO-158), aislada de la Península de Araya, estado Sucre, Venezuela. Ambas cepas están depositadas en el Banco de Germoplasma de Algas de la Universidad de Oriente (BGAUDO), ubicado en el Departamento de Biología Pesquera del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente.

Las dos microalgas se cultivaron, separadamente, en ambiente controlado (irradiancia de  $100 \mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; fotoperiodo 12 horas luz: 12 horas oscuridad,  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y aireación constante de  $200 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ), por triplicado, durante ocho días, en matraces de 3 l de capacidad, conteniendo 2,5 l de medio F/2 Guillard (Guillard y Ryther, 1962) con una concentración de nitrato y fosfato de 8 mmol/l y 0,036 mmol/l, respectivamente. Diariamente se les midió el pH, utilizando un pHmetro digital Oakton Arcorn series ion 6. Las condiciones de cultivo seleccionadas son las que más se han utilizado en los cultivos de microalgas con fines acuícolas (Abu-Rezq *et al.*, 1999).

### **Parámetros de crecimiento poblacional**

#### Densidad celular

La evaluación de la densidad celular se realizó cada 24 horas, para lo cual se tomaron muestras (1ml), por triplicado de los cultivos, y se fijaron con 50  $\mu\text{l}$  de una solución de lugol al 1% para realizar el recuento celular por microscopia óptica, utilizando un hematocitómetro Neubauer de 0,1mm de profundidad y un microscopio marca Leica modelo DM1000. Para calcular la densidad celular, se utilizaron los criterios de (Madigan *et al.*, 1999) y la siguiente relación

$$D = C \cdot 10^4 \cdot Fd$$

Donde:

D = Número de cel.ml.

C = Promedio de células contadas en cuatro cuadrantes de la cámara.

$10^4$  = Factor para convertir  $\mu\text{l}$  a ml.

Fd = Factor de dilución.

Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación

Con los valores del recuento celular, de cada uno de los cultivos de microalgas, se realizaron curvas de crecimiento (densidad celular vs tiempo de cultivo) y a partir de éstas se determinó la tasa de crecimiento instantáneo (K), y el tiempo de duplicación (Td), siguiendo las recomendaciones hechas en (Madigan *et al.*, 1999), y utilizando la siguiente relación:

$$K = \frac{\text{Log}_{10} X_f - \text{Log}_{10} X_0}{0,301 (t_f - t_0)}$$

$$T_d = 1/K$$

Donde:

K = Tasa instantánea de crecimiento, (div/día).

$t_f, t_0$  = Tiempo final e inicial de cultivo.

$X_f, X_0$  = Densidad celular final e inicial en fase de crecimiento exponencial.

Td = Tiempo de duplicación en días.

### **Biometría de las microalgas**

La determinación de la longitud y ancho de las células de *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri* se realizó a través de mediciones de 100 células en microscopio óptico con micrómetro ocular incorporado.

### **Biomasa y composición bioquímica:**

Una vez realizadas las curvas de crecimiento y evidenciadas las diferentes fases, se procedió a repetir los cultivos bajo las mismas condiciones señaladas anteriormente. Cuando los cultivos alcanzaron la fase de crecimiento exponencial se hizo la determinación de la biomasa seca mediante el sistema de filtración Millipore©, para lo

cual se filtraron 5 ml del cultivo (de densidad celular conocida), por triplicado, a través de filtros de fibra de vidrio de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, y posteriormente se lavaron con 5 mL de formiato de amonio (pH 7,5) y se secaron en una estufa a 60 °C hasta obtener masa constante.

El cálculo de la biomasa seca se realizó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{MST} = \frac{(f+m) - (\text{psf})}{V_c}$$

Donde:

MST = Masa seca total (mg.ml).

(f + m) = Masa del tubo de ensayo + microalga (mg).

(psf) = Masa del tubo de ensayo (mg).

V<sub>c</sub> = Volumen de cultivo (5 ml).

Para la evaluación de la composición bioquímica, se tomaron 5 ml de cada cultivo, por triplicado, y se centrifugaron durante 10 minutos a 7000 rpm (25 °C). Los precipitados obtenidos se congelaron a -20 °C hasta que se realizaron los análisis bioquímicos, los cuales se hicieron empleando técnicas clásicas tales como:

#### Proteínas totales

La determinación se realizó según el método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951) modificado por (Herbert *et al.*, 1971). Los precipitados de las microalgas se colocaron en tubos de ensayo, tipo Falcon con 5 ml de NaOH 1 eq/l, luego se llevaron a baño de maría (95-100 °C) durante 1 hora. Seguidamente, se centrifugaron, y de este extracto se tomaron por triplicado, 100  $\mu\text{l}$ , para completar con NaOH eq/l hasta un volumen de 1 ml; a continuación, se agregó 1 ml de una solución 50:1 de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2% con NaOH 0,1 eq/l: CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O al 0,5% en tartrato de sodio y potasio al 1%, se agitó y dejó reposar por 10 min. Transcurrido este tiempo, se le adicionó 100  $\mu\text{l}$  de una solución 1:1 de reactivo de Folin-Ciocalteu: H<sub>2</sub>O, se agitó y dejó reposar en oscuridad por 30 min, y se procedió a leer las absorbancias a 750 nm (A<sub>750</sub>) en un espectrofotómetro marca Jenway, modelo

6405. Previamente, se realizó una curva patrón de solución de seroalbúmina (BSA), de la cual se obtuvo el valor de la pendiente (a) e intersección con el eje y (b), para posteriormente calcular la concentración de proteínas totales. El contenido de proteínas totales se expresó en porcentaje, con relación a la masa seca y correspondió al promedio de todas las réplicas.

#### Carbohidratos totales

La determinación se realizó según el método fenol sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Los precipitados de las microalgas se colocaron en tubos de ensayo, tipo Falcon con 5 ml de NaOH eq/l; luego, se llevaron a baño de maría (95-100°C) durante 1 hora. Seguidamente, se centrifugaron, y de este extracto se tomó, por triplicado, 100 µl, para completar con NaOH eq/l hasta un volumen de 1 ml. Luego, se le adicionó 0,5 ml de fenol al 5% y 2,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, se agitaron y se colocaron a 100 °C, por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, fueron colocadas en baño de hielo, se dejaron reposar por 15 minutos, hasta alcanzar la temperatura ambiente para posteriormente leer las absorbancias a 490 nm en un espectrofotómetro marca Jenway, modelo 6405.

Previamente se realizó una curva patrón de glucosa anhidra (12 mg de glucosa en 100 ml NaOH eq/l), de la cual se obtuvo el valor de la pendiente (a) e intersección con el eje y (b) para posteriormente calcular la concentración de carbohidratos. El contenido de carbohidratos totales se expresó en porcentaje, con relación a la masa seca y correspondió al promedio de todas las réplicas.

#### Lípidos totales

##### Extracción

La extracción de los lípidos totales se realizó según el método de (Bligh y Dyer, 1959). Para ello, los precipitados de las microalgas se colocaron en tubos de ensayo tipo Falcon y se les agregaron 5 ml de cloroformo: metanol (1:2 V.V<sup>-1</sup>) más 100 µl de una solución de BHT en cloroformo (0,1%). Se agitaron cuidadosamente con varilla de vidrio hasta romper la biomasa, se protegieron los tubos con papel de aluminio y se resguardaron a 4

°C, por 24 horas. Transcurrido este tiempo, las muestras fueron centrifugadas a 3000 r.p.m., por 10 min y el sobrenadante se trasvasó a un tubo limpio; seguidamente, se le adicionó 2 ml de H<sub>2</sub>O destilada, se agitó con vortex hasta obtener una solución homogénea y densa, para luego ser centrifugada a 3000 r.p.m., por 10 min. La fase superior acuosa fue retirada con pipeta Pasteur y se desechó y la fase orgánica fue transferida a un tubo de vidrio, se le añadió 0,5 mL de acetona y se evaporó a una temperatura de 37-40 °C, por 24 horas. Los tubos con los extractos lipídicos fueron guardados a -20°C hasta la cuantificación de los lípidos totales por espectrofotometría.

### Cuantificación

La cuantificación de contenido de lípidos totales se llevó a cabo según la metodología de (Pande *et al.*, 1963). Para esto, al extracto que quedó en los tubos de vidrio (lípidos) después de la evaporación del cloroformo, se le agregó 3 ml de la solución de dicromato ácido al 2%. Los tubos fueron tapados con papel aluminio, se colocaron en baño de maría a 100 °C, por 15 min; posteriormente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente (15 min). Una vez fríos, se les agregó 4,5 ml de agua destilada, se mezclaron vigorosamente en vortex y se dejaron enfriar nuevamente (15 min), para luego leer la absorbancia en un espectrofotómetro marca Jenway, modelo 6405, a 590 nm (A<sub>590</sub>). Previamente, se realizó una curva patrón de tripalmitina en cloroformo, de la cual se obtuvo el valor de la pendiente (a) e intersección con el eje y (b), para calcular posteriormente la concentración de lípidos totales, los cuales se expresaron en % con base a la masa seca.

