



Baldg

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

EVALUACION DE LA MICROALGA Pavlova (Monochrysis) lutheri
CULTIVADA CON FERTILIZANTES AGRICOLAS, EN LA
ALIMENTACION DEL MEJILLON Mytilus galloprovincialis
EN LA ETAPA DE MATERNIDAD



TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

ROBERTO ARTURO MORENO ARELLANO

ENSENADA, B.C.

ENERO DE 1991


RESUMEN

Para evaluar la posibilidad de utilizar como alimento, microalgas cultivadas con fertilizantes agrícolas durante la etapa de maternidad de moluscos bivalvos, se evaluaron dos fertilizantes: sulfato de amonio y urea, comparados con el medio f/2 de Guillard, como fuentes de Nitrogeno en el cultivo de la microalga Pavlova lutheri, como alimento para semilla del mejillón Mytilus galloprovincialis. Se realizó un experimento en el laboratorio de Acuicultura del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, U.A.B.C. Durante 50 días se sometió a un lote de semilla de mejillón a tres tratamientos por triplicado, microalga cultivada con: urea, sulfato de amonio y medio f/2, el alimento se suministró con una concentración de 150 mil cel/ml, equivalente a 214 mil cel/semilla/día, a partir del día 38 se elevó a 250 mil cel/ml que corresponde a 357 mil cel/semilla/día, encontrándose que la concentración de alimento de 214 mil cel/semilla/día no es conveniente para un buen crecimiento de la semilla de Mytilus galloprovincialis con tallas de 1 a 2 mm aproximadamente. La talla promedio inicial fue de 1.275 mm, al final en el tratamiento con sulfato de amonio se presentaron tallas promedio de 2.842 mm, con urea 2.709 mm y con f/2 2.701 mm. Al 95% de significancia el mejor crecimiento de semilla se registro con microalgas cultivadas con sulfato de amonio.

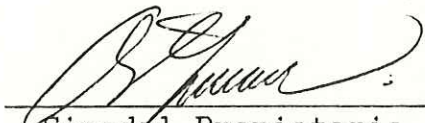
"EVALUACION DE LA MICROALGA Pavlova (Monochrysis) lutheri
CULTIVADA CON FERTILIZANTES AGRICOLAS, EN LA ALIMENTACION
DEL MEJILLON Mytilus galloprovincialis EN LA ETAPA DE
MATERNIDAD."


T E S I S
QUE PRESENTA:
ROBERTO ARTURO MORENO ARELLANO

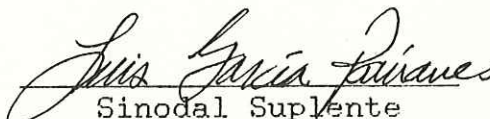
Aprobada por:


Presidente del Jurado
Oc. Lewis S. McAnally Salas


Sinodal Propietario
Dra. Elizabeth Orellana Cepeda


Sinodal Propietario
Oc. Arturo Siqueiros Valencia


Sinodal Suplente
Oc. Fernando Garcia Pámanes


Sinodal Suplente
Oc. Luis E. Garcia Pámanes

A G R A D E C I M I E N T O S

Cabe destacar mi agradecimiento a las instituciones y personas que de alguna manera contribuyeron conmigo.

A Ensenada y la UABC por permitirme formar parte de ellas durante estos años, asimismo a la Facultad de Ciencias Marinas y a mis maestros que durante toda la carrera contribuyeron para que hoy, sea Oceanólogo.

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por proporcionarme la oportunidad de utilizar sus instalaciones, para el desarrollo de esta tesis dentro del Proyecto Mejillon, y por el otorgamiento de beca-tesis.

A mi Director Oc. Lewis S. McAnally Salas por su confianza consejo y amistad. A mis sinodales Dra. Elizabeth Orellana Cepeda y Oc. Arturo Siqueiros Valencia por su tiempo y colaboración para el mejoramiento de esta tesis. Al Oc. Fernando García Pámanes y Oc. Luis García Pámanes por su interés y por permitirme aprender de ellos.

Al Oc. Enrique Valenzuela Espinoza por su asesoría y por permitirme utilizar el laboratorio de producción de microalgas. A la Oc. Griselda Pares S. por su consejo durante la realización de esta tesis.

Por que los de la X X I X somos así, a todos mis compañeros gracias.

A mis amigas y amigos, por serlo.

Y desde luego a todas las M O N A S

D E D I C A T O R I A

A ti mamá:

EVA ARELLANO DE MORENO

por tu amor, abnegación, ejemplo, por lo que soy ahora
y por enseñarme lo que debo ser en la vida.

A tu memoria papá:

ROBERTO MORENO CERVANTES †

por tu amor y ejemplo de trabajo y honestidad, para ser
el mejor.

A la memoria de mis abuelitos:

JUAN ARELLANO MAYEN † Y ELVIRA VIVEROS DE ARELLANO †

por su ejemplo, amor y ternura.

A ti tío :

VICTOR ARELLANO VIVEROS

por tu cariño para conmigo.

A mis primos :

CARLOS ARELLANO GONZALEZ Y

JUAN MANUEL ARELLANO GONZALEZ

por que los considero mis hermanos.

A todos gracias por darme lo mejor de ustedes.

Porque es poesía
Porque es música
Porque es bello
Porque es vida
Porque está ahí
conozcámos y cuidémos al océano.

I N D I C E

	PAGINA
INTRODUCCION	1
- OBJETIVO	9
MATERIALES Y METODOS	10
RESULTADOS	17
DISCUSIONES	26
CONCLUSIONES	32
RECOMENDACIONES	33
LITERATURA CITADA	34

L I S T A D E T A B L A S

PAGINA

- TABLA I. Diferencias en los tres tratamientos por la prueba de Kruskall-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos: f/2, urea y sulfato de amonio. 21
- TABLA II. Prueba de comparaciones multiples por pares basado en la prueba Kruskall-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos, a los 20 días. 22
- TABLA III. Prueba de comparaciones multiples por pares basado en la prueba Kruskall-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos, a los 40 días. 23

TABLA IV. Prueba de comparaciones múltiples por pares basado en la prueba Kruskal-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos, a los 50 días.24

TABLA V. Tallas promedio y desviación estándar de los tres tratamientos y sus respectivas replicas para los 20, 40 y 50 días. 25

L I S T A D E F I G U R A S

	PAGINA
FIGURA 1. Acomodo de las unidades experimentales. .	12
FIGURA 2. Temperatura (°C) de las unidades experimentales durante los 50 días del experimento..	19
FIGURA 3. Crecimiento de semilla de <u>Mytilus</u> <u>galloprovincialis</u> alimentada con <u>Pavlova</u> <u>luthery</u> cultivada con tres fuentes de N diferentes; f/2, urea y sulfato de amonio durante 50 días de experimento.	20

INTRODUCCION

Hasta hace algunas décadas la explotación del mar había sido confinada a su producción natural, sin embargo recientemente se ha impulsado el desarrollo de la maricultura como posible suplemento a esa explotación siendo el cultivo de moluscos bivalvos uno de los más practicados (Bayne, 1976).

