

Efecto de la reducción de salinidad sobre la tolerancia a altas temperaturas en la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, 1981.

L. Álvarez-Lajonchère¹, O.G. Hernández Molejón²,
A. Comas González³, V. Martínez Almeida³
y B. Lozano León³

¹Delegación Provincial Ciudad de La Habana, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Cuba.

²Combinado Pesquero Industrial de Casilda, Sancti Spiritus, Cuba.

³Jardín Botánico de Cienfuegos, Pepito Tey, Cienfuegos, Cuba.

Álvarez-Lajonchère, L., O.G. Hernández Molejón, A. Comas González, V. Martínez Almeida y B. Lozano León, 1996. Efecto de la reducción de salinidad sobre la tolerancia a altas temperaturas en la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, 1981. *Hidrobiológica* 6 (1-2): 39-42.

RESUMEN

Experimentalmente se determinó que la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, 1981, incrementa su tolerancia a las altas temperaturas con una disminución de la salinidad. Se obtuvo un mejor crecimiento a 31 y 33°C con salinidades de 25 y 20‰, en ese orden, mientras que la cepa japonesa empleada no resiste su cultivo a 35°C con salinidades entre 20 y 35‰. Se pueden estimar rendimientos entre 3.7 y 6.5 g/m²/día con la cosecha del 33% del cultivo, lo cual debe incrementarse con la mayor intensidad de luz a la intemperie y el uso del CO₂.

Palabras clave: Microalgas, parámetros ambientales, acuicultura, *Nannochloropsis oculata*.

ABSTRACT

It was experimentally determined that the tolerance to high temperature of the microalgae *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, 1981 was increased by lowering the salinity. A better growth at 31 and 33°C was obtained with salinities of 25 and 20‰ in that order, while the Japanese strain used did not resist cultivation at 35°C with salinities between 20 and 35‰. Yields between 3.7 and 6.5 g/m²/day with a 33% culture harvest were estimated, which should be increased with the outdoor higher light intensity and the use of CO₂.

Key words: Microalgae, environmental parameters, aquaculture, *Nannochloropsis oculata*.

INTRODUCCIÓN

Entre las microalgas que se utilizan como alimento de los rotíferos en maricultura destaca la eustigmatofícea *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, 1981 (Watanabe *et al.*, 1983; Fukusho, 1985; Fulks y Main, 1991; Lee *et al.*, 1993) y es una de las pocas entre las cultivadas en agua salada en Cuba que tolera su cultivo a la intemperie por los métodos tradicionales semi-continuos y de cosechas totales ("batch") (Hernández Molejón *et al.*, en prensa a).

Hernández Molejón *et al.* (en prensa b) determinaron que en medio sólido la temperatura mas adecuada para *N. oculata* fue de 31°C, la cual es inferior a la que puede encontrarse en depósitos a la intemperie con menos de 1 m de profundidad en Cuba; sin embargo, en Japón esta especie desaparece a menudo en aguas con temperaturas de más de 30°C y el intervalo óptimo de temperatura para su crecimiento es de 24 a 25°C, según Kuronuma y Fukusho (1984).

Con el objetivo de incrementar la eficiencia del cultivo de *N. oculata*, lo cual fue propuesto por Fukusho (1989) y a la vez continuar su evaluación para el cultivo intensivo exterior, así como las modificaciones de las técnicas de cultivo para su optimización, se realizó el presente trabajo para valorar la influencia de la disminución de la salinidad en su tolerancia a altas temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio del Jardín Botánico de Cienfuegos con una unidad de cultivo de medio líquido de Lukavsky (1982). La temperatura, intensidad de luz y salinidad se determinaron con una precisión de 0.1°C, 100 lux y 0.02‰, respectivamente. Se utilizó un régimen de 24 h de luz continua y cada uno de los frascos Tamiya de cultivo con 500 ml de medio "h/2" (Guillard, 1975) recibió, a través de un área de 104 cm², una iluminación de 20,000 Lux.

La microalga empleada fue una cepa de *Nannochloropsis oculata* procedente del Centro de Maricultura de Naikai de la Prefectura de Yamaguchi, Japón, introducida en 1988, con la cual se realizaron tres series experimentales de 6 días de duración cada una, probando una temperatura cada vez (31, 33 y 35°C) con cuatro frascos de cultivo, cada uno con una salinidad: 35, 30, 25 y 20‰.

Diariamente se determinó la densidad de células con una cámara hemocitómetro Neubauer mejorada y al final de cada serie experimental se midió el largo y el ancho a 30 células por frasco de cultivo con el micrómetro ocular de un microscopio binocular con 1.55 micrómetros de precisión. Con esos datos se calculó el volumen celular con la ecuación de Javarnicky *et al.* (1976) para la elipsoide y el peso celular con el nomograma de Chislienko (1968).