### Ácidos grasos

Los lípidos obtenidos según metodología de (Bligh y Dyer, 1959), previamente descrita, se sometieron a esterificación para obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos, siguiendo las recomendaciones dadas por Sato y Murata (1988). Para esto, los tubos con las muestras de lípidos se sometieron a metanólisis durante 2 horas y media a 85 °C, mediante la adición de 2,5 ml de ácido clorhídrico (5%) en metanol. Los metil-ésteres de

ácidos grasos obtenidos se separaron de la fase polar mediante una doble extracción con hexano grado HPLC (0,75 ml). El volumen final del hexano se redujo a 100  $\mu$ l mediante la evaporación con nitrógeno gaseoso. El volumen obtenido de cada una de las muestras se analizó en un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (GC-MS) Hewlett Packard Series G1800B, adicionado con una columna Omegawax TM 250 de sílica fundida (Supelco) de 30 m x 0,25 mm de diámetro externo. Los ácidos grasos presentes en las muestras se identificaron mediante la comparación de los espectros de masas con los espectros contenidos en la biblioteca de espectros de masas NIST98, NBS75K y una biblioteca creada con 28 estándares de ácidos grasos metil esterificados (Sigma Chemical Company). Adicionalmente, se confirmó la identificación de los ácidos grasos mediante la comparación de los tiempos de retención de las muestras con los registrados para un patrón comercial de metil-ésteres de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI -3, Sigma).

### **Cultivo de larvas de *Pinctada imbricata***

**Ensayos de alimentación:** las larvas de *P. imbricata* con 24 horas de vida, obtenidas a partir de desoves inducidos mediante *shock* térmicos (Vélez *et al.*, 1993) se utilizaron para los ensayos de alimentación. Los cultivos de las larvas (25 larvas.mL<sup>-1</sup>) se realizaron, por triplicado, durante 12 días y se mantuvieron a 25 °C en beakers de vidrio (1 L de capacidad con 800 mL de agua de mar filtrada y esterilizada), provistos de aireación constante. Las larvas fueron alimentadas con dietas simples y mixtas de las microalgas *T. chuii* y *C. muelleri* (raciones equivalentes en masa seca).

**Determinación del crecimiento:** al inicio y al final del bioensayo, se tomaron, al azar, muestras de larvas para determinar la longitud mayor y el ancho de la concha ( $\mu$ m), utilizando un procesador de imágenes incorporado a una lupa estereoscópica. Con estos datos, se calculó la tasa de crecimiento ( $\mu$ , % . dia<sup>-1</sup>), siguiendo la relación propuesta por (Reitan, 2011).

$$\mu = \frac{\ln x_f - \ln x_0}{t} * 100$$

Donde:

$\mu$  = Tasa de crecimiento ( $\mu$ , % . $\text{día}^{-1}$ ).

t = Número de días.

$X_f, X_0$  = Longitud de la concha al final e inicio, respectivamente, del experimento.

**Tasa de supervivencia:** al final de ensayo, se determinó la tasa de supervivencia, para lo cual se contó el número de larvas supervivientes en submuestras de los cultivos, utilizando una lupa estereoscópica y se utilizó la siguiente relación (Reitan, 2011):

$$\% S = \frac{N_f}{N_i} * 100$$

Donde:

S = Tasa de supervivencia (%).

$N_f, N_i$  = Número final e inicial de larvas, respectivamente.

**Composición bioquímica:** al final del ensayo se tomaron muestras de larvas de cada uno de los cultivos y se mantuvieron a  $-20^\circ\text{C}$  hasta que se realizaron los análisis bioquímicos que incluyeron: proteínas, lípidos y carbohidratos, siguiendo los protocolos ya descritos.

### **Análisis de datos**

Los valores de crecimiento, supervivencia y composición bioquímica de las larvas de *P. imbricata* obtenidos con cada dieta microalgal ensayada se compararon a través de un análisis de varianza de un factor (dietas), siguiendo recomendaciones de Sokal y Rohlf (1995).

## RESULTADOS

### Parámetros de crecimiento de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*

La figura 2 muestra el crecimiento de *Tetraselmis chuii* durante un periodo de ocho días. Bajo las condiciones ensayadas, esta microalga tuvo una fase de adaptación de cuatro días. La fase de crecimiento exponencial se hizo notoria entre los días 4-6, a partir de allí el cultivo entró en la fase estacionaria, obteniéndose una densidad celular máxima de 526250 cel/ml. La tasa de crecimiento instantáneo (K) y el tiempo de duplicación (Td) obtenidos fueron de 0,91 div/días y 1,09 días, respectivamente (Tabla 1).

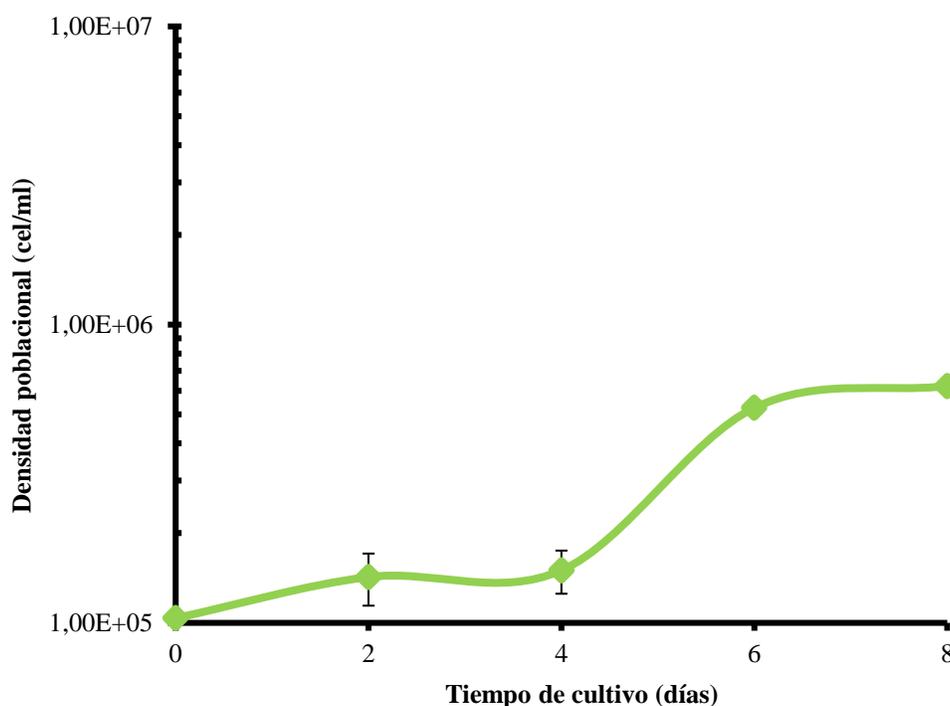


Figura 2. Crecimiento poblacional de la microalga *Tetraselmis chuii* cultivada en medio F/2 Guillard, durante 8 días.

Con respecto a *C. muelleri*, esta microalga presentó una fase de adaptación de dos días. La fase exponencial se observó desde el segundo y hasta el cuarto día, a partir de allí inició la fase estacionaria (Figura 3), obteniéndose una densidad celular máxima de 3190000 cel/ml con una tasa de crecimiento instantáneo y un tiempo de duplicación (Td) de 0,71 div/días y 1,41 días, respectivamente (Tabla 1).

### Contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos grasos de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

En las figuras 4 y 5 se muestra el contenido nutricional (% con base a masa seca) de las microalgas *T. chuii* y *C. muelleri*. Los valores obtenidos en la bioquímica de *T. chuii* fueron: proteínas 49%; lípidos 18% y carbohidratos 12%. Para *C. muelleri*, los porcentajes totales de estas macromoléculas fueron: proteínas 53,5%; lípidos 25% y 15% de carbohidratos. Resaltando que estos niveles son mayores en esta microalga.

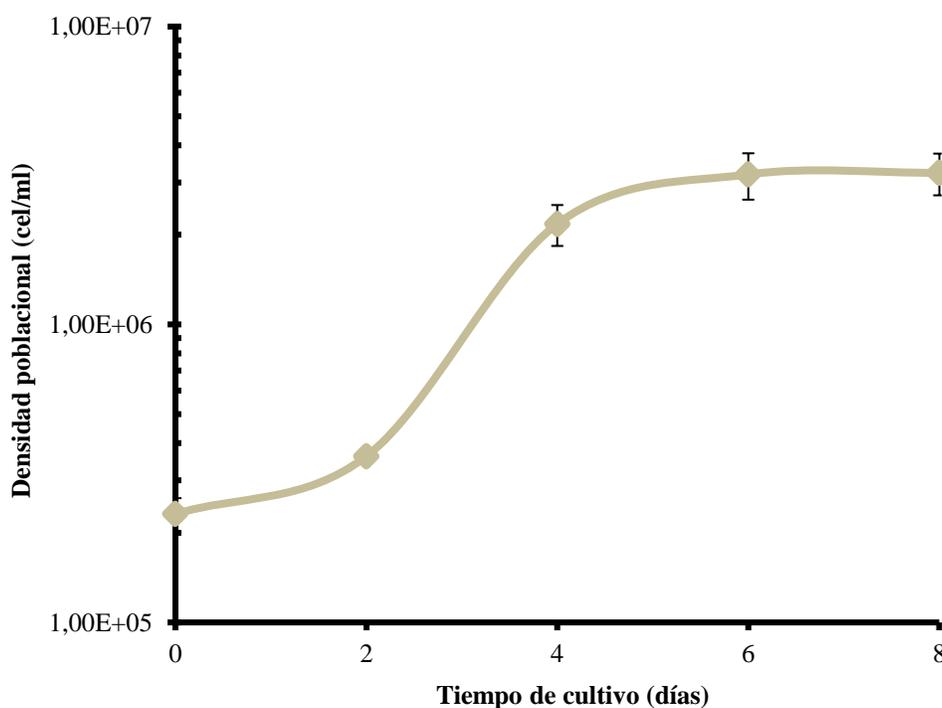


Figura 3. Crecimiento poblacional de la microalga *Chaetoceros muelleri* cultivada en medio F/2 Guillard, durante 8 días.