La importancia de su cultivo radica en que "los moluscos se encuentran entre los más eficientes convertidores de proteínas vegetales (algas), a proteínas animales" (Pruder y Bolton, 1979) y con el fin de mejorar las técnicas y condiciones en que se desarrolla, se han intensificado los estudios biológicos y ecológicos de las diversas especies de estos organismos (Bayne, 1976).

La etapa de maternidad en el cultivo de moluscos bivalvos como el paso entre la producción controlada de larvas en cultivos comerciales y el crecimiento en el medio natural es una práctica la cual está recibiendo más y más atención. El propósito de ésta etapa en el cultivo de bivalvos es cultivar larvas de moluscos de unos cuantos

milímetros de longitud, a 1-2 cm en un tiempo mínimo, en densidades lo más altas posibles y con costos y riesgos mínimos (Persoone, 1981).

De hecho, el traslado temprano al medio natural de postlarvas de moluscos bivalvos de importancia comercial cultivadas en laboratorio se enfrenta continuamente con problemas técnicos y biológicos que repercuten en la producción (Claus, 1981), uno de estos factores que determinan el éxito ó fracaso de tales operaciones, es la disponibilidad diaria de volúmenes sustanciales de especies apropiadas de algas microscópicas como alimento (Persoone y Claus, 1980).

Tomando en cuenta los factores económicos, resulta impráctico y virtualmente imposible, cultivar grandes volúmenes de microorganismos utilizando los medios de cultivo tradicionales que se utilizan a nivel laboratorio (f/2 de Guillard, 1975).

Es por ésto que tales técnicas para producción de microalgas en cultivo monoespecíficos, no pueden ser escaladas hacia los grandes volúmenes necesarios para el cultivo de bivalvos en general (De Pauw et al. 1983).

Un ejemplo de lo anterior es el trabajo realizado en las instalaciones de una compañía Americana en Hawaii, donde se lleva a cabo el cultivo intensivo a nivel comercial de ostión, con una producción mensual de alrededor de ciento cincuenta mil ostiones de talla comercial, los que son alimentados a partir de 19 millones de litros de cultivo de microalgas por día utilizando fertilizantes inorgánicos (Goldstein, 1984).

Debido a la necesidad de una producción masiva de grandes volúmenes de microalgas como alimento para filtroalimentadores en la etapa de maternidad, se ha promovido el desarrollo de los sistemas de cultivo, a la fecha se manejan dos líneas de producción de microalgas a gran escala (Mercer, 1981).

Existen ventajas y desventajas en cada una de ellas, la primera consiste en una producción de especies monoespecíficas de microalgas bajo un estricto control. Esto implica, disponer de stocks de microalgas, la inoculación progresiva para el incremento en los volúmenes de cultivo, tratamiento especial del agua y condiciones controladas. Este método tiene la ventaja de que se conoce la calidad nutricional, asimismo el control de las condiciones puede garantizar el suministro durante todo el año, además mediante la combinación controlada de especies puede obtenerse un excelente alimento (Bayes, 1981).

Tiene como desventajas que si se le utiliza a gran escala los cultivos tienden a decaer más pronto que los cultivos de volúmenes regulares, así mismo se requiere de un mantenimiento especializado y constante, por lo que los costos se elevan de tal forma que resulta difícil sostener el cultivo (Bayes, 1981).

La segunda se basa en la inducción de florecimientos naturales de fitoplancton en estanques al aire libre, el control que se tiene para las especies es relativo y depende de los parámetros que se manejen, tiene como ventajas que se puede disponer del fitoplancton del medio natural, el mantenimiento es mínimo y sobre todo es muy económico, siendo sus costos hasta 10 veces menores que en el sistema anterior. Sin embargo presenta las desventajas de que no existe un control sobre las especies, por lo que en un momento puede presentarse que la calidad alimenticia sea dudosa y dependiendo del clima local se restringe su utilización sólo para algunos meses al año (De Pauw, 1981).

Una posibilidad intermedia significaría el cultivo masivo de especies monoespecíficas utilizando fertilizantes no definidos (De Pauw, 1981). Dentro de esta búsqueda la implementación de diferentes medios de

cultivo para microalgas ha creado un nuevo campo dentro de la acuicultura, basándose en dos grandes categorías de medios de cultivo, (químicos y estiércoles). La primera categoría comprende químicos disponibles para la industria, como sales de N, P y Si, como macronutrientes que se utilizan para producción de microalgas a gran escala, incluyendo la inducción al florecimiento de fitoplancton natural, como se menciona anteriormente (De Pauw y Persoone, 1988).

Los fertilizantes más comunes en la acuicultura son: sulfato de amonio, cloruro de amonio, nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de amonio y silicatos líquidos (Aquacop, 1983; De Pauw y Persoone, 1988). La segunda categoría comprende los fertilizantes orgánicos biodigeridos como estiércoles y aguas residuales domésticas e industriales. Desgraciadamente es continuo el cuestionamiento de estos métodos debido a la contaminación bacteriana, la cual no debe ser menospreciada (González - Rodríguez y Maestrini, 1984).

Ambas categorías se utilizan para fertilizar estanques y pozas de crustáceos, peces y moluscos bivalvos, induciendo florecimientos de fitoplancton ó para la producción de zooplancton (De Pauw y Persoone, 1988).

Diversos intentos con fertilizantes orgánicos e inorgánicos, harinas de pescado, algodón, girasol, alfalfa, soya, sangre, huesos, lombriz, levadura de cerveza desecada, guano de aves, excremento de lombriz de tierra, han servido de base para una producción económica de microalgas tanto en condiciones controladas de laboratorio como en cultivos externos (Alfonso y Caceres, 1985). Ukeles (1965), en cultivo externo de Pavlova lutheri utilizó agua de mar artificial enriquecida con urea. Por su parte Mc Carthy (1972), realizó investigaciones relacionadas con la utilización de urea en clones unialgales. Guerrero et al (1981), realizan cultivos mixtos en estanques de 50 mil litros utilizando sulfato de amonio y ácido fosfórico como fuentes de nitrógeno y fósforo respectivamente. Wilkfors-GH (1986) alteró el crecimiento y la composición química de Dunaliella sp variando concentraciones de nitratos y fosfatos.

