

An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín	23	199 - 203	Santa Marta-Colombia, 1994	ISSN 0120-3959
------------------------------------	----	-----------	----------------------------	----------------

## NOTA

### **EVALUACION DE DIFERENTES DENSIDADES DE LA MICROALGA NANNOCHLOROPSIS OCLATA COMO ALIMENTO PARA ARTEMIA**

*Rafael Tizol Correa*

#### ABSTRACT

Laboratory experiments were carried out to determine the possibility of using the microalgae *Nannochloropsis oculata* as a food source for brine shirmp. Among the range concentrations studied ( $3 \times 10^5$  to  $14 \times 10^5$  cells/ml),  $12 \times 10^5$  cells/ml offered the best results of survival and growth rate and it is recommended as the most effective. From correlation matrix, high values ( $r > 0.90$ ;  $a = 0.05$ ) were obtained for the relation of microalgae concentration and survival, growth rate and the variation of average lenght. The minimum cellular concentration of microalgae which is necessary for brine shrimp culture is  $5.6 \times 10^5$  cells/ml.

Un grupo numeroso de alimentos inertes y vivos, han sido utilizados con éxito para el cultivo de *Artemia* hasta etapas adultas, entre los que se encuentran el salvado de arroz y soya, harina de pescado, yema de huevo, etc, además de un amplio grupo de microalgas y levaduras (Dobbeleir, *et al*, 1980).

Un elevado número de especies de algas han sido empleadas para la alimentación de *Artemia*, sin embargo es recomendable determinar las posibilidades de las cepas de algas que se utilizan, ya que las especies de algas difieren altamente entre sí. Varios procedimientos pueden emplearse para estas observaciones como análisis de composición química, ensayos de crecimiento y supervivencia. Además es importante conocer la densidad mínima celular a la cual se de tiene la ingestión de algas, para así garantizar el alimento necesario en todas las etapas de crecimiento. El presente estudio está orientado a esclarecer estos aspectos con respecto al alga *Nannochloropsis oculata* con el objetivo de su uso posterior en el cultivo de *Artemia*, considerando la alta disponibilidad de la misma en la Estación de Cultivo

del Centro de Investigaciones Pesqueras.

Para evaluar las densidades adecuadas de la microalga *Nannochloropsis oculata* como alimento, se realizaron dos experimentos con diferentes densidades. El primero con rangos entre  $3 \times 10^5$  cel/ml hasta  $9 \times 10^5$  cel/ml, con diferencia entre las mismas de  $1 \times 10^5$  (Experimento I). Esta variante no arrojó los resultados esperados de crecimiento y supervivencia, por lo que realizó una segunda corrida con densidades entre  $8 \times 10^5$  y  $14 \times 10^5$  cel/ml (Experimento II).

Las experiencias se llevaron a cabo con tres réplicas en un laboratorio con temperatura controlada de  $25^\circ\text{C}$  y una salinidad de 35 o/oo. El local estaba iluminado con lámparas fluorescentes de 20 watts con un fotoperíodo de  $12 \times 12$  horas de luz-oscuridad. Placas petri con 25 ml de suspensión de algas a las densidades estudiadas incluyendo un control sin algas fueron inoculadas con 10 nauplios recién eclosionados, los cuales fueron mantenidos por las mismas por un período de 7 días, según la metodología descrita por Sorgeloos, et al (1986).

Una vez transcurridos los 7 días se controlaron los organismos restantes, fijados previamente con solución lugol. Se le midió el largo total, calculando posteriormente el largo medio para cada una de las concentraciones estudiadas, la desviación standar, el porcentaje de supervivencia y la tasa de crecimiento diario (mm/día). Se aplicó una matriz de correlación para un 95 % de confiabilidad a los datos finales de concentración, largo medio, supervivencia y tasa de crecimiento para conocer la relación entre los mismos.

A fin de determinar la concentración mínima celular a la cual se detiene la ingestión de algas en cultivos de *Artemia*, se realizó un experimento en probetas de 2 l, con 3 réplicas. En las misma se colocaron 3000 nauplios en estadio II con aireación suave, en una suspensión de algas con una densidad inicial de  $1.6 \times 10^6$  cel/ml.

Se llevaron a cabo mediciones de la densidad celular cada 10 minutos, hasta que no se registraron caídas significativas en la misma. Este valor al cual los niveles de ingestión se detienen es específico para cada especie de microalga y se considera como la concentración mínima celular necesaria para un adecuado desarrollo de *Artemia* (Sorgeloos, et al, 1986).