El perfil de ácidos grasos de las microalgas *T. chuii* y *C. muelleri* se muestra en la tabla 2, observándose que *T. chuii* presentó mayores contenidos de ácidos grasos saturados con un valor de 47,7%. Del grupo de los monoinsaturados, *C. muelleri* exhibió un mayor valor (28,3%). Con relación a los ácidos grasos poliinsaturados, la proporción en ambas microalgas fueron similares con un 28,4% para *T. chuii* y 28,3% para *C. muelleri*. Es

importante resaltar que en *C. muelleri* se observó la presencia de los ácidos grasos esenciales con un 3,6% de ARA, 12,1% de EPA y 7% de DHA, mientras que en *T. chuii*, destaca el ácido EPA con un 5,2% y el ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3) con 17,1%.

Tabla 1. Parámetros de crecimiento poblacional de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

	<i>T. chuii</i>	<i>C. muelleri</i>
Dmax (cel/ml)	526250	3190000
K (div/días)	0,91	0,71
Td (días)	1,09	1,41

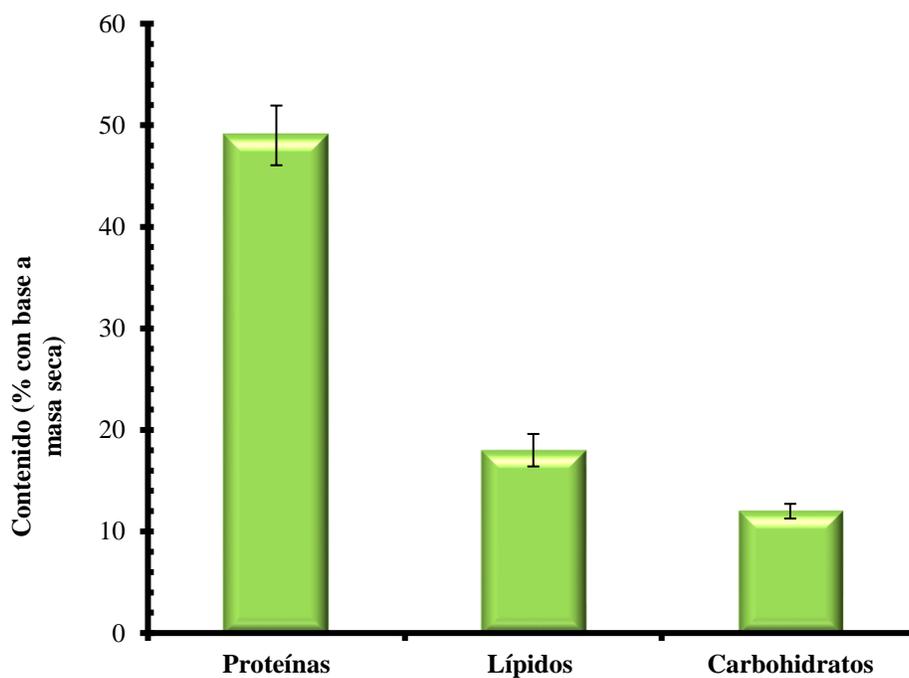


Figura 4. Contenidos de proteínas, carbohidratos y lípidos de la microalga *Tetraselmis chuii*.

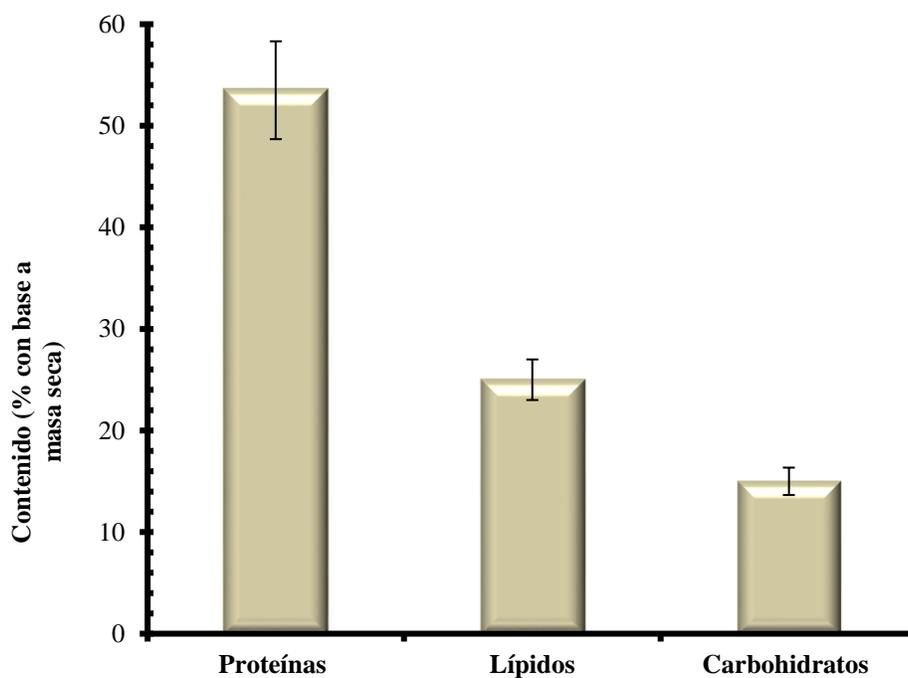


Figura 5. Contenidos de proteínas, carbohidratos y lípidos de la microalga *Chaetoceros muelleri*.

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos de las microalgas *T. chuii*. y *C. muelleri* (% con respecto al total de los ácidos grasos).

Ácidos grasos	<i>Tetraselmis chuii</i> .	<i>Chaetoceros muelleri</i>
14:0	1,6	15,8
16:0	24,1	18,7
18:0	2,7	2,9
20:0	16,1	0,1
22:0	3,2	0,4
<b>Σ Saturados</b>	<b>47,7</b>	<b>37,9</b>
16:1 n-7	5,1	26,8
18:1 n-7	16,2	1,2
18:1 n-9	-	0,3
<b>Σ Monoinsaturados</b>	<b>21,3</b>	<b>28,3</b>
16:2 n-6	-	2,9

Continuación de la tabla 2.

18:2 n-6	6,1	1,3
18:3 n-3	17,1	0,2
20:4 n-6 ARA	-	3,6
20:5 n-3 EPA	5,2	12,1
22:6 n-3 DHA	-	7
<b>Σ Poliinsaturados</b>	<b>28,4</b>	<b>28,3</b>
Total	97,4	94,5
Σn-3	22,3	20,5
Σn-6	6,1	7,8
n-3/n-6	3,7	2,6
EPA/DHA	-	3,6

### Crecimiento de las larvas de *Pinctada imbricata*

En la tabla 3 se muestran las características morfométricas de las microalgas *T. chuii* y *C. muelleri* y las raciones diarias de cada dieta.

Tabla 3. Características morfométricas de las microalgas *T. chuii* y *C. muelleri* y las raciones diarias de cada dieta.

Dietas	Masa seca (pg/cel)	Tamaño (μm)	Ración diaria (Cel.ml =1,9 μg/m)
<i>Tetraselmis chuii</i> (T)	165,2	17,2 x 9,1	11501,2
<i>Chaetoceros muelleri</i> (C)	62,3	6,1 x 8,2	30497,6
Mixta (T +C)	-	-	5750,6 +15248,8

En la figura 6 se muestra el crecimiento de las larvas de *Pinctada imbricata*, alimentadas con dietas simples y mixta de las microalgas *T. chuii* y *C. muelleri* durante 12 días. No se observaron diferencias significativas en la longitud y el ancho de la concha de las larvas al final del ensayo ( $p > 0,05$ ; Apéndice 1 y 2); sin embargo, las larvas alimentadas con la dieta simple de la microalga *T. chuii* tuvo una tendencia hacia un mayor crecimiento en cuanto a estas dos variables. Con respecto a la tasa de crecimiento de las larvas alimentadas con las distintas dietas (Figura 7), se observó que estas variaron entre

0,54 - 1,18 %/día (dieta simple de *T. chuii*), 0,66 - 1,06 %/día (dieta simple de *C. muelleri*) y 0,40 - 0,98 %/día (dieta mixta); no existiendo diferencias significativas entre dietas ( $p>0,05$ ; Apéndice 3).

La tasa de supervivencia de las larvas de *P. imbricata* (Figura 8) mostró diferencias significativas entre las dietas ( $p<0,05$ ; Apéndice 4 y 5). El mayor porcentaje de supervivencia fue observado en las larvas alimentadas con la dieta mixta (86%), seguido por las alimentadas con *T. chuii* (70%) y por último, los organismos alimentados con *C. muelleri* (56%).