En el Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO), Facultad de Ciencias Marinas (FCM) y el Centro de Investigaciones Científicas y Educación Superior de Ensenada (CICESE), se ha experimentado en el cultivo de algas unicelulares con los medios convencionales Mathiessen y Torner (1966); f/2 de Guillard (1975), según lo reportado por Caceres-Martinez, (1979); así como

cultivos preparados con biodigeridos de estiércol, (Granados y Buckle 1984) y con fertilizantes agrícolas (Herrera-Treviño, 1988; Wilburn- Gonzalez, 1990).

Actualmente en el laboratorio de cultivos anexos del IIO se han venido utilizando fertilizantes agrícolas de manufactura nacional en el cultivo de microalgas, tanto en condiciones controladas de laboratorio como en cultivos externos y a diferentes niveles de cultivo. Mimbela-Sandoval (1987), sustituyó NaNO_3 por urea en cultivos de microalgas, de la misma manera, Herrera-Treviño (1988); Wilburn-Gonzalez (1990); y Jimenez-Mercado (en preparación), utilizaron fertilizantes agrícolas con resultados muy satisfactorios. En general estos autores coinciden en que la utilización de estos fertilizantes reduce los costos de producción en grandes volúmenes de cultivo, sin encontrarse diferencias significativas en la producción con respecto a los medios convencionales.

Con excepción de Ocampo-Aranda (1990), que evaluó el crecimiento en larvas de mejillón hasta postlarva alimentadas con microalgas cultivadas con tres diferentes fuentes de nitrógeno (f/2, urea y sulfato de amonio), hasta ahora no se han realizado bioensayos de estos alimentos utilizando semilla de bivalvos en etapa de maternidad para determinar la factibilidad de utilizarlos de manera rutinaria.

Es necesario mencionar que durante mucho tiempo se manejó para la costa del Pacífico de Norte America el nombre de Mytilus edulis sin embargo recientemente McDonald y Koehn (1988); y Sarver (1988) mencionan que la especie correspondiente al sur de California y Baja California es Mytilus galloprovincialis, basandose en estudios de genetica de poblaciones, por lo que en este trabajo se utiliza esta denominación.

OBJETIVO

Evaluar la posibilidad de utilizar microalgas cultivadas con fertilizantes agrícolas como alimento durante la etapa de maternidad del mejillón Mytilus golloprovincialis.

MATERIALES Y METODOS

El experimento del presente trabajo se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Acuicultura del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California, dentro del proyecto Mejillón. Con la finalidad de evaluar la posibilidad de utilizar como alimento, microalgas cultivadas con fertilizantes agrícolas en la etapa de maternidad del mejillón Mytilus galloprovincialis.

Durante 50 días se sometió a un lote de juveniles de mejillón Mytilus galloprovincialis durante la etapa de maternidad, a tres diferentes tratamientos que fueron realizados, por triplicado cada uno de ellos. Se planteó el proporcionar como alimento la microalga Pavlova lutheri cultivada con tres medios de cultivo, dos utilizando fertilizantes agrícolas; urea, 46-0-0, y sulfato de amonio, 21-0-0, (% de nitrógeno total), y el tercero con el medio f/2 de Guillard (1975) que se utilizó como testigo, la evaluación fue dada por mediciones del crecimiento en los juveniles de mejillón.

Para llevar a cabo el experimento se dispuso una estructura de madera que permite colocar tres charolas sobrepuestas, y en las cuales se colocaron tres unidades experimentales. En las charolas se mantuvo un flujo de agua constante con una bomba centrífuga, a manera de baño María para mantener la temperatura ambiente dentro de las unidades experimentales lo más uniforme posible (FIGURA 1).

Para la ubicación de las unidades experimentales se dispuso un acomodo tipo Cuadro Latino; donde el acomodo de los tratamientos asegura que se presente una y solo una vez en cada fila y columna, cada fila así como cada columna, comprenden un bloque completo. Este acomodo permite confundir las posibles variaciones que pudieran existir debido a la posición de las unidades experimentales en la estructura de madera y evita el problema de la pseudoreplicación (Stell y Torrie, 1986).

Para evaluar los resultados de crecimiento que se obtuvieron, se aplicaron las pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianza como requisito para la utilización de pruebas paramétricas, en este caso, la prueba de análisis de varianza (ANOVA) anidado, sin embargo debido a que no se cumplieron estos requisitos se aplicó la prueba no paramétrica, de análisis

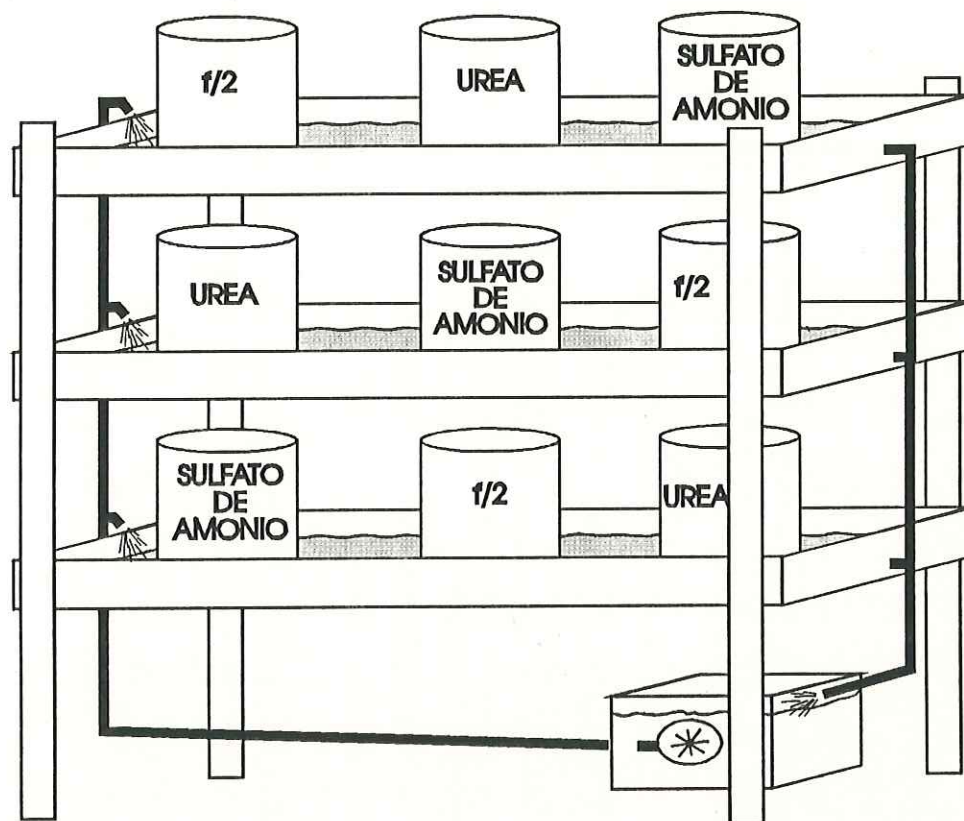


FIGURA 1. Acomodo de las unidades experimentales.

de varianza de una vía Kruskall-Wallis, y en los días que mostraron diferencias significativas se les realizó una prueba de comparaciones múltiples por pares para determinar el tratamiento que mostró diferencia.