Para el análisis estadístico de los datos se aplicaron análisis de varianza de dos variables de clasificación y prueba Duncan de existir diferencias con un nivel de significación de 0.05 en las determinaciones morfométricas y se aplicó la ecuación de la elipse para encontrar la mejor combinación de la temperatura y la salinidad para el crecimiento de la cepa (Lerch, 1977).

RESULTADOS

En los experimentos de temperatura y salinidad se pudo observar que los mejores resultados se lograron a 31°C (Fig. 1) y 25‰ de salinidad con 75 x 10⁵ células/ml; después le siguieron 31°C y 20‰ y finalmente 33°C y 25‰ y 33°C y

20‰. Con los datos obtenidos de las concentraciones de células, las temperaturas y las salinidades se ajustó la regresión múltiple de la elipse:

$$C = A.S^2 + B.T^2 + C.ST + D.S + E.T + F$$

Donde S = Salinidad

T = Temperatura

Los resultados obtenidos respecto a los parámetros de la ecuación fueron:

A = 0.6782	E = 246.0912
B = -3.9469	F = -3817.7277
C = 0.1235	r ² = 0,9140
D = 0.6782	r ² (adj.) = 0.8422
	Z = 0°55' y 10.06"

Con esta ecuación fue posible calcular la mejor combinación de temperatura y salinidad que se encontró en el centro de la elipse: X = 22.79‰ y Y = 31.53°C. Los rendimientos más pobres se obtuvieron en los cultivos a 35°C en los cuales se observó células muy turgentes y grandes, cloroplastos no muy bien definidos, citoplasma vacuolado y agrupaciones de células muertas formando grumos.

En los estudios morfométricos sólo se encontraron diferencias significativas (P < 0.05) entre el largo (3.68 ± 0.14 µm), ancho (2.94 ± 0.11 µm) y el volumen (17.22 ± 1.15 µm³) de las células a 31 y 33°C respecto al largo (4.34 ± 0.13 µm), ancho (3.96 ± 0.14 µm) y el volumen (35.11 ± 3.17 µm³) de las células a 35°C. No se detectaron diferencias debidas a las salinidades empleadas.

Al combinar el peso estimado para 1 x 10⁶ células de *N. oculata* (4.3 ± 1.2 µg) cultivadas a menos de 35°C de Hernández *et al.* (en prensa b), el área de iluminación de los frascos de cultivo y las densidades máximas alcanzadas a los 6 días a 25‰ de salinidad y 31 y 33°C de temperatura, se puede estimar una productividad entre 3.7 y 6.5 g/m² / día en un cultivador de capa fina (5 cm) con una intensidad de 20,000 lux, una cosecha diaria del 33% del volumen y sin suministro de CO₂.

DISCUSIÓN

Se confirmó el reporte de Fukuhara (1987) para la cepa introducida en Cuba, de que la reducción de la salinidad aumenta la tolerancia a la temperatura, lo cual es evidente

en el experimento a 31°C y sobre todo a 33°C (Fig. 1). Se determinó que la mejor salinidad de las probadas fue 25‰ seguida de 20‰ y que la cepa empleada no resiste los 35°C, al menos en las salinidades ensayadas. James *et al.* (1989) mostraron que la cepa de *Nannochloropsis* sp. (MFD-2) aislada por ellos en Kuwait, presentó un leve crecimiento a 35°C.

La aplicación de la regresión múltiple de la elipse permitió estimar la mejor combinación de temperatura y salinidad para el cultivo de la cepa de *N. oculata* en lugar de sólo consignar la combinación empleada con la que se obtuvo el mejor resultado, por lo cual se incrementó la utilidad del método para aplicar esos resultados en el desarrollo de la tecnología del cultivo masivo.

Otros resultados confirmados en medio líquido son los estudios morfométricos de las células a las temperaturas de 31 y 35°C de Hernández Molejón *et al.* (en prensa b) obtenidos en medio sólido con la misma cepa.

En la unidad de cultivo empleada, la intensidad de luz fue superior al doble de la utilizada anteriormente por Hernández Molejón (en prensa b) y no se detectaron signos de saturación luminosa (Goldman, 1979b).