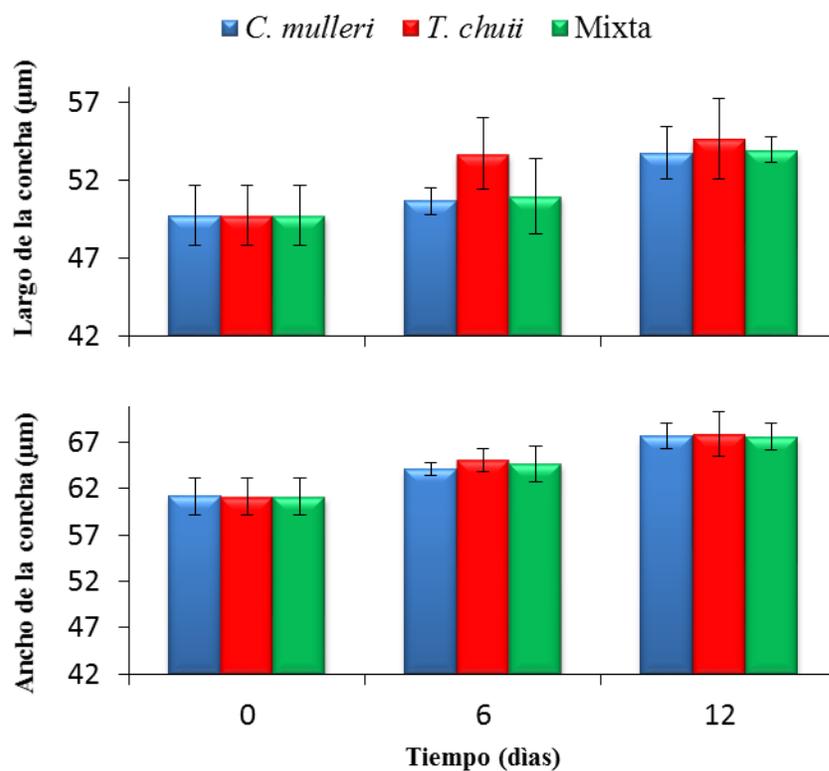


Figura 6. Largo (A) y ancho (B) de la concha de larvas ( $\mu\text{m}$ ) de *Pinctada imbricata* alimentadas con las microalgas *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis chuii*. y dieta mixta, durante 12 días.

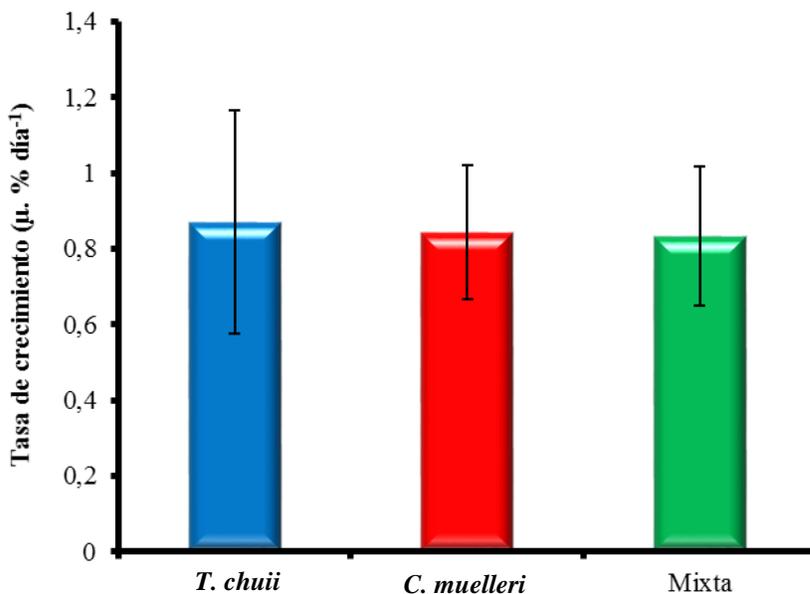


Figura 7. Tasa de crecimiento ( $\mu$ , %  $\text{día}^{-1}$ ) de las larvas de *Pinctada imbricata* sometidas a diferentes dietas microalgales.

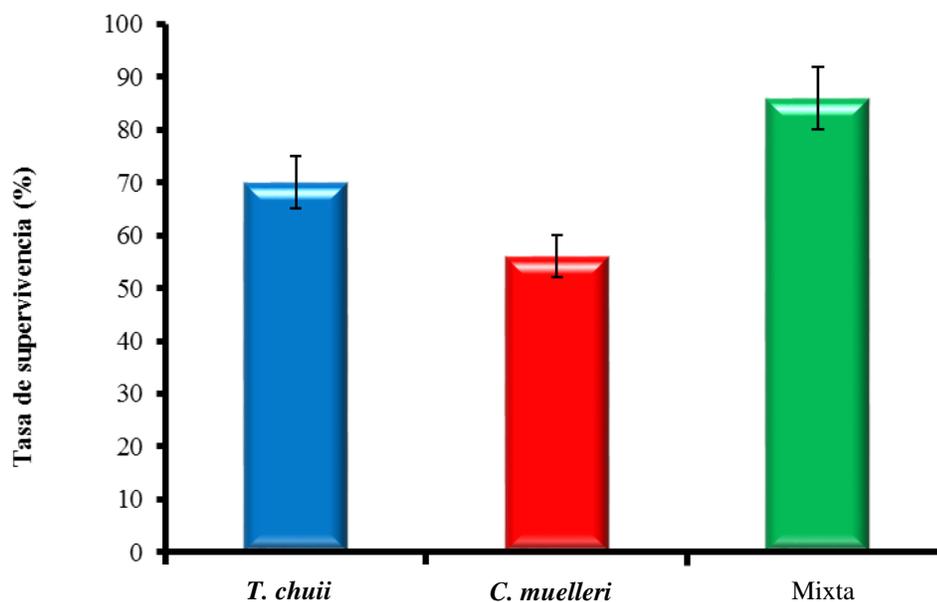


Figura 8. Tasa de supervivencia (%) de larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con tres dietas distintas: *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros muelleri* y mixta durante 12 días.

### Efectos de las dietas de microalgas sobre el valor nutricional de las larvas de *P. imbricata*.

Los componentes bioquímicos de las larvas de *P. imbricata* alimentadas con tres dietas (*T. chuii*, *C. muelleri* y mixta) se muestran en la figura 9. Los porcentajes totales de proteínas, lípidos y carbohidratos de las larvas de *P. imbricata*, mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ); (Apéndice 6, 7, 8, 9, 10, 11) entre las diferentes dietas microalgales. Los porcentajes de proteínas totales fueron mayores en los organismos alimentados con la dieta mixta  $15,798 \% \pm 0,36$ , seguidos por aquellas que consumieron *T. chuii*  $12,471 \% \pm 1,51$  y *C. muelleri*  $11,351 \% \pm 0,323$ , los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí. Los lípidos presentaron los mayores niveles en las larvas alimentadas con la dieta mixta ( $5,323 \% \pm 0,37$ ), seguido por las que se les suministró *T. chuii* ( $4,838 \% \pm 0,34$ ). Los organismos alimentados con *C. muelleri* presentaron porcentajes más bajos de lípidos totales ( $4,263 \% \pm 0,298$ ), presentando diferencias significativas con la dieta mixta. Los carbohidratos totales fueron mayores en las larvas alimentadas con la dieta mixta y *T. chuii* ( $2,364 \% \pm 0,065$  y  $2,259 \% \pm 0,515$ , respectivamente), sin diferencias estadísticas entre ellas; seguida por aquellas que consumieron *C. muelleri* ( $1,154 \% \pm 0,255$ ).

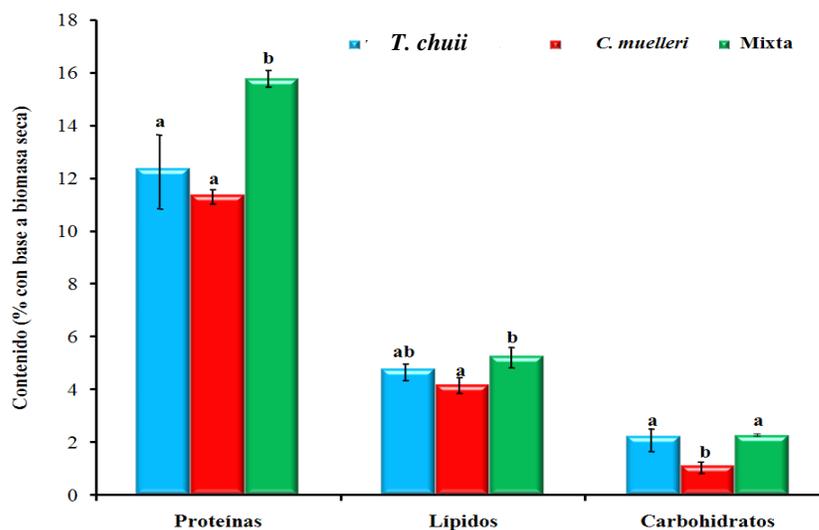


Figura 9. Contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos (%) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con las microalgas *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros muelleri* y dieta mixta, durante 12 días.

## DISCUSIÓN

Es importante señalar que la caracterización biológica (crecimiento y composición bioquímica) de las microalgas que se utilizarían en la alimentación de organismos cultivados es de suma importancia, debido a que la correcta selección de una dieta microalgal garantizaría el éxito de los cultivos (Guedes *et al.*, 2012).

En este sentido, las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri* evaluadas en la presente investigación, alcanzaron densidades celulares que satisfacen la demanda de biomasa requerida en la producción de moluscos bivalvos, tal como lo señala Helm *et al.* (2006). Esto queda evidenciado si comparamos estos resultados con los reportados en la literatura científica, tales como el de Vallejo (2006) quien cultivó *Tetraselmis* sp. con medio humus y obtuvo una densidad celular de  $1,3 \times 10^6$  cel/ml, mientras que, Barrera (2015) cultivó *Tetraselmis tetrathele* con medio F/2 Guillard obteniendo densidades celulares de  $1,9 \times 10^6$  cel/ml, valores superiores a los obtenidos en este trabajo (526250 cel/ml); además, Glem (2015) cultivó *Tetraselmis chuii* en medio F/2 Guillard y obtuvo densidades poblacionales inferiores a los obtenidos en el presente estudio (160000 cel/ml). Con respecto a *C. muelleri*, Vallejo (2006) utilizó medio Algal obteniendo densidades celulares ( $2,8 \times 10^6$  cel/ml) que superan a los registrados en esta investigación. Tal disimilitud de resultados puede estar motivado a las diferencias inherentes al origen de la cepa de microalgas (Gómez y González, 2001) y a las condiciones de cultivo utilizadas (irradiancia, pH, temperatura entre otros), las cuales pueden provocar variaciones en los parámetros de crecimiento, tal como lo proponen Becker (1995) y Sandnes *et al.* (2005).