El cultivo de microalgas se realizó trabajando desde el primer nivel en matraz de 250 ml, con un volumen de 100 ml en cultivo, inoculándose con 3 ml de cepa y medio f/2 de Guillard (1974). Cuando se alcanzó la densidad máxima de microalgas en los matraces, se transfirieron las microalgas a garrafones previamente esterilizados; después de 10 - 15 días de cultivo las microalgas alcanzaron su máxima densidad y fueron transferidas a tanques con capacidad de 400 litros, nivel a partir del cual se utilizan los fertilizantes agrícolas.

Para el llenado de los tanques se utilizó agua de mar filtrada por 3 y 1 micrómetros y pasada por UV a flujo lento, posteriormente se inoculó cada tanque con un garrafón, añadiendo a cada tanque el medio correspondiente, f/2, urea ó sulfato de amonio.

Se llevaron registros diarios de la concentración de cel/ml con ayuda de un espectrofotómetro Hatch (dr/2) y una curva de calibración que relaciona la transmitancia

con el número de células/ml a 760 nm. Aproximadamente a los cinco días de cultivo las microalgas alcanzaron la densidad a la que se cosechó para ser utilizado en el experimento.

La semilla de mejillón Mytilus galloprovincialis se obtuvo de un lote cultivado en el laboratorio de acuicultura, bajo la biotecnología desarrollada en propio laboratorio de acuicultura del Instituto, donde primeramente organismos adultos con una talla promedio de 7.0 - 8.0 cm de largo, son estimulados al desove por medio de estímulos físico-biológicos (cambios de temperatura y presencia de esperma), una vez que machos y hembras desovan por separado, las gametas se tamizan y se lleva a cabo la fertilización, en un recipiente aforado a 15 litros utilizando esperma activo concentrado para fecundar los óvulos obtenidos en el desove, una vez que se homogenizan y después de 40 minutos se tamiza para eliminar esperma sobrante, los óvulos fertilizados son trasladados a un tanque de 1000 litros con agua de mar pasada por UV para continuar su desarrollo, se dejan sin alimento y sin aereación por 48 horas a temperatura ambiente.

Después de las primeras 48 horas se realizan cambios de agua cada tercer día y se les proporciona una ración alimenticia de Isochrysis galbana de 30 mil cel/ml durante

las primeras dos semanas y 50 mil cel/ml durante las últimas dos semanas, durante la metamorfosis se les proporciona 100 mil cel/ml.

La selección de la semilla se realizó de acuerdo a su talla eligiendo a las retenidas en un tamiz de 0.5 mm. La semilla se contó pesando el total de semilla y extrapolando la relación peso-humedo obtenida de una muestra tomada al azar. El total de semilla fue dividida en nueve porciones aproximadamente iguales y fue distribuida en las nueve unidades experimentales, que fueron aforadas a 10 litros.

Se tomaron registros diarios de temperatura y cada tercer día se cambió el agua de los recipientes para eliminar desechos metabólicos. Con el fin de evitar la pérdida de semilla se drenaron las unidades sobre un tamiz de 0.5 mm, para recuperar la semilla que se hubiera soltado en el proceso.

La concentración de la microalga Pavlova lutheri suministrada como alimento para la semilla de mejillón fué de 150 mil cel/ml.

Se tomaron muestras a los 20, 40 y 50 días, de cada recipiente desprendiendo el total de la semilla, colocándola en un tamiz de 0.5 mm, de donde se tomó una muestra al azar de aproximadamente 150 organismos, para posteriormente ser fijadas con formol al 4%.

Para facilitar la medición y el conteo de las muestras los bisos de los mejillones se disolvieron mediante un tratamiento con hipoclorito de sodio comercial al 6% durante un minuto. Para evaluar el crecimiento de los organismos, y así el efecto de los tratamientos, los organismos (100 por tratamiento) se midieron con una reglilla micrométrica previamente calibrada y ajustada al ocular de un microscopio estereoscópico.

RESULTADOS

Durante los 50 días del experimento la temperatura de las unidades experimentales se mantuvo alrededor de $20.4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Figura 2).

La concentración de alimento durante los primeros 20 días de 150 mil cel/ml, es equivalente a 214 mil cel/semilla/día. A partir del día 38 se elevó la concentración a 250 mil cel/ml, lo que correspondió a 357 mil cel/semilla/día.

Las pruebas de análisis de varianza de Kruskal-Wallis entre tratamientos, muestran diferencias significativas para todos los muestreos durante el experimento (Tabla I).

En la figura 3 se muestra el crecimiento de las semillas del mejillón Mytilus galloprovincialis bajo los tres tratamientos, al inicio del experimento la talla promedio de la semilla fue de 1.275mm, asimismo se observa un comportamiento similar en el crecimiento para los tres tratamientos durante los primeros 20 días del experimento,

donde los resultados de la prueba de comparaciones múltiples posterior al análisis de varianza de Kruskall-Wallis, muestran que para el día 20 el f/2 y urea no presentan diferencias en el crecimiento (Tabla II), con una talla promedio de 1.983mm y 1.954mm respectivamente, mientras que con el sulfato de amonio se registró una talla promedio de 1.939mm (Tabla II).

Para el día 40 las comparaciones múltiples nos indican que el crecimiento en los tratamientos con urea y sulfato de amonio no es significativamente diferente, con una talla promedio de 2.414mm y 2.347 respectivamente, por su parte el crecimiento con f/2 fue menor, con una talla promedio de 2.278mm (Tabla III).

Finalmente, para el día 50 la prueba de comparaciones múltiples muestra diferencias entre los tres tratamientos (Tabla IV), en el tratamiento con sulfato de amonio se observa un incremento en el crecimiento (Figura 1), presentando tallas promedio de 2.842mm superando al crecimiento con urea, que a su vez es superior al crecimiento con el f/2, con tallas promedio de 2.709mm y 2.701 respectivamente (Tabla IV).

En la tabla V, se aprecian las tallas promedio y su desviación estandar de los tratamiento y sus respectivas réplicas para los 20, 40 y 50 días.