Los resultados obtenidos son necesarios para optimizar la producción de inóculos interiores y especialmente para el diseño de una unidad de cultivo intensivo exterior para esta cepa, ya que con la combinación del flujo y la profundidad del cultivo se debe obtener la mayor eficiencia sin sobrepasar los 33°C, pues estos son los parámetros más importantes para optimizar los rendimientos de cultivo intensivo exterior (Goldman, 1979b). Ostrowski y Divakaran (1990) utilizaron una unidad de cultivo para la misma especie con 10 cm de profundidad y una temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$. La reducción de la salinidad para el cultivo permitirá operar con una menor profundidad en el cultivo sin afectaciones por la temperatura y con un aumento importante de la productividad; además, la reducción de la salinidad favorecerá la utilización de *N. oculata* como medio de cultivo para el rotífero *Brachionus plicatilis*, cuya salinidad óptima se encuentra cercana a 20‰ (Hirayama y Ogawa, 1972).

A pesar de que entre los objetivos del trabajo no se incluyó el lograr los niveles de productividad más altos posibles en el cultivo de *N. oculata*, los obtenidos se encuentran entre los más altos logrados con métodos tradicionales (Fulks y Main, 1991); sin embargo, los estimados del rendimiento que se alcanzarían en un cultivo intensivo son bajos y representan un 20% de los máximos consignados por otras experiencias como las compiladas por Goldman (1979a) y Alvarez Cobelas y Gallardo (1989). Además, si se tiene en cuenta la baja concentración inicial,

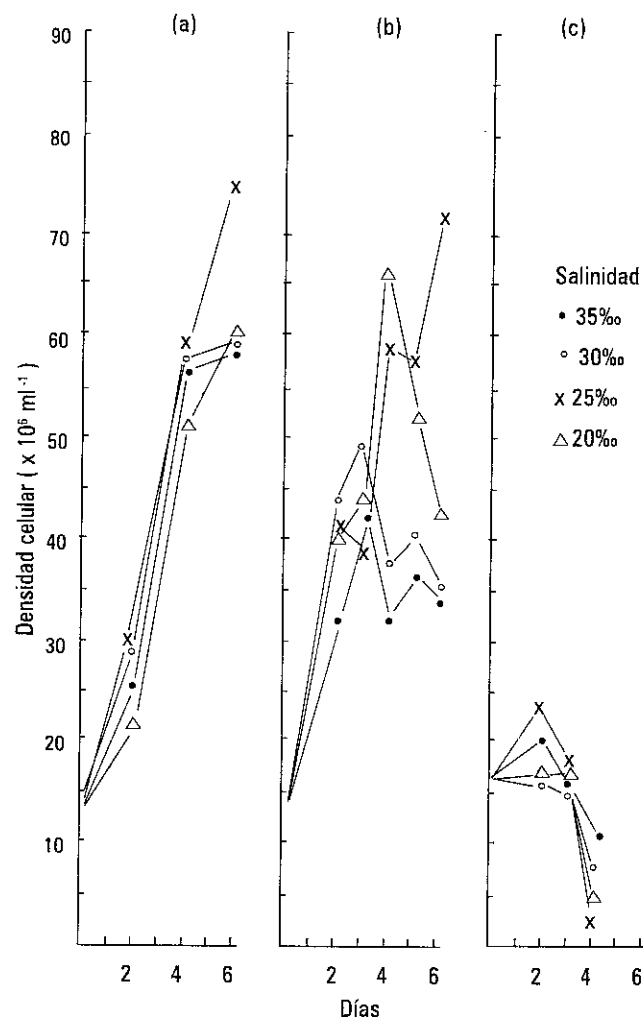


Fig. 1 Crecimiento de los cultivos de la microalga *Nannochloropsis oculata* en salinidades de 35, 30, 25 y 20‰ a diferentes temperaturas: a) 31°C, b) 33°C y c) 35°C.

el corto período de crecimiento y la no utilización de CO_2 se pueden esperar rendimientos mayores en una unidad de cultivo de capa fina exterior con una intensidad de luz mayor y un suministro de CO_2 .

El objetivo del trabajo fue cumplimentado y sus resultados deberán ser valorados a escala piloto en cultivos exteriores, tanto con métodos tradicionales como intensivos.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue ejecutado con el apoyo del proyecto de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) PCT/CUB/005 I. Los

autores desean manifestar su agradecimiento a un grupo de entusiastas colaboradores de la provincia de Cienfuegos en el Jardín Botánico Nacional, especialmente del Dr. Cristóbal Ríos Albuérne a la sazón Director del mismo y a Sonia Uriza Hernández; en la Fábrica de Cemento de Cienfuegos, especialmente al Ing. Pedro Berbén cuyas inventivas y perseverancia hicieron posible el desarrollo de los experimentos, así como a la Lic. Mary Araujo, a la sazón Directora del Laboratorio Costero de Cienfuegos por su apoyo. Finalmente se agradece especialmente al M. en C. Alfredo de la Cruz Sánchez del Centro de Investigaciones Marinas de la Universidad de La Habana por su apoyo en los tratamientos estadísticos.