La composición bioquímica de las microalgas puede ser un índice fisiológico, ya que sus modificaciones reflejan alteraciones metabólicas importantes en el desarrollo del cultivo (Fábregas *et al.*, 1984; Cortez, 2007). De forma general, se observó que *C. muelleri* presentó porcentajes mayores de proteínas, lípidos y carbohidratos, con respecto a *T. chuii*. Estos resultados difieren a lo reportado por Glem (2015), donde *T. chuii* presentó niveles mayores de proteínas y carbohidratos. En el presente estudio el porcentaje total

de proteínas en *C. muelleri* fue mayor al reportado por Flores (2008) y Glem, (2015), quienes mostraron valores de estas macromoléculas de 23,45% y 42,2%; respectivamente. Caso similar presenta Pacheco (2010) y Piña *et al.* (2007) con un valor de 29,9% y 24,97%, respectivamente.

Los niveles de carbohidratos totales de *C. muelleri* obtenidos para esta investigación fueron bajos en comparación con las otras dos macromoléculas; sin embargo, estos valores fueron mayores a los presentados por Lemus *et al.* (2006) y Glem (2015), para esta microalga.

Con relación a los ácidos grasos, los resultados en esta investigación revelaron, en ambas microalgas, que los ácidos grasos saturados (AGS) presentaron los mayores porcentajes en el perfil lipídico, destacando entre ellos C16:0 y C20:0 para *Tetraselmis* sp. y C14:0 y C16:0 en *C. muelleri*, siendo estos mayores a los presentados por Barrera (2015) quien trabajó con pastas de tres especies de microalgas, donde C16:0 fue el más destacado. Glem (2015) reporta valores bajos de AGS en *T. chuii* (33,5%) y *Chaetoceros* sp. cepa Araya (25,2%), siendo, de igual forma C14:0 y C16:0 los AGS más abundantes. Los altos contenidos de AGS también han sido reportados en varias especies de microalgas, mostrando los mayores porcentajes en sus perfiles lipídicos, destacando los trabajos de Farhadian *et al.* (2009) quienes utilizaron *C. calcitrans* y *T. tetrahele* y Costar *et al.* (2012) trabajaron con las especies *Bellerochea* sp., *Chlorella* sp., *Rhodomonas* sp., *Thalassiosira* sp. y *Chaetoceros* sp.

En lo que respecta a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), este fue un grupo representativo en el perfil de ácidos grasos de las microalgas evaluadas, destacando para *T. chuii* la presencia de 18:3n-3 y 20:5n-3 (EPA) y para *C. muelleri* los ácidos 20:4n-6 (ARA), 20:5n-3 (EPA) y 22:6n-3 (DHA). Vallejo (2006) reportó niveles relativamente bajos de AGPI en las microalgas *Chaetoceros* sp. y *Tetraselmis* sp. a los encontrados en la presente investigación, con participaciones importante de los ácidos grasos 18:3n-3, 18:2n-6, 20:4n-6 (ARA), 20:5n-3 (EPA) y 22:6n-3 (DHA). Glem (2015) mostró que los

AGPI fueron el grupo más destacado entre los ácidos grasos, con notable presencia de 18:3n-3, 18:2n-6, 20:4n-6, (ARA), 20:5n-3 (EPA) y 22:6n-3 (DHA).

Numerosos autores indican la importancia de estos ácidos grasos debido a su función como sustancias energéticas y estructurales (Valenzuela y Nieto, 2003; Lemus *et al.*, 2006; D'Armas *et al.*, 2009). La capacidad que tienen las microalgas para sintetizar y acumular grandes cantidades de estos compuestos, principalmente los ácidos grasos del grupo n-3 y n-6 las hace idóneas para su inclusión en las dietas de larvas de moluscos bivalvos (Sargent, 1976; Valenzuela y Nieto, 2003; Patil *et al.*, 2007).

En términos de ácidos grasos esenciales, los bivalvos muestran requerimientos de DHA, EPA, ARA, los cuales influyen en la tasa de crecimiento y supervivencia larvarias, así como el éxito de la metamorfosis (Pernet *et al.*, 2005; Farías y Uriarte, 2006; Milke *et al.*, 2006). Sin embargo, la alta variabilidad bioquímica de las microalgas bajo diferentes condiciones de cultivo, así como la falta de estandarización en los experimentos nutricionales con larvas y postlarvas, contribuyen a cierta contradicción de resultados entre autores respecto a que ácidos grasos son esenciales. Por esta razón, se propone como dieta idónea para la alimentación larvaria y postlarvaria el uso de mezclas de microalgas (Pernet *et al.*, 2005; Milke *et al.*, 2004, 2006). Además, los AGPI n-3 parecen tener una función relevante en la respuesta inmune de bivalvos a nivel de la actividad fagocítica de los hemocitos Delaporte *et al.* (2003).

El crecimiento de las larvas de *P. imbricata*, con respecto al largo y ancho de la concha, alimentadas con las diferentes dietas microalgales, demostró que no existía diferencias significativas con relación a este parámetro; sin embargo, se observó que los organismos que se alimentaron con *Tetraselmis* sp. lograron una mayor tasa de crecimiento que las alimentadas con *C. muelleri* y la combinación de las dos microalgas.

Debido a la ausencia de investigaciones sobre producción larvaria de *P. imbricata*, los resultados obtenidos en este trabajo se compararon con otras especies. Entre ellos el realizado por Glem (2015) quien al utilizar *Chaetoceros* sp. cepa Araya en la dieta,

obtuvo las mejores tasas de crecimiento para la ostra *C. rhizophorae*. Contrera-Guzman *et al.* (2014) mostraron valores más altos en el crecimiento de larvas de la almeja *Gari solida* alimentadas con *I. galbana*. De igual forma, Vivanco *et al.* (2014) reportaron valores de este parámetro mayores en el bivalvo *Mulinia edulis*, alimentadas con microalgas *C. calcitrans* e *I. galbana*. También se observó que las larvas al ser alimentadas con una dieta mixta crecen más rápidamente. Esto concuerda con Galley *et al.* (2009) quienes indicaron que una dieta basada en una mezcla de microalgas es más rica en nutrientes que una monodieta.

La supervivencia observada en las larvas de *P. imbricata* alimentadas con las dietas estudiadas se vio favorecida al emplear una combinación de microalgas en comparación con la dieta monoalgal. De acuerdo con Sánchez-Lazo y Martínez (2014), las dietas mixtas microalgales tienen ciertas ventajas ya que las microalgas aportan diferentes biomoléculas mientras que otras están ausentes o en pocas concentraciones. No obstante, la tasa de supervivencia para las dietas monoalgales se vio favorecida al emplear *T. chuii* en contraparte con lo observado en las larvas alimentadas con *C. muelleri*. Estos resultados difieren de lo presentado por Glem (2015), donde las pre-semillas de *C. rhizophorae* alimentadas con *Chaetoceros* sp. mostraron una alta supervivencia y las alimentadas con *T. chuii* mostraron los porcentajes más bajos. Vivanco *et al.* (2014) presentaron valores de supervivencia en las larvas de la almeja *Mulinia edulis* similares a lo presentado en este trabajo, suministrando dietas monoalgales y mixtas de *C. calcitrans* e *I. galbana*.

Los factores que influyen en la mortalidad de larvas y juveniles de bivalvos, tanto en condiciones de cultivo en laboratorio como en medio ambiente, pueden ser de naturaleza endógena (metabolismo, capacidad selectiva de absorción, capacidad de asimilar y conversión energética) o exógena (alimento, temperatura, el medio de cultivo, entre otros) Helm y Bourne (2006). La importancia de los aportes nutricionales de las dietas ha sido referida por varios autores, señalando que las dietas mixtas de microalgas son esenciales para el levantamiento de etapas larvales de bivalvos debido a un mejor

equilibrio en cuanto a nutrientes o componentes que se traducen en una compensación sinérgica entre especies que repercutirá en mejores resultados de sobrevivencia y crecimiento. (Freites *et al.*, 2002; Southgate, 2003; Saucedo *et al.*, 2007; Galley *et al.*, 2009). En los cultivos controlados, el éxito en la producción de juveniles depende tanto del alimento que hayan recibido los reproductores como del alimento que se les suministra a las larvas, postlarvas y juveniles, lo cual depende también de las temperaturas de cultivo Spolaore *et al.* (2006). Se ha demostrado que el crecimiento en el primer mes después de la metamorfosis es afectado por las reservas acumuladas en las larvas en el periodo previo a la metamorfosis Nevejan *et al.* (2003).

El análisis de la composición bioquímica de las larvas de *P. imbricata* manifestó una importante influencia de las dietas en la composición bioquímica de los organismos; observando que las larvas alimentadas con la dieta mixta presentaron las mayores concentraciones de proteínas, lípidos y carbohidratos en sus tejidos. En lo que respecta a las dietas monoalgales, las alimentadas con *T. chuii* presentaron los mayores valores en estas macromoléculas. Los porcentajes obtenidos en este estudio con respecto a la bioquímica de las larvas son bajos comparado con lo reportado por Glem (2015) en pre-semillas de *C. rhizophorae*, alimentadas con tres diferentes especies de microalgas y bajo condiciones de cultivo controlado. De igual manera, Matias *et al.* (2011), observaron valores mayores en los diferentes componentes bioquímicos de las larvas de *Ruditapes decussatus* a las cuales se les suministró *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*. En otro estudio, Labarta *et al.* (1999) registraron porcentajes similares en los componentes bioquímicos del desarrollo larvario de *Ostrea edulis*.