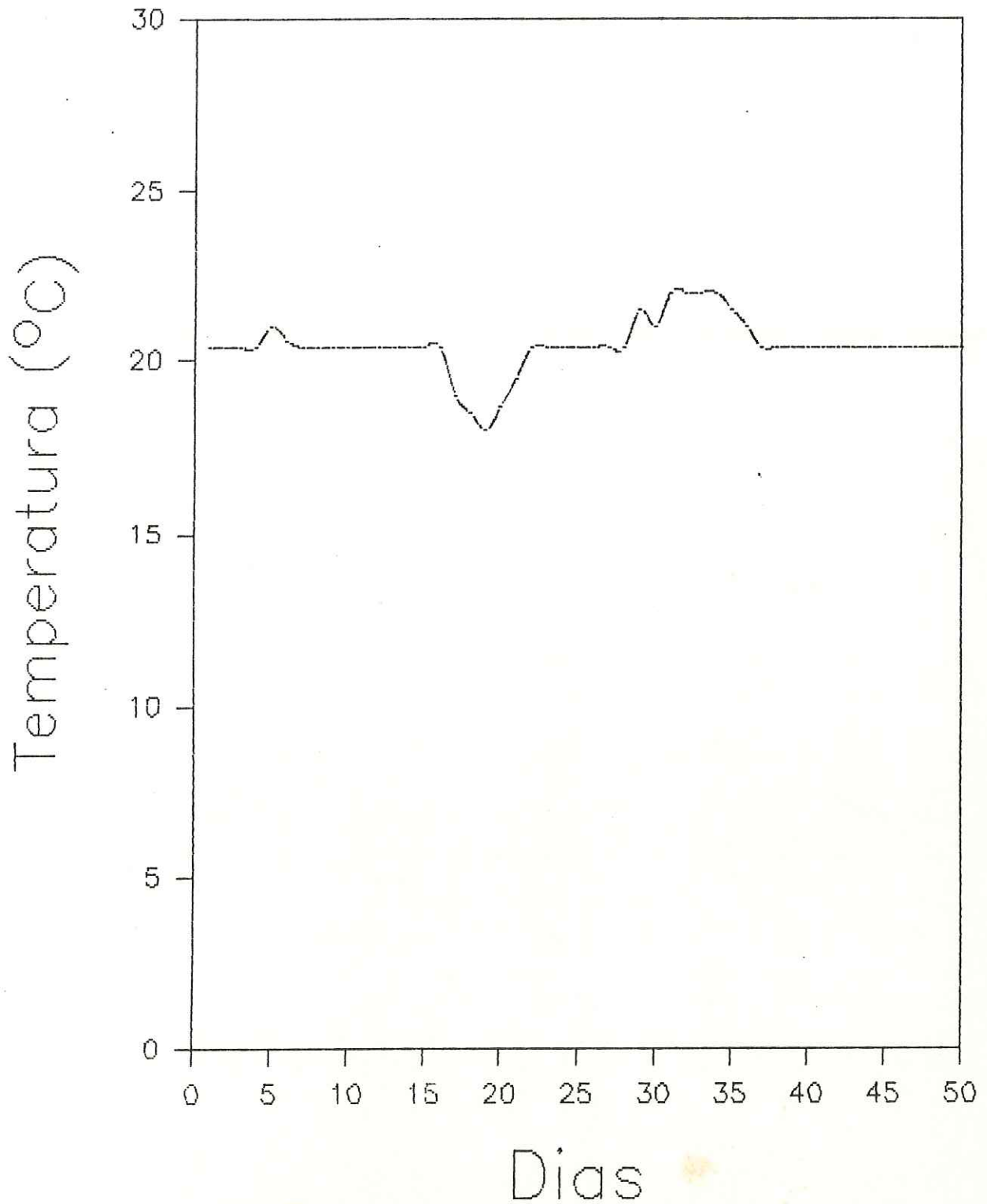


FIGURA 2. Temperatura (°C) de las unidades experimentales durante los 50 días del experimento.