Las muestras para la determinación de las densidades de células se tomaron con una pipeta Pasteur, llevándose a cabo dos conteos por muestra en una cámara Neubauer utilizando un microscopio con objetivo de 40 aumentos.

En el experimento I, los mayores valores de supervivencia correspondieron a las densidades de  $8 \times 10^5$  cel/ml y  $9 \times 10^5$  cel/ml (50 y 66 % respectivamente) (Tabla 1). A partir del tercer día se empezaron a observar altas mortalidades, al quinto día en el control y al sexto en las de  $3 \times 10^5$  cel/ml todos los organismos habían muerto. Para las densidades de  $4 \times 10^5$  y  $7 \times 10^5$  cel/ml, aunque no ocurrió una mortalidad total, se reportó un bajo número de organismos vivos al final del

Tabla 1. Valores de supervivencia (%), largo medio final (mm), desviación standard y tasa de crecimiento (mm/día).

EXPERIMENTO I	DENSIDADES (x 10 <sup>5</sup> cel/ml)							
	0	3	4	5	6	7	8	9
SUPERVIVENCIA	0	0	6.6	3.3	16	40	50	66
LARGO MEDIO	0.64	0.74	0.98	0.88	1.13	1.75	1.84	1.88
DS	.0723	.0086	.0152	.0503	.1178	.0556	.0450	.0416
TASA DE CREC.	0.091	0.106	0.14	0.126	0.164	0.25	0.263	0.268

  

EXPERIMENTO II	DENSIDADES (x 10 <sup>5</sup> cel/ml)							
	0	8	9	10	11	12	13	14
SUPERVIVENCIA	0	63	76.6	93	96	96	93	93
LARGO MEDIO	0.58	1.9	1.92	1.94	2.73	2.84	2.8	2.68
DS	.0305	.0458	.0351	.0306	.0252	.0351	.0209	.0352
TASA DE CREC.	0.083	0.271	0.274	0.277	0.39	0.406	0.4	0.383

experimento.

Los mayores valores de la tasa de crecimiento y el largo medio se obtuvieron en las densidades más altas, con un máximo en  $9 \times 10^5$  cel/ml. Se realizó una segunda corrida aumentando las densidades, con un rango entre  $8 \times 10^5$  y  $14 \times 10^5$  cel/ml (Experimento II).

Como en el experimento inicial, a partir del tercer día se registraron altas mortalidades en el control, que al final del estudio incluyó la totalidad de los organismos. Los mayores porcentajes de supervivencia se reportaron en las densidades de  $11 \times 10^5$  y  $12 \times 10^5$  cel/ml (96 %) aunque se obtuvieron índices superiores al 90 % a partir de  $10 \times 10^5$  cel/ml. Con referencia al largo medio final los mejores valores se presentaron en las densidades entre  $11 \times 10^5$  y  $14 \times 10^5$  cel/ml con un máximo entre las de  $12 \times 10^5$  y  $13 \times 10^5$  cel/ml. Igual comportamiento se encontró con respecto a la tasa de crecimiento.

Teniendo en cuenta que se obtuvieron altos índices de supervivencia y crecimiento de los nauplios en densidades mayores a los  $10 \times 10^5$  cel/ml, se puede concluir que el alga *Nannochloropsis oculata* es un alimento adecuado para este organismo a los niveles de densidad de algas estudiados.

Considerando que los mejores valores de supervivencia, tasa de crecimiento y largo medio final se alcanzaron con densidades entre  $12 \times 10^5$  cel/ml y  $13 \times 10^5$  cel/ml, es posible recomendar las mismas como las más efectivas para este cultivo.

Altos valores de coeficiente de correlación se obtuvieron entre la densidad y el largo medio, la tasa de crecimiento y la supervivencia (Tabla 2). El menor valor

Tabla 2. Matriz de correlación entre la densidad de microalgas, el largo medio, la supervivencia y la tasa de crecimiento ( $\alpha = 0.05$ )

	DENSIDAD		TASA DE CREC.	LARGO MEDIO
SUPERVIVENCIA				
DENSIDAD	1	-	-	-
TASA DE CREC.	0.9578	1	-	-
LARGO MEDIO	0.9578	0.9999	1	-
SUPERVIVENCIA	0.9329	0.9582	0.9585	-

de coeficiente de correlación se obtuvo en la comparación entre la densidad y la supervivencia, debido fundamentalmente a que los valores de supervivencia son máximos en las densidades de  $11 \times 10^5$  y  $12 \times 10^5$  cel/ml y una disminución de la misma se observa a niveles superiores.