Los componentes nutricionales que presentan las microalgas son la clave para el desarrollo, crecimiento y supervivencia de los moluscos bivalvos cultivados bajo condiciones de laboratorio (hatchery), observando que la viabilidad de las larvas está limitada por la acumulación y utilización de estas macromoléculas, las cuales son utilizadas por los organismos para la formación de componentes estructurales celulares, desarrollo de tejidos, como energía para procesos metabólicos y de reserva, que

consecuentemente son utilizados en la metamorfosis de las larvas o en periodos de inanición Uriarte *et al.* (2004).

Finalmente, es importante destacar que los resultados obtenidos en la presente investigación muestran la factibilidad de usar las microalgas nativas *T. chuii* y *C. muelleri* como alimento para larvas de *P. imbricata*, debido a que presentan componentes nutricionales (proteínas: 49-53%, lípidos: 18-25%, carbohidratos: 12-15% y EPA: 5-12%) que satisfacen los requerimientos energéticos de las larvas de estos organismos, resultados que concuerdan con los mostrados por Brown *et al.* (1989) y Knauer y Southgate (1999), quienes indicaron que las larvas de moluscos deben ser alimentadas con dietas que tengan niveles de proteínas entre 13-60%, carbohidratos entre 5-30% y EPA entre 0,06-0,1%.

## CONCLUSIONES

Las microalgas *Chaetoceros muelleri* y *Tetraselmis chuii* alcanzaron densidades poblacionales que satisfacen la demanda requerida por los cultivos de las larvas de *Pinctada imbricata*.

Los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos, así como el perfil de ácidos grasos mostrados por las microalgas *C. muelleri* y *T. chuii* permiten recomendar su utilización como alimento de las larvas de *P. imbricata*.

El crecimiento de las larvas de *P. imbricata* alimentadas con las dietas evaluadas no mostraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ), lo que nos permite recomendar de manera indistinta su utilización como dieta, no obstante, la tasa de supervivencia de las larvas de *P. imbricata* presentaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las distintas dietas suministradas, presentando el mayor porcentaje las larvas que se les proporcionó la dieta mixta (86%), seguido por las alimentadas con *T. chuii* (70%) y por último los organismos alimentados con *C. muelleri* (56%).

Los componentes bioquímicos de las larvas de *P. imbricata* mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las diferentes dietas microalgales, siendo las larvas alimentadas con la dieta mixta de *C. muelleri* + *T. chuii* las que presentaron mayores contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos.

Las microalgas nativas *T. chuii* y *C. muelleri* representan una alternativa para la alimentación y nutrición de larvas de *P. imbricata*.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda ampliar los estudios relacionados con la evaluación de otras cepas de microalgas como alimento de larvas de *Pinctada imbricata* y de otros moluscos de importancia comercial.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abalde, J.; Cid, A.; Fidalgo, P.; Torres, E. y Herrero, C. 1995. *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. Monografía N° 26*. Universidad de la Coruña, España.
- Abu-Rezq, T.; Al-Musallam, J. y Al-Shimmari, P. 1999. Optimum production conditions for different high-quality marine algae. *Hydrobiología*. 403: 97-107.
- Ahlgren, G.; Lundstedt, L.; Brett, M. y Forsberg, C. 1990. Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *J. Plankton Res.*, 12: 809-818.
- Barrera, K. 2015. Efecto de pastas de microalgas y del fotoperiodo sobre la reproducción, densidad poblacional y el valor nutricional del cladócero *Daphnia magna* Strauss 1820 (Crustacea: Daphniidae). Trabajo de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Becker, E. 1995. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. New York: Cambridge University Press.
- Bligh, E. y Dyer, W. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911-917).
- Bold, H. 1942. The cultivation of algae. *Bot. Rev.*, 2(8): 90-96.
- Brown, M.; Jeffrey, S. y Garland, C. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture; a literature review. *CSIRO Marine Laboratories Report.*, 205: 1-144.
- Brown M., Jeffrey S., Volkman J., Dunstan G. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquacult.* 151: 315-331.
- Brown, M. 2002. *Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. En: Avances en Nutrición Acuícola VI*. Eds. L. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. Gaxiola-Cortés y N. Simoes. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, Quintana Roo, México. Págs. 281-292.
- Cañizares, R.; Molina, G. y Domínguez, A. 1995. Composición química de dos microalgas marinas utilizadas como alimento en maricultura. *Cryptog. Algol.*, 2: 121-133.
- Contreras-Guzmán, R.; Puebla-Arce, C.; Pacheco-Sánchez, E. y Contreras-Saldaña, F. 2014. Crecimiento y supervivencia de larvas D, pedivéligeras y postlarvas de *Gari solida* (Mollusca: Psammobiidae), provenientes de reproductores acondicionados. *Rev. Biol. Mar. Oceanog.*, 49(3): 607-614.

Cortez, R. 2012. Evaluación de un programa de mutación-selección, como técnica de mejoramiento genético, para incrementar el contenido lipídico de una cepa de *Tetraselmis tetrathele* (WEST, G.S) Butcher, 1959. Trabajo de Maestría en Ciencias Marinas. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná.

Costar, G.; Machado, R.; Barbarino, E.; Martino, R. y Lourenço, S. 2012. Chemical composition of five marine microalgae that occur on the Brazilian coast. *Int. J. Fish. Aquacult.* 4(9):191-201.

D'Armas, H., Koftayan, T. y Milano, J. 2009. Composición de lípidos del mejillón verde (*Perna viridis*) en periodo de maduración, proveniente de diferentes localidades, mediante métodos cromatográficos y de RMN13C. Parte II. *Saber*, 21(3).

Delaporte, M.; Soudant, P.; Moal, J.; Lambert, C.; Quére, C.; Miner, P.; Choquet, G.; Paillard, C. y Samain, J.C. 2003. Effect of mono-specific algal diet on immune functions in two bivalve species *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum*. *J. Exp. Biol.*, 206: 30533064.

Dubois, M.; Gilles, K.; Halmilton, J.; Rebers, P. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 2: 350-35.

Fábregas, J.; Abalde, J.; Herrero, C.; Cabezas, B. y Veiga, M. 1984. Growth of marine microalgae *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. *Aquacult.* 42: 207-245.

Farhadian, O.; Yuso, F. y Mohamed, S. 2009. Nutritional values of *Apocyclops dengizicus* (Copepoda: Cyclopoida) fed *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis tetrathele*. *Aquacult. Res.*, 40: 74-82.

Farías, A. y Uriarte, I. 2006. Nutrition in Pectinids. En: SE Shumway and GJ Parsons(Eds). *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture. Elsevier B.V.* Págs. 521-542.

Flores, R. 2008. Variación en el contenido de ácidos grasos del copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson, 1939) alimentado con las microalgas *Chaetoceros calcitrans* y *Isochrysis galbana*. Tesis de maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur.

Freites, L.; Labarta, U. y Fernández-Reiriz, M. 2002B. Evolution of fatty acid profiles of subtidal and rocky shore mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, Lmk.). Influence of environmental parameters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 268: 185-204.

Freón, P.; Mostafa, E.; Mendoza J. y Guzmán, R. 2003. Una estrategia reproductiva inesperada: el caso de *Sardinella aurita* de las costas de Venezuela y sus relaciones con la surgencia costera. En: Freón, P. y Mendoza, J. (eds). *La sardina (Sardinella aurita) su*

*medio ambiente y explotación en el oriente de Venezuela*. IRD Editions, Paris, págs. 357-400.

Fulks, W. y Main, K. 1991. The design and operation of live feeds production system. En: Rotifer and micro-algae culture system. Fulks, W. y Main, K. L. (Eds.). Proc US-Asia Works. Ocean Inst. Hawaii, USA. Págs. 3-52.

Gagne, R.; Tremblay, R.; Pernet, F.; Miner, P. Samai, J. y Olivier, F. 2010. Lipid requirements of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and post-larval development in relation to addition of *Rhodomonas* sauna in diet. *Aquacult.* 309 (1-4): 212-221.

Galley, T.; Batista, F.; Braithwaite, R.; King, J. y Beaumont, A. 2009. Optimization of larval culture of the mussel *Mytilus edulis* (L.). *Aquacult. Inter.*, 18: 315-325.

Glem, M. 2015. Evaluación de microalgas tropicales como dietas de presemillas de la ostra mangle *Crassostrea rhizophorae* (Güilding, 1828). Trabajo de Maestría en Ciencias Marinas. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná.

Gómez, P. y González, M. 2001. Genetic polymorphism in eight Chilean strains of the carotenogenic microalga *Dunaliella salina* Teodoresco (Chlorophyta). *Biol. Res.*, 3: 423-430. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602001000100012>.

Gómez, A. 1999. *Los recursos marinos renovables del estado Nueva Esparta, Venezuela*. Tomo I. Invertebrados y algas. Organización Gráficas Capriles, Caracas. Venezuela.

Guedes, A. y Malcata, F. 2012. Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture, *Aquaculture*, Dr. Zainal Muchlisin (Ed.), ISBN: 978- 953-307-974-5, In Tech, En: [http://www.intechopen.com/books/aquaculture/nutritional\\_value\\_and\\_uses\\_of\\_microalgae](http://www.intechopen.com/books/aquaculture/nutritional_value_and_uses_of_microalgae) in aquaculture.