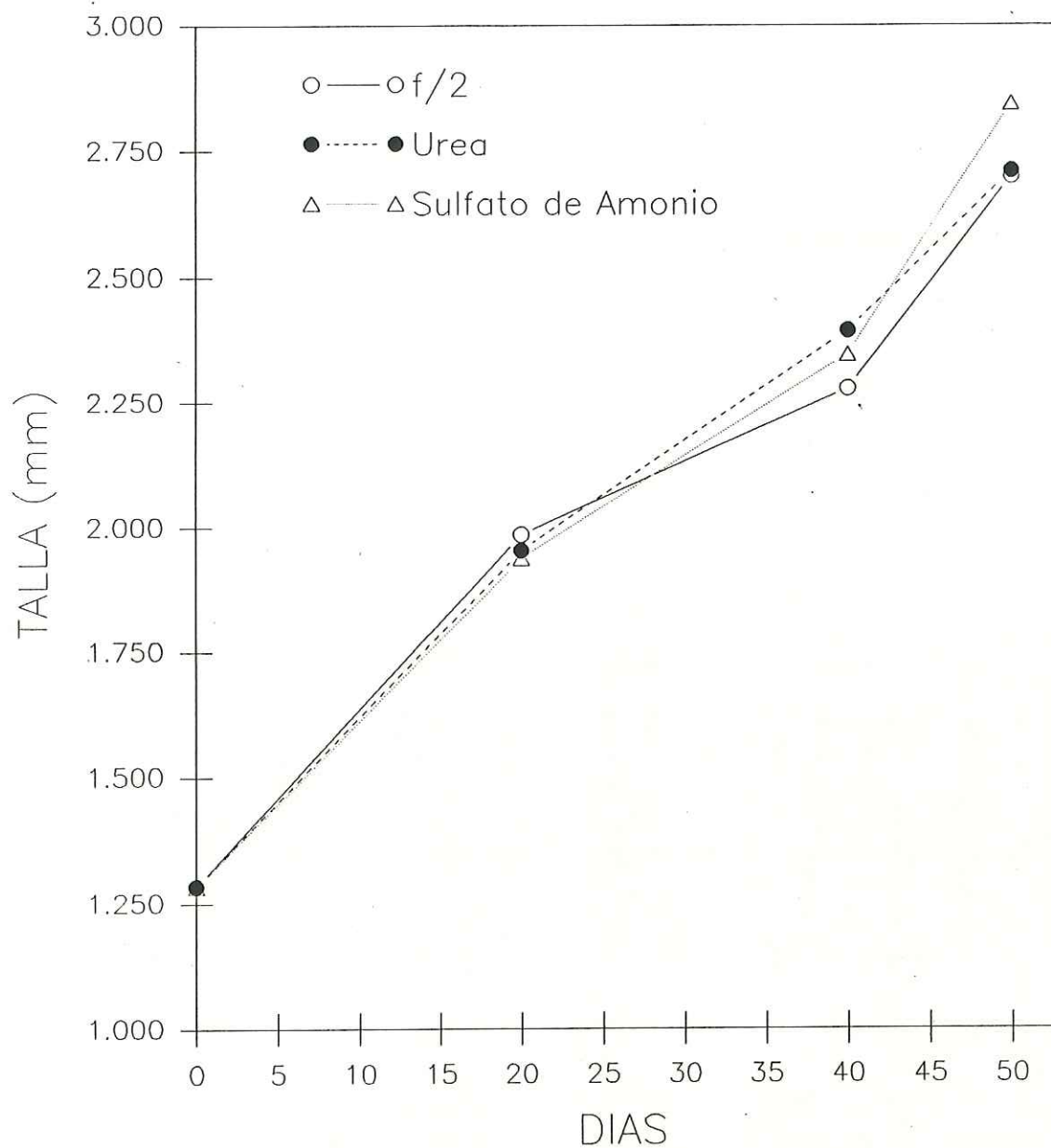


FIGURA 3. Crecimiento de semilla (medias), de *Mytilus galloprovincialis* alimentada con *Pavlova lutheri* cultivada con tres fuentes de N diferentes; f/2, urea y sulfato de amonio durante 50 días de experimento.

TABLA I Diferencias en los tres muestreos por la prueba de Kruskall-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos: f/2, urea y sulfato de amonio.

ns = no significativo;
* = significativo;

GRUPOS (f/2, UREA SULFATO DE AMONIO)	DISCREPANCIA OBSERVADA	DISCREPANCIA ESPERADA	G.L.	DECISION 5% DE SIGNIF.	PROBABILIDAD
DIA 20	39.340	35.172	23	*	.018
DIA 40	50.884	42.557	29	*	.007
DIA 50	69.190	52.192	37	*	.001

TABLA II Prueba de comparaciones multiples por pares basado en la prueba Kruskall-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos, a los 20 días.

TRATAMIENTOS	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
f/2	300	1.983	*
UREA	300	1.954	*
SULFATO DE AMONIO	300	1.939	*

TABLA III Prueba de comparaciones multiples por pares basado en la prueba Kruskall-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos, a los 40 días.

TRATAMIENTOS	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
f/2	300	2.278	*
UREA	300	2.414	*
SULFATO DE AMONIO	300	2.347	*

TABLA IV Prueba de Comparaciones Múltiples por pares en base a la prueba Kruskal-Wallis aplicada a las tallas de Mytilus galloprovincialis para los tres tratamientos, a los 50 días.

TRATAMIENTOS	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
f/2	300	2.701	*
UREA	300	2.709	*
SULFATO DE AMONIO	300	2.842	*

TABLA V Tallas promedio y desviación estandar de los tres tratamientos y sus respectivas replicas para los 20, 40 y 50 días.

DIA	1	2	3	MEDIA	D.V.
f/2					
20	2.088	1.918	1.942	1.983	0.413
40	2.212	2.267	2.356	2.278	0.497
50	2.707	2.643	2.702	2.701	0.593
UREA					
20	1.995	1.872	1.995	1.954	0.329
40	2.350	2.478	2.358	2.414	0.456
50	2.664	2.804	2.658	2.709	0.580
SULFATO DE AMONIO					
20	1.932	1.930	1.954	1.939	0.389
40	2.220	2.407	2.415	2.347	0.436
50	2.754	2.875	2.989	2.842	0.525

DISCUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, el crecimiento de la semilla de mejillón Mytilus galloprovincialis presenta para el día 20 un crecimiento muy parecido bajo los tres tratamientos (Figura, 2), sin embargo Coe y Fox, (1942); Harger, (1970); Monge, (1983) y Pares-Sierra (datos no publicados) reportan crecimientos para Mytilus galloprovincialis de 3 mm a 8.4 mm en 20 días en el medio natural que contrastan con los encontrados en este trabajo donde el incremento promedio fué de .65 mm. A pesar que durante estos días se alimentó a los organismos con 150 mil cel/ml quedando dentro del rango reportado como óptimo, 60 - 220 mil cel/ml por Guerrero et al, (1981); Lagos-Ceseña, (1982); Carpizo-Ituarte, (1983).

Lo anterior sugiere que la similitud en crecimiento durante estos días se debió a que las semillas de Mytilus galloprovincialis fueron alimentadas con una ración menor a la requerida para un buen desarrollo y fue apenas suficiente para el sostenimiento de los organismos presentando un crecimiento pobre, aún cuando se encontraron diferencias en los crecimientos, entre sulfato de amonio y los dos tratamientos.

Para el día 40 el crecimiento superior registrado con urea y sulfato de amonio (Tabla III), podría ser explicado por el incremento en la ración alimenticia de 150 mil cel/ml a 250 mil cel/ml, a partir del día 38. Este comportamiento en crecimiento sugiere que al elevar la concentración de células/ml las semillas de mejillón no solo cubrieron sus requisitos metabólicos mínimos sino que además pudieron dedicar parte de su energía al crecimiento (Bayne y Newel, 1983).

Lo anterior permitió una mayor diferenciación de la dieta que realmente promovió un crecimiento más acelerado, en este caso, sulfato de amonio y urea comparándolos con el medio f/2 (FIGURA 3). Este crecimiento acelerado que pudo darse a partir del día 38 y registrado el día 40 no es inusual en semilla de mejillón, Coe y Fox, (1942); Harger, (1970); Monje, (1983), reportan crecimientos promedio de 0.25 mm/día. Thompson y Bayne (1974); y Winter (1978), mencionan que la eficiencia de crecimiento se incrementa hiperbólicamente con el incremento de la ración ingerida.

Las diferencias entre todos los tratamientos, hasta el día 50, donde el sulfato de amonio reporta el mejor crecimiento seguido por urea y f/2 reafirman la tendencia que aparentemente inició el día 38 en la cual tenemos diferencias entre todos los tratamientos aunque el

crecimiento entre urea y f/2 parezca similar son estadísticamente diferentes.

En general se sabe que la composición química de las células varía con el medio de cultivo, las condiciones de su desarrollo y la fase en que se encuentra, y por tanto varía su valor nutritivo (Cruz y Alfonso, 1975), de ahí que al utilizar tres diferentes fuentes de nitrógeno (urea, sulfato de amonio y nitrato de sodio, componente del medio f/2) se espera que la composición de la microalga varíe con cada una, aún cuando en la preparación de cada uno de los medios se realizó de tal forma, que la cantidad de nitrógeno fuera equivalente a cada uno, de acuerdo con Wilburn-Gonzalez (1990).