LITERATURA CITADA

- ÁLVAREZ COBELAS, M. y T. GALLARDO, 1989. Una revisión sobre la biotecnología de las algas. *Bot. Complutensis*: 9-60.
- CHISLIENKO, L. L., 1968. *Nomogrammy dlya opredeleniya vesa vodnykh organizmov po razmeram i forme tela*. Leningrado, Izdatelystvo "Nachka", 105 pp.
- FUKUHARA, O., 1987. Seed production of red sea bream *Pagrus major* (Sparidae) in Japan, pp. 13-20. En: C.J. SINDERMAN (ed.) *Reproduction, maturation and seed production of cultured species*. NOAA Tech. Rep. 47.
- FUKUSHO, K., 1985. Status of marine larval culture in Japan, pp. 126 - 139. En: C.-S. LEE y I.-C. LIAO (Eds.) *Reproduction and culture of milkfish*. Hawaii, Oceanic Institute y Tungkang Marine Laboratory.
- FUKUSHO, K., 1989. Biology and mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis* (1). *Int. J. Aq. Fish. Technol.* 1: 232-240.
- FULKS, W. y K. L. MAIN, 1991 (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems*. Proceedings of a U. S. - Asia Workshop, Honolulu, Hawaii, January 28-31, 1991. Redmond, Argent Laboratories, 364 pp.
- GOLDMAN, J. C., 1979a. Outdoor algal mass culture. I. Applications. *Wat. Res.* 13: 1-19.
- GOLDMAN, J.C., 1979b. Outdoor algal mass culture. II. Photosynthetic yield limitations. *Wat. Res.* 13: 119-136.
- GUILLARD, R. R. L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp. 29-60. En: W. L. SMITH y M. H. CHANLEY (Eds.) *Culture of marine invertebrates animals*. Menum Publishing Corporation, New York.
- HERNÁNDEZ MOLEJÓN, O. G., L. ÁLVAREZ-LAJONCHÈRE, E. TORRES GÓMEZ y L. PÉREZ SÁNCHEZ, en prensa a. Técnicas de cultivo del alimento vivo para larvas de peces marinos y jaibas en Santa Cruz del Sur (Camaguey). *Rev. Cub. Invest. Pesq.*
- HERNÁNDEZ MOLEJÓN, O. G., A. COMAS GONZÁLEZ y L. ÁLVAREZ-LAJONCHÈRE, en prensa b. Crecimiento de las microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Chlorella* sp. en gradientes cruzados de intensidad de luz y temperatura en agua salada. *Rev. Cub. Invest. Pesq.*
- HIBBERD, D. J., 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym Xanthophyceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 82(2): 93-119.
- HIRAYAMA, K. y S. OGAWA, 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture, I: filter feeding of rotifer. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 38(11): 1207-1214.
- JAMES, C. M., S. AL-HINTY y A. E. SALMAN, 1989. Growth of ω -3 fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes. *Aquaculture* 77: 337-351.
- JAVARNICKY, P., A. SLADECKOVA y P. MARVAN, 1976. Ekologia sladkovodnych rias, pp. 9-61. En: F. HINDÁK (Ed.) *Sladkovodne riasy*. Bratislava, Slovenske Pedagogicke Nakladatelstvo.
- KURONUMA, K. y K. FUKUSHO, 1984. *Rearing of marine fish larvae in Japan*. Ottawa, International Development Research Centre, IDRC-TS 47e, 109 pp.
- LEE, C.-S., M. S. SU y I.-C. LIAO, 1993 (Eds.). *Finfish hatchery in Asia: Proceedings of Finfish Hatchery in Asia '91*. Tungkang Marine Laboratory, Taiwan Fisheries Research Institute, Tungkang, Pingtung, Taiwan.
- LERCH, G., 1977. *La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas*. Editorial Científico-Técnica, La Habana, 452 pp.
- LUKAVSKY, J., 1982. Building-block equipment for laboratory cultivation of algae. *Arch. Hydrobiol., Suppl.* 63, 2: 221-231.
- OSTROWSKI, A. C. y S. DIVAKARAN, 1990. Survival and bioconversion of n-3 fatty acids during early development of dolphin (*Coryphaena hippurus*) larvae fed oil-enriched rotifers. *Aquaculture* 89: 273-285.
- WATANABE, T., C. KITAJIMA y S. FUJITA, 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34: 115-143.

Recibido: 28 de septiembre de 1995.

Aceptado: 11 de noviembre de 1996.