Guevara, M.; Arredondo-Vega, B.; Palacios, Y.; Saéz, K. y Gómez, P. 2016. Comparison of growth and biochemical parameters of two strains of *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae) cultivated under different combinations of irradiance, temperature and nutrients. *J. Appl. Phycol.*, págs. 1-10.

Guillard, R. y Ryther, J. 1962. Studies of marine planktonic diatoms I. *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran ("F" medium). *Can. J. Microbiol.*, 8: 229-239.

Hemaiswarya, S.; Raja, R.; Kumar, R.; Ganesan, V y Anbazhagan, C. 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World J. Microb. Biot.*, 27: 1737-1746.

Helm, M.; Bourne, N. y Lovatelli, A. (comp./ed.). 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471. Roma, FAO. Pág. 184.

Jiménez, M.; Lodeiros, C. y Márquez, B. 2000. Captación de juveniles de la madre perla *Pinctada imbricata* con colectores artificiales en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Carib. J. Sc.*, 36: 221-226.

Knauer, J. y Southgate, P. 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. *Rev. Fish. Sci.*, 7: 241-280.

Labarta, U., Fernández-Reiriza, M. y Pérez-Camacho, A. 1999. Energy, biochemical substrates and growth in the larval development, metamorphosis and postlarvae of *Ostrea edulis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 238: 225-242.

Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, 361: 1-305.

Lebeau, T.; Robert, J. 2003. Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part I: Cultivation at various scales. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60: 612-623.

Lemus, N.; Urbano, T.; Arredondo-Vega, B.; Guevara, M.; Vásquez, A.; Carreón-Palau, L. y Vallejo, N. 2006. Crecimiento y perfil bioquímico de *Chaetoceros muelleri* cultivadas en sistemas discontinuo y semicontinuo. *Cienc. Mar.*, 23(3): 597-603.

Lodeiros, C. y Freites, L. 2008. Estado actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. En: *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. Págs. 135-150.

Lodeiros, C.; Marin, B. y Prieto, A. 1999. *Catálogo de moluscos marinos de las costas nororientales de Venezuela*: Clase Bivalvia. Edición APUDONS. Venezuela.

Lodeiros, C.; Freites, L.; Márquez, A.; Glem, M.; Guevara, M. y Saucedo, P. 2016. Comparative growth and survival of spat of the Caribbean pearl oyster, *Pinctada imbricata* cultivated indoor with microalgae diets and outdoor with natural diet. *Aquac. Nutr.*, 22: 1-10.

Lodeiros, C.; Pico, D.; Prieto, A.; Narváez, N. y Guerra, A. 2002. Growth and survival of the pearl oyster *Pinctada imbricata* (Roding, 1758) in suspended and bottom culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquacult. Internat.*, 10(4): 327-339.

Lowry, O.; Rosebrough, H.; Farr, A. y Randall, R. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.

Madigan, M.; Martinko, J. y Parker, J. 1999. *Biología de los microorganismos*. Octava edición. Prentice Hall, Madrid.

Makenzie, C.; Troccoli, L. y León, L. 2003. History of the Atlantic pearl-oyster, *Pinctada imbricata*, industry in Venezuela and Colombia, with biological and ecological observations. *Mar. Fish. Rev.*, 65: 1-20.

Matias, D.; Joaquim, S.; Ramos, M.; Sobral, P. y Leita, A. 2011. Biochemical compounds' dynamics during larval development of the carpet-shell clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758): effects of mono-specific diets and starvation. *Helgol. Mar. Res.* 65: 369-379.

Milke, L.; Bricelj, V.; y Parrish, C. 2004. Growth of postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*, on microalgal diets, with emphasis on the nutritional role of lipids and fatty acids. *Aquacult.* 234: 293-317.

Milke, L.; Bricelj, V. y Parrish, C. 2006. Comparison of early life history stages of the bay scallop, *Argopecten irradians*: Effects of microalgal diets on growth and biochemical composition. *Aquacult.* 260: 272-289.

Morineau, T.; Legentilhomme, P.; Jaouen, P.; Lepine, B. y Rince, Y. 2001. Influence of a swirl motion on the interaction between microalgal cells and environmental medium during ultrafiltration of a culture of *Tetraselmis suecica*. *Biotechnol. Lett.*, 23: 1539-1545.

Nevejan, N.; Saez, I.; Gajardo, G. y Sorgeloos, P. 2003. Energy vs. Essential fatty acids: what do scallop larvae (*Argopecten purpuratus*) need most. *Comp. Biochem. Physiol.*, Part B. 134: 599-613.

Pacheco, J. 2010. Evaluación de la producción de ácidos grasos altamente insaturados de la microalga *Chaetoceros muelleri* por efecto de la concentración y el tipo de nutrientes en el medio de cultivo y su efecto en Zoeas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento de Biología Marina.

Pande, S.; Khan, R. y Venkitesubra, T. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Anal. Biochem.*, 6: 415-423.

Patil, V.; Källqvist, T.; Olsen, E.; Vogt, G. y Gislerød, H. 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquacult. Int.* 15:1-9.

Pernet, F.; Bricelj, V. y Parrish, C. 2005. Effect of varying dietary levels of  $\omega 6$  polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop, *Placopecten magallanicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 327: 115-133.

Pernet, F. y Tremblay, R. 2004. Effect of varying dietary levels of  $\omega 6$  polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop *Placopecten magallanicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 327: 115 -133.

Persoone, G. y Claus, C. 1980. Mass culture of algae: A bottleneck in the nursery culturing of molluscs. En: *Algae Biomass* (ed). G. Shoeder, y Elsevier, Amsterdam. Págs. 265-285.

Piña, P.; Medina, M.; Nieves, M.; Leal, S.; Lopez-Elias, J. y Guerrero, M. 2007. Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. *Rev. Invest. Mar.*, 28(3): 225-236.

Ponis, E. Probert, L. Veron, B. Mathieu, M. y Robert, R. 2006. New microalgae for the pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Aquacult.* 253: 618-627.

Raymont, J.E.G. 1980. *Plankton and Productivity in the oceans*. Volume 1: Phytoplankton. Oxford.

Reitan, K. 2011. Digestion of lipids and carbohydrates from microalgae (*Chaetoceros muelleri* Lemmermann and *Isochrysis aff. galbana* clone T-ISO) in juvenile scallops (*Pecten maximus* L.). *Aq. Res.*, 42: 1530-1538.

Renaud, S., Luong-Van, T., Lambrinidis, G. y Parry, D. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquacult.* 211: 195-214.

Richmond, A. 1980. Phototrophic Microalgae. *Biotechnol.* 3: 111-143.

Ronquillo, J.; Matias, J.; Saisho, T y Yamasaki, S. 1997. Culture of *Tetraselmis* sp. and its utilization in the hatchery production of different penaeid shrimps in Asia. *Hidrobiologia.* 358: 237-244.

Rupp, G.; Oliveira, F. y Guzenski, J. 2008. Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos en la región sudeste-sur de Brasil. *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO *Actas de Pesca y Acuicultura*. No. 12. Roma, FAO. Págs. 77-89.

Sandnes, J.; Kallqvist, D.; Wenner, D. y Gislerod, H. 2005. Combined influence of light and temperature on growth rates of *Nannochloropsis oceanica*: linking cellular responses to large-scale biomass production. *J. Appl. Phycol.*, 17: 515-525.

Sánchez-Lazo, C. y Martínez-Pita, I. 2014. Effects of different mono, bi and trispecific microalgal diets on survival, growth, development, settlement and fatty acid composition of mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) larvae. *Aquacult.* 426-427:138-147.

Sato, N. y Murata, N. 1988. Membrane Lipids. *Method. Enzimol.*, 167: 251-259.

Saucedo, P.; Ormart-Castro, P. y Osuna-García, M. 2007. Towards development of large-scale hatchery cultivation of larvae and spat of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* in Mexico. *Aquacult.* 273: 478-486.

Sargent, J.; Henderson, R. y Tocher, D. 1976. *The lipids in fish nutrition.* Academic press. New York, USA. 153-218.

Sergeant, J.; McEvoy, L. y Bell, J. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acid in marine fish larval feeds. *Aquacult.* 155: 117-127.

Shelef, G. y Soeder, C. 1980. Algae biomass. En: *Production and use.* Shelef, G. y Soeder, J. (eds). Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam. Págs. 7-11.

Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E. y Isambert, E. 2006. Review Commercial Applications of Microalgae. *J. Biosci. Bioeng.*, 101 (2): 87-96.

Southgate, P. 2003. Feeds and fed production. En: Lucas, J. y Southgate, P. (eds). *Aquaculture: Farming aquatic animals and plants*, Blackwell Publishing, Oxford. Págs. 172-198.

Sokal, R. y Rohlf, F. 1995. *Biometry.* Ed. W. Freeman. New York.

Trujillo, M. 1993. *La colección de microalgas del CICESE.* Centro de Investigación Científica y de la Educación Superior de Ensenada, México, Comunic. Acad. CIICT 9301.

Uriarte, I., Farías, A., Hernández, J., Schäfer, C. y Sorgeloos, P. 2004. Reproductive conditioning of Chilean scallop (*Argopecten purpuratus*) and the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): effects of enriched diets. *Aquacult.*, 230: 349-357.

Uriarte I, Rupp G, Abarca A. 2001. Producción de juveniles de pectínidos iberoamericanos bajo condiciones controladas. En: Maeda-Martínez AN (ed.), Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Limusa, México. Págs. 147-171.