La composición química de las microalgas con cada tratamiento, es una posible explicación de las diferencias en el crecimiento entre tratamientos, es conocido que el amonio es incorporado directamente por la célula sin mayor gasto energético lo que ocurre en un medio como el preparado con sulfato de amonio, en el caso del nitrato de sodio del medio f/2, es asimilado con su respectiva inversión energética, por su parte la asimilación de la urea presenta un proceso diferente que involucra enzimas específicas y la incorporación del carbono presente en la urea (Morris, 1981; Syrett, 1981; Mimbela-Sandoval, 1987).

Estos diferentes procesos influyen directamente en la composición química de las microalgas Bougis (1976), menciona que Ditylum brightwellii sintetiza más lípidos en presencia de nitrato que con amonio, además Cachonina niei crece con riqueza en carbohidratos, en medios a base de nitratos, por lo que se puede pensar que con nitratos y urea las microalgas sintetizan y acumulan más lípidos y carbohidratos, por su parte Syrett (1981), menciona que al suministrar amonio a microalgas cultivadas con nitratos los carbohidratos almacenados son convertidos en compuestos orgánicos con N como son aminoácidos y/o proteínas.

Aunque Ojeda y Alfonso (1986), afirman que en Tetraselmis suecica se observa un incremento en la producción de lípidos y carbohidratos cultivada con amonio, en relación con la cultivada con nitratos, ellos utilizaron una concentración de 500 microgramos at N/1 lo que equivale aproximadamente a la mitad del nitrógeno presente el medio f/2, Velazquez-Magaña (1989), en un estudio de contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos en Tetraselmis suecica con diferentes concentraciones de nutrientes, encuentran que con la mitad de los nutrientes del medio f/2 la microalga contiene más carbohidratos y con el doble de los nutrientes del medio f/2 es mayor el

contenido de proteínas, sugiriendo que medios de cultivo con baja concentración de nutrientes tienden a un incremento en carbohidratos en su composición química.

En base a lo anterior el hecho de que el crecimiento con sulfato de amonio sea el mejor, puede deberse a que Pavlova lutheri cultivada con este fertilizante haya tenido un alto contenido protéico. Bayne y Newel (1983), mencionan que los juveniles de moluscos bivalvos utilizan más proteínas y pocos carbohidratos para su crecimiento, contrario a los adultos que requieren grandes reservas de carbohidratos. Lo que confirmaría que el crecimiento con urea y f/2 haya sido menor, probablemente por presentar un mayor porcentaje de carbohidratos en la composición de Pavlova lutheri, Ocampo-Aranda (1990), encontró resultados similares con postlarvas de Mytilus galloprovincialis.

Es así como los fertilizantes agrícolas demuestran su utilidad en el cultivo de microalgas para la alimentación de moluscos bivalvos con buenos resultados, asimismo debe considerarse que la producción de fertilizantes no es estándar en todo el mundo en lo que a calidad se refiere, incluso pueden encontrarse variaciones en el contenido de nitrógeno en un mismo lote, por otra parte las impurezas presentes actúan como micronutrientes (González-Rodríguez y Maestrini, 1984). Pero sobre todo

el aspecto que mejor apoya la utilización de fertilizantes agrícolas es el aspecto económico, donde pueden obtenerse ahorros considerables en cuanto a los nutrientes necesarios para los medios de cultivo, así los costos de producción comparados con el medio f/2 se reducen en el caso del sulfato de amonio un 98.81% y con la urea hasta en un 99.19% (Herrera-Treviño, 1988; Wilburn-González, 1990).

En cultivos donde es importante la etapa de maternidad en moluscos bivalvos es altamente recomendable la utilización de fertilizantes agrícolas, más aún que puede llegar a proporcionarse a las semillas de moluscos mejor calidad de alimento durante esta etapa que los medios definidos como el f/2 .

CONCLUSIONES

El mejor crecimiento de semilla de Mytilus galloprovincialis se registró con Pavlova lutheri cultivada con el fertilizante agrícola sulfato de amonio, superando a la urea y al medio de cultivo convencional f/2 de Guillard.

La utilización del sulfato de amonio es una buena alternativa para el cultivo de microalgas como alimento para moluscos bivalvos durante la etapa de maternidad.

Una concentración de alimento de 214 mil cel/semilla/día, no es conveniente para un buen crecimiento de la semilla de Mytilus galloprovincialis en tallas de un milimetro aproximadamente.

RECOMENDACIONES

- Hacer más eficiente el muestreo de los organismos de manera que puedan obtenerse datos con distribución normal, para poder analizarlos mediante pruebas paramétricas de tal forma que se obtenga información más fina.

- Realizar una serie de análisis proximal para conocer la composición química de microalgas Pavlova lutheri cultivadas con el medio f/2, y los fertilizantes agrícolas: urea y sulfato de amonio.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- Alfonso, E. y Caseres N., 1985. Uso de nuevos fertilizantes para el cultivo de fitoplancton. Revista de Investigaciones Marinas 6(1) C.I.M. Habana.
- Aquacop, 1983. Algal food cultures at the Centre Oceanologique du Pacifique. En: CRC Handbook of Mariculture Crustacean Aquaculture. ed. J.P. Mc Vey, Boca Raton: CRC Press. p. 3-14
- Bayes, J.C., 1981. Forced upwelling nurseries for oysters and clams using impounded water systems. p. 73-83. En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus C., N. De Pauw y E. Jaspers (Eds). EMS Special Publication No. 7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium. 394 p.
- Bayne, S. M., 1976. Production of algae for use in the rearing of larvae fish. Res. Tech. Rep. MAFF. Direct. Fish. Res., Lovestoft, N53, Part 3, p.p. 12-18
- Bayne, B.L. y R. C. Newel, 1983. Physiological energetics of marine molluscs. En: The Mollusca. vol.4, part. I, cap. 9, Wilbur, K. ed. p.p. 407-515
- Bougis, P., 1976. Marine Plankton Ecology. North-Holland, Pu. Co. N.Y. p.p. 153
- Caceres-Martínez, C., 1979. Cultivo continuo de la microalga Monochrysis lutheri bajo condiciones rudimentarias. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 51 p.
- Claus, C., 1981. Trends in Nursery Rearing of Bivalve Molluscs. p.p. 1-33. En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus C., N. De Pauw y E. Jaspers (Eds). EMS Special Publication No. 7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium. 394p.