Se debe señalar, que en la densidad de  $12 \times 10^5$  cel/ml, convergen los mayores valores de la supervivencia, el largo medio y la tasa de crecimiento, lo que permite recomendar la misma como la más adecuada para el cultivo de *Artemia* cuando se usa esta microalga como alimento. Experiencias de cultivo con *Chlorella* sp. una microalga de características muy similares a la estudiada por su tamaño para alimentar *Artemia* utilizaron densidades de  $1.14 \times 10^6$  cel/ml con buenos resultados (Sotolongo, 1988), mientras que para lograr rendimientos satisfactorios con *Dunaliella tertiolecta*, se emplearon densidades entre 7 y  $10 \times 10^4$  cel/ml (Coutteau *et al*, 1990), cosechas de hasta 25 kg de peso humedo/m<sup>3</sup>, se han logrado con densidades celulares de  $4.5 \times 10^4$  del alga *Chaetoceros curvictetus* (Sorgeloos, 1985) aunque ambas microalgas presentan un tamaño superior a la utilizada por nosotros.

En la tabla 3, se ofrecen los valores de las lecturas de la densidad de algas en el experimento de concentración mínima celular. En los mismos se observa una estabilización de las lecturas en una concentración al rededor de las  $5.6 \times 10^5$  cel/ml, donde los niveles de ingestión se detienen, por lo que podemos señalar este valor como la densidad mínima celular de *Nannochloropsis oculata* para el cultivo de esta especie. Este valor reviste un carácter específico para cada especie de alga y está dado básicamente por las dimensiones celulares. Para *Nannochloropsis oculata*, este valor se encuentra al rededor de 5000 cel/ml (Sorgeloos, *et al*, 1986) debido a que el tamaño de la célula es mayor que la estudiada en el presente trabajo.

Experiencias de cultivo con *Chlorella* sp. una microalga de características muy similares a la estudiada por su tamaño para alimentar *Artemia* utilizaron densidades de  $1.14 \times 10^6$  cel/ml con buenos resultados (Sotolongo, 1988), mientras que para lograr rendimientos satisfactorios con *Dunaliella tertiolecta*, se emplearon

Tabla 3. Variación de la densidad celular en el tiempo

TIEMPO (min)	0	10	20	30	40	50	60
DENSIDAD CELULAR ( x 10 <sup>6</sup> cel/ml)	1.5	0.9	0.63	0.59	0.56	0.56	0.55

densidades entre 7 y 10 x 10<sup>4</sup> cel/ml (Coutteau *et al*, 1990). Cosechas de hasta 25 kg de peso húmedo/m<sup>3</sup>, se ha logrado con densidades celulares de 4.5 x 10<sup>4</sup> cel/ml del alga *Chaetoceros curvictetus* (Sorgeloos, 1985) aunque ambas microalgas presentan un tamaño superior a la utilizada por nosotros.

### BIBLIOGRAFIA

- Coutteau, P., P. Lavens y P. Sorgeloos. 1990. Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: *Artemia* a case study. Jour. World Aquacul. Soc., 21(1). pag. 1-9.
- Dobbeleir, J., N. Adam, E. Bossuyt, E. Bruggeman y P. Sorgeloos. 1980. New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp. The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Universa Press, Wetteren, Belgium. Pag. 165-174.
- Sotolongo, M.E. 1988. The evaluation of various diets for optimal growth and survival of different life stages of *Artemia*. General Aquaculture Course. Study Report. Kanagawa International Fisheries Training Centre. JICA. Kanagawa, Japón. Pag. 73-78.
- Sorgeloos, P. 1985. Potential of converting microalgae into brine shrimp *Artemia*. Arch. Hydrobiol. Beih. 20. Pag. 25-32.
- Sorgeloos, P., P. Lavens, P. Leger, W. Tackaert y D. Versichele. 1986. Manual para el cultivo y uso de *Artemia* en la acuicultura. FAO, Documento de Campo, 10. Pag. 170-174.

#### DIRECCION DEL AUTOR

Subdirección de Maricultivo, Centro de Investigaciones Pesqueras, Barbovento, Santa Fé, Playa, La Habana, CUBA.