Valenzuela, A. y Nieto, S. 2003. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: Su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual. *Revista Chilena Pediatría.* 74: 149-157.

Vallejo, N. 2006. Crecimiento y perfil de ácidos grasos de las microalgas autóctonas *Chaetoceros* sp. y *Tetraselmis* sp. en función de la intensidad luminosa y medios de cultivos. Trabajo de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.

Velasco, L.; Barros, J.; Trujillo, C.; Gómez, J.; Arias, L.; Hernández, R. y Rojas, J. 2011. State of shellfish aquaculture on the Caribbean coast of Colombia and potential site for a regional hatchery facility. En: A regional shellfish hatchery for the Wider Caribbean: Assessing its feasibility and sustainability (Lovatelli, A. y Sarkis, S. eds) FAO Regional Technical Workshop. 18-21 October 2010, Kingston, Jamaica. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings. No. 19. Rome, FAO. 2011. Págs. 119-132.

Vélez, A.; Alifa, E. y Freites, L. 1993. Inducción a la reproducción en la vieira *Pecten ziczac* (Mollusca: Bivalvia). Maduración y Desove. *Caribb. J. Sci.*, 29: 209-213.

Vivanco, G.; Oliva, D. y Abarca, A. Efecto de dietas en base a microalgas tradicionales, nativas y dietas artificiales sobre el crecimiento y supervivencia en larvas velígeras de la almeja taquilla, *Mulinia edulis*. *Rev. Bio. Mar.*, 49: 339-349.

Whotton, B. 1992. Photosynthetic prokaryotes. En: Man, N., Carr, N. (eds.), Plenum Press, New York (USA), págs. 1-51.

## APÉNDICES

Apéndice 1. Resumen del análisis de varianza correspondiente a la longitud de la concha de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	2,33513	2	0,16757	0,37	0,6993
Intra grupos	41,2835	13	3,17566		
Total	43,6187	15			

Apéndice 2. Resumen del análisis de varianza correspondiente al ancho de la concha de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	0,393185	2	0,196593	0,06	0,9459
Intra grupos	42,1875	12	3,51563		
Total	42,5807	14			

Apéndice 3. Resumen del análisis de varianza correspondiente a la tasa de crecimiento de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	0,00378337	2	0,00189168	0,04	0,9628
Intra grupos	0,64709	13	0,0497762		
Total	0,650874	15			

Apéndice 4. Resumen del análisis de varianza correspondiente a la supervivencia de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	1352,0	2	676,0	26,34	0,0011
Intra grupos	154,0	6	25,6667		
Total	1506,0	8			

Apéndice 5. Resumen del análisis de multifactorial correspondiente a la supervivencia de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Método: 95,0 % LSD

Dietas	Contados	Media	Grupos
<i>C. muelleri</i> .	2	56,0	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	2	70,0	X
<i>T. chuii</i> + <i>C. muelleri</i>	2	86,0	X

Apéndice 6. Resumen del análisis de varianza correspondiente al contenido de proteína (% con base a biomasa seca) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	32,0982	2	16,0491	18,98	0,0025
Intra grupos	5,07365	6	0,845608		
Total	37,1718	8			

Apéndice 7. Resumen del análisis de multifactorial correspondiente al contenido de proteína (% con base a biomasa seca) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Método: 95,0 % LSD

Dietas	Contados	Media	Grupos
<i>C. muelleri</i>	3	11,3514	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	12,4714	X
<i>T. chuii</i> . + <i>C. muelleri</i>	3	15,7983	X

Apéndice 8. Resumen del análisis de varianza correspondiente al contenido de lípidos (% con base a biomasa seca) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	1,6889	2	0,844452	7,39	0,0241
Intra grupos	0,685359	6	0,114227		
Total	2,37426	8			

Apéndice 9. Resumen del análisis de multifactorial correspondiente al contenido de lípidos (% con base a biomasa seca) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Método: 95,0 % LSD

Dietas	Contados	Media	Grupos
<i>C. muelleri</i>	3	11,3514	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	12,4714	X
<i>T. chuii.</i> + <i>C. muelleri</i>	3	15,7983	X

Apéndice 10. Resumen del análisis de varianza correspondiente al contenido de carbohidratos (% con base a biomasa seca) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Fuente	Sc	Gl	Mc	F-Exp	Valor-P
Entre grupos	2,69782	2	1,34891	12,07	0,0079
Intra grupos	0,67043	6	0,111738		
Total	3,36826	8			

Apéndice 11. Resumen del análisis de multifactorial correspondiente al contenido de carbohidratos (% con base a biomasa seca) de las larvas de *Pinctada imbricata* alimentadas con dietas simple y mixta de las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Chaetoceros muelleri*.

Método: 95,0 % LSD

Dietas	Contados	Media	Grupos
<i>C. muelleri</i>	3	4,26382	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	4,83871	XX
<i>T. chuii</i> + <i>C. muelleri</i>	3	35,32365	X

# **HOJAS DE METADATOS**

## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE DOS MICROALGAS NATIVAS DE LAS COSTAS ORIENTALES DE VENEZUELA PARA SER USADAS COMO ALIMENTO DE LARVAS DE LA OSTRERA PERLA <i>Pinctada imbricata</i> , Röding 1798 (MOLLUSCA: PTERIDAE)
<b>Subtítulo</b>	

#### Autor (es):

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
González Rojas Saidelis del Valle	<b>CVLAC</b>	17.623.025
	<b>e-mail</b>	Saidelis19@gmail.com
	<b>e-mail</b>	
Cortez Roraysi	<b>CVLAC</b>	12 660 815
	<b>e-mail</b>	roraysi@gmail.com
	<b>e-mail</b>	
Freites Luis	<b>CVLAC</b>	4 181 869
	<b>e-mail</b>	lfreites@yahoo.com
	<b>e-mail</b>	

#### Palabras o frases claves:

Microalgas, Fotoperiodos, Irradiancia, Dietas
---

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

## Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Departamento de Biología

## Resumen (abstract):

El crecimiento y la composición bioquímica de las microalgas nativas *Tetraselmis chuii* (Cepa Golfo) y *Chaetoceros muelleri* (cepa Araya) fueron evaluadas para su uso como alimento de larvas de la ostra *Pinctada imbricata*. Los cultivos de las microalgas se realizaron en ambiente controlado (irradiancia de  $100 \mu\text{moles m}^2\text{s}^{-1}$ ,  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y aireación de 200 ml.min), por triplicado, durante ocho días, en matraces de 3 l de capacidad, conteniendo 2,5 l de medio F/2 Guillard. Las máximas densidades celulares alcanzadas por *T. chuii* y *C. muelleri* fueron 526250 cel.ml y 3190000 cel.ml, respectivamente. Los mayores valores de proteínas, lípidos y carbohidratos se obtuvieron en *C. muelleri* con porcentajes de 53,5%, 25% y 15%, respectivamente; mientras que en *T. chuii*. Los contenidos de estas macromoléculas fueron 49%, 18% y 12%. Los ácidos grasos poliinsaturados mostraron proporciones similares en ambas microalgas (28%). Los ácidos grasos esenciales: ARA, EPA y DHA en *C. muelleri* presentaron contenidos de 3,6%; 12,1% y 7%, respectivamente; mientras que en *T. chuii*, destacó el ácido EPA con un 5,2% y el ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3n-3) con 17,1%. La tasa de supervivencia de las larvas de *P. imbricata* presentó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) con las distintas dietas suministradas, presentando el mayor porcentaje las larvas que se les proporcionó la dieta mixta (86%), seguido por las alimentadas con *T. chuii* (70%) y por último los organismos alimentados con *C. muelleri* (56%). Los componentes bioquímicos de las larvas de *P. imbricata* mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las diferentes dietas microalgales, siendo las larvas alimentadas con la dieta mixta las que presentaron mayores contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos. Estos resultados evidencian la potencialidad de las mezclas de microalgas nativas *T. chuii* y *C. muelleri* como una alternativa para la alimentación y nutrición de larvas de *P. imbricata*.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Cortez Roraysi	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	12 660 815
	e-mail	roraysi@gmail.com
	e-mail	
Freites Luis	ROL	CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	4 181 869
	e-mail	lfreites@yahoo.com
	e-mail	
Gómez Olga	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	9 276 655
	e-mail	Elelea2001@gmail.com
	e-mail	
Zapata Edgar	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	12 269 219
	e-mail	ezapata@edo.edu.ve
	e-mail	

### Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2018	07	17

Lenguaje: SPA

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

### Archivo (s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-Gonzalezsaidelis.doc	Word 2013

### Alcance:

**Espacial:** Nacional(Opcional)

**Temporal:** Temporal(Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciada en Biología

### Nivel Asociado con el Trabajo:

Licenciada

### Área de Estudio:

Biología

### Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Letdo el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

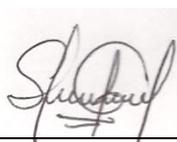
UNIVERSIDAD DE ORIENTE SISTEMA DE BIBLIOTECA	Cordialmente,		
RECIBIDO POR <i>[Signature]</i>			
FECHA <i>5/8/09</i> HORA <i>5:30</i>		JUAN A. BOLAÑOS CUNELE	SECRETARIA CONSEJO UNIVERSITARIO
		Secretario	

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

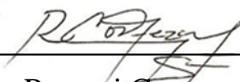
## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):** “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



---

Saidelis del V. González R.  
AUTORA



---

Roraysi Cortez  
Asesora



---

Luis Freites  
coasesor