- Carpizo-Ituarte, E. J., 1983. Acondicionamiento de adultos de Mytilus californianus (Molusca Bivalvia): alimentacion y su efecto en la madurez sexual. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 67 p.
- Coe, W. R. y D. L. Fox, 1942. Biology of the californian sea mussel (Mytilus californianus) I. Influence of temperature, food supply sex and age on the rate growth. Journ. Experi. Zool. 90:1-30
- Cruz, A. S. y E. Alfonso., 1975. Cultivo masivo de algas planctonicas marinas mediante fertilización. Ciencias, Serie 8 Investigaciones Marinas # 17. p.p. 1-25
- De Pauw, N., 1981. Use and production of microalgae as food for nursery bivalves. p. 35-69. En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus C., N. De Pauw and E. Jaspers (Eds). EMS Special Publication No. 7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium. 394 p.
- De Pauw, N., J. Verboven, y C. Claus, 1983. Large scale microalgae production for nursery rearing of marine bivalves. Aquaculture Engineering. 2:27-47
- De Pauw, N. y G. Persoone, 1988. Micro-algae for aquaculture. p. 197-221. En: Micro-algal Biotechnology. Borowitzka, M. A. y L. J. Borowitzka, (Eds). Cambridge University Press. Camb. 780 p.
- Goldstein, B.B., 1984. The comercial cultivation of Crassostrea gigas in a land-based, tropical managed food chain. Aquaculture 39:393-402
- Gonzalez-Rodriguez, E. y S. Y. Maestrini, 1984. The use of some agricultural fertilizers for the mass production of marine algae. Aquaculture 36:245-256

- Granados, C. y L.F. Buckle., 1984. Cultivo de las microalgas Monochrysis lutheri y Skeletonema costatum con nutrientes producidos por estiércoles digeridos. L.C.M. y L. U.N.A.M. 1(11):241-256
- Guerrero, U. S., T. Farina y A.A. Silva., 1981. Large-scale outdoor algal production for rearing seed oyster and clams to juvenile stage. p.p. 117-139. En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus C., N. De Pauw and E. Jaspers (Eds). EMS Special Publication No. 7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium. 394 p.
- Guillard, R. R. L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. p. 26-60. En Culture of Marine Invertebrate Animals. Smith W. L. y M.H. Chanley (Eds). Plenum Publishing Corp., N.Y. 338 p.
- Harger, J. R. E., 1970. The effect of species composition on the survival of mixed population of the sea Mussels Mytilus californianus and Mytilus edulis. The Veliger 13:147-152
- Herrera-Treviño, J. R., 1988. El fertilizante agrícola como alternativa en cultivos externos para la producción masiva de Tetraselmis suecica. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 47 p.
- Lagos-Ceseña, I., 1982. Acondicionamiento del mejillón Mytilus Californianus en laboratorio y su efecto en el índice gonadal. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional. 68 p.
- Mc Carty, J. J., 1972. The uptake of urea by natural populations of marine phytoplankton. Limnol. Oceanograf. 17:738-748
- McDonald, J. H. y R. K. Koehn, 1988. The mussels Mytilus galloprovincialis and M. trossulus on the Pacific coast of North America. Mar. Biol. 99(1):111-118

- Mercer, J.P., 1981. Nursery culture of bivalve molluscs in Ireland Progres and problems. p. 189-195 En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus C., N. De Pauw y E. Jaspers (Eds). EMS Special Publication No. 7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium. 394 p.
- Mimbela-Sandoval, J. J., 1987. Cultivo de la microalga Tetraselmis suecica cultivandola con una fuente comercial de nitrogeno (Urea). Ensenada, B. C., F.C.M., U.A.B.C., Mem. Curso de Titulacion 36 p.
- Monje-Fernandez, F. J., 1983. Experimentos sobre fijación de juveniles del mejillón Mytilus californianus en colectores artificiales y estadios de crecimiento para dos especies de mejillón (Mytilus californianus y Mytilus edulis en cultivo experimental en la costa de Eréndira, B. C. Mex. Ensenada, B. C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional. 121 p.
- Morris, I., 1981. Photosynthetic products, physiological state, and phytoplankton growth. p. 83-102. En: Physiological Bases of Phytoplankton Ecology. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences. Trevor, P. (Ed). 346 p.
- Ocampo-Aranda, F. J., 1990. Efecto de la microalga Monochrysis lutheri cultivada con fertilizantes agricolas en el crecimiento y sobrevivencia de larvas y postlarvas del mejillón Mytilus edulis (L). Ensenada, B. C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 55 p.
- Ojeda, A. y A. Alfonso, 1986. Estudio comparativo del crecimiento y composición química de tres especies fitoplanctónicas utilizando cuatro fuentes de nitrogeno. Inf. Tec. Inst. Esp. Oceanogr. # 45.
- Persoone, G., 1981. p. VII-VIII, 359-380. En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus C., N. De Pauw y E. Jaspers (Eds). EMS Special Publication No. 7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium. 394 p.

- Persoone, G. y C. Claus, 1980. Mass culture of algae: a bottle-neck in the nursery culturing of molluscs. p. 265-285. En: Algae Biomass, Shelef, G. y C. J. Soeder (Eds). Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- Pruder, G. D. y E. T. Bolton, 1979. The role of CO₂ enrichment of aerating gas in the growth of an estuarine diatom. *Aquaculture*, 17:1-15
- Sarver, S. K., 1988. Genetic differentiation among populations of the bay mussel, Mytilus edulis from populations along the coast of California. *J. Shellfish Res.* 7(1):217
- Steel, R. y J. Torrie, 1986. *Bioestadística*. Mc Graw-Hill 622 p.
- Syrett, P. J., 1981. Nitrogen metabolism of microalgae. p. 182-210. En: *Physiological Bases of Phytoplankton Ecology*. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences. Trevor P. (Ed). 346 p.
- Thompson, R. J. y B. L. Bayne, 1974. Some relationship between growth, metabolism and food in the mussel, Mytilus edulis. *Mar. Biol.* 27:317-326
- Ukeles, R., 1965. A simple method for the mass culture of marine algae. *Limnol. Oceanogr.* 10:492-495
- Velazquez-Magaña, S., 1989. Contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos en Tetraselmis suecica (Kyllin) Butch con diferentes concentraciones de nutrientes en cultivo semicontinuo. Ensenada, B. C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 40 p.
- Wilkfore-GH., 1986. Altering growth and grosschemical composition of two microalga molluscan food by varying nitrate and phosphate. *Aquaculture* 59(1):1-14

Wilburn-Gonzalez, J. G., 1990. Cultivo masivo de Pavlova
lutheri con fertilizantes agricolas como fuente de
nitrogeno y bioxido de carbono. Ensenada, B. C.,
F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 50 p.

Winter, J. E., 1978. A review on the knowledge of
suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves,
with special reference to artificial aquaculture
systems. Aquaculture, 13:1-33.