

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**



**“CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *ULVA*  
*LINZA* (CHLOROPHYTA) EN CULTIVOS  
EXPERIMENTALES”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIÓLOGA**

Presenta:

**CLAUDIA LORENA NAVARRO LAMARQUE**

**Ensenada, Baja California, México.**

**Mayo, 2007.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**“CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *Ulva*  
*linza* (CHLOROPHYTA) EN CULTIVOS  
EXPERIMENTALES”**

**TESIS PROFESIONAL**

Que presenta:

**CLAUDIA LORENA NAVARRO LAMARQUE**

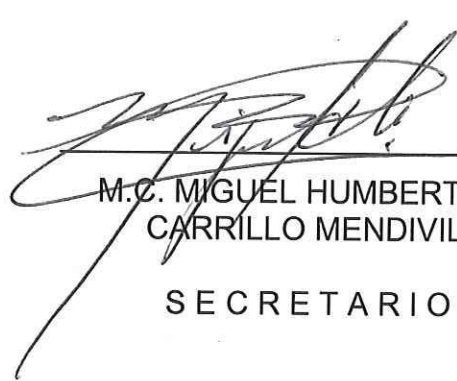
APROBADO POR:



---

DR. ISAÍ PACHECO RUÍZ

PRESIDENTE DEL JURADO



---

M.C. MIGUEL HUMBERTO  
CARRILLO MENDIVIL

SECRETARIO



---

M.C. EUSEBIO BARRETO  
ESTRADA

1ER. VOCAL

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres que me han apoyado incondicionalmente toda mi vida.

Debo agradecer al Dr. Isaí Pacheco Ruíz por todo su apoyo, tiempo y dedicación que me brindo para realizar mi tesis, así como también la invitación para participar en el congreso de la AIMAC 2007 en Hermosillo, Son.

Al M.C. Juan Manuel Vivas por ayudarme con toda la parte de cultivo, estadística, apoyo técnico, preguntas y por todos los favores que le pedía.

Al M.C. Enrique Hernández por ayudarme y asesorarme con la parte química de mi tesis.

A mis sinodales M.C Miguel Humberto Carrillo Mendivil y M.C. Eusebio Barreto Estrada por las observaciones y correcciones hechas para mejorar esta tesis.

A todos los del laboratorio de Macroalgas que me brindaron su ayuda para realizar los experimentos: Biol. Alberto Gálvez, Dr. José Zertuche, Dr. Alejandro Cabello, M.C. Víctor Macias, OC. José Guzmán,

A los compañeros encargados del Laboratorio de Microalgas por prestarme sus instalaciones: M.C. Enrique Valenzuela y OC. Filiberto Núñez.

A Sra. Hortensia Andrade por todas sus atenciones y sus charlas tan amenas.

A mis compañeras del laboratorio de Macroalgas Janette, Mariana, Elizabeth, Lea, Fernanda, Constanza, etc., por hacer que el trabajo pase de ser pesado a ser divertido.

**Muchas Gracias...**

## DEDICATORIA

A mis familiares que se nos adelantaron y se convirtieron en mis ángeles de la guardia.

A mis padres que los amo con toda el alma.

A mis hermosos sobrinos Sabina, Annika y Luis Roberto que son la alegría de la casa y la luz de mi vida.

A toda mi familia mis hermanos, tíos, primos, cuñados, sobrinos, que pese a la adversidad estamos juntos para apoyarnos.

A Mayra mi diario parlante.

A mis amigas de Mexicali (Gamz) que me conocen de toda la vida y que saben que aunque exista la distancia un pacto nos unirá.

A Haydée. Lily, Irene, Manuel e Isa por vivir conmigo en alguna etapa de mi vida universitaria.

Y a todos mis compañeros y amigos de biología y una que otra oceanóloga:  
Katy, Tavo, Alicia, Sául, Felipe, Caro, Liz, Sergio, Manuel, Brenda A, Payo, Polo, Carlos, Alejandro, Chalo, Ricardo, Amanda, Marlene, Lulú, Janette, Coynta, Abril M, Any, Brenda H, Omar, Ulises, Jancy, Abril, Ricardo Z, Juan Pedro, Paola, Güero, Alejandra, Johari, Otho, Ave, Dany, Jando, Luna, Sara, Héctor, Maria, Heber, Planta, Meche, Rocio.

**Si no conozco una cosa, la investigaré.**

Louis Pasteur (1882-1895) *Químico y microbiólogo francés.*


Resumen de la tesis de Claudia Lorena Navarro Lamarque presentada como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Biología. Ensenada, Baja California, México.

Mayo de 2007.

## CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *ULVA LINZA* (CHLOROPHYTA) EN CULTIVOS EXPERIMENTALES

Se realizó un experimento factorial de 6x5x3 en una mesa de gradientes con *Ulva linza* Linnaeus, especie común en la península de Baja California, bajo las siguientes condiciones: 10, 15, 20, 25, 30, 35°C de temperatura, irradiancias de 10, 40, 75, 150 y 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y tres fotoperíodos 9:15, 12:12, 15:9 (Luz:Oscuridad), con el objetivo de establecer las condiciones óptimas para su cultivo. También se realizaron análisis químicos proximales (% humedad, cenizas, proteínas, fibra cruda, lípidos y carbohidratos totales), y se midió el contenido y composición de polisacáridos sulfatados. Los crecimientos en el experimento factorial fluctuaron entre  $-2.53 \pm 1.35$  y  $8.18 \pm 0.28$  % peso día<sup>-1</sup>. Los mejores crecimientos se obtuvieron a temperaturas entre 10 y 25°C, irradiancias entre 150 y 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y en todos los fotoperíodos. El más alto crecimiento obtenido fue de  $8.18 \pm 0.28$  % peso día<sup>-1</sup> y se encontró a 20°C, 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y 15:9 (L:O). En la composición química de *U. linza* la fracción orgánica (44.6 %), esta compuesta por 20.18 % de carbohidratos, 19.98 % de proteínas, 3.71 % de fibra cruda y 0.728 % lípidos. Todos los porcentajes encontrados están dentro de los intervalos registrados para las Ulvales. Por el contrario, los polisacáridos sulfatados se encuentran en menores porcentajes (4.2%), de lo reportado para otras Ulvales.

Resumen aprobado:



---

Dr. Isaí Pacheco Ruíz

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>Carta de Aprobación</b>	I
<b>Agradecimientos</b>	II
<b>Dedicatoria</b>	III
<b>Resumen</b>	IV
<b>Índice general</b>	V
<b>Índice figuras</b>	VII
<b>Índice tablas</b>	IX
<b>1. Introducción.</b>	1
<b>2. Antecedentes</b>	3
<b>3. Hipótesis</b>	7
3.1 Hipótesis 1	7
3.2 Hipótesis 2	7
3.3 Hipótesis 3	7
<b>4. Objetivos</b>	8
4.1 Objetivos generales	8
4.2 Objetivos particulares	8
<b>5. Metodología</b>	9
5.1 Cultivo en mesa de gradientes	9
5.2 Análisis químico	11
5.2.1 Pigmentos	11

## Continuación

	<b>Página</b>
5.2.2 Análisis químico proximal	12
5.2.2.1 Humedad	12
5.2.2.2 Cenizas	13
5.2.2.3 Proteínas	13
5.2.2.4 Lípidos	14
5.2.2.5 Fibra cruda	15
5.2.2.6 Carbohidratos totales	16
5.2.3 Polisacáridos sulfatados	16
5.2.3.1 Carbohidratos totales	17
5.2.3.2 Proteínas	17
5.2.3.3 Sulfatos	18
<b>6. Resultados</b>	<b>19</b>
6.1 Cultivo	19
6.2 Análisis químico	24
6.2.1 Pigmentos	24
6.2.2 Análisis químicos proximal	24
6.2.3 Polisacáridos sulfatados	25
<b>7. Discusiones</b>	<b>27</b>
<b>8. Conclusiones</b>	<b>32</b>
<b>9. Literatura citada</b>	<b>33</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Talo maduro de <i>Ulva linza</i>	2
<b>Figura 2.</b> Mesa de gradientes	10
<b>Figura 3.</b> Crecimiento de <i>Ulva linza</i> a diferentes temperaturas, irradiancias y fotoperíodos	20
<b>Anexo de figuras de inicio y final del experimento</b>	41
<b>Figura 4.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 10°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.	42
<b>Figura 5.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 10°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.	43
<b>Figura 6.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 10°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.	44
<b>Figura 7.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 15°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.	45
<b>Figura 8.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 15°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.	46
<b>Figura 9.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 15°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.	47
<b>Figura 10.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 20°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.	48
<b>Figura 11.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 20°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.	49

## Continuación

	Página
<b>Figura 12.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 20°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.	50
<b>Figura 13.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 25°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.	51
<b>Figura 14.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 25°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.	52
<b>Figura 15.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 25°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.	53
<b>Figura 16.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 30°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.	54
<b>Figura 17.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 30°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.	55
<b>Figura 18.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 30°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.	56
<b>Figura 19.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 35°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.	57
<b>Figura 20.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 35°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.	58
<b>Figura 21.</b> Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 35°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.	59

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla I.</b> Análisis estadísticos ANDEVA de 3 vías	21
<b>Tabla II.</b> Comparaciones Tukey entre fotoperíodos	21
<b>Tabla III.</b> Comparación Tukey entre temperaturas	22
<b>Tabla IV.</b> Comparaciones Tukey entre Irradiancias	23
<b>Tabla V.</b> Liberación de esporas	24
<b>Tabla VI.</b> Clorofilas	24
<b>Tabla VII.</b> Composición química global de <i>U. linza</i>	25
<b>Tabla VIII.</b> Rendimiento	25
<b>Tabla IX.</b> Composición de Polisacáridos Sulfatados	26
<b>Tabla X.</b> Comparación de los análisis químicos de <i>Ulva linza</i> con otras especies de <i>Ulva</i>	29
<b>Tabla XI.</b> Composición química de los polisacáridos sulfatados extraídos de varias especies de <i>Ulva</i>	31

## 1. INTRODUCCIÓN

---

Desde tiempos antiguos el hombre ha utilizado las algas marinas para distintos fines; se han empleado en forma directa en usos tales como, forrajes, mejoradores de suelos, medicinales y alimento humano, entre otros (Druehl, 1936). Actualmente sus usos se han diversificado y tienen aplicaciones industriales (ficocoloides), agropecuarios (fertilizantes, alimenticios para ganado), médico-farmacológicos, etc. (Nisizawa, 2000). También algunos compuestos de las algas marinas se usan en numerosas actividades biológicas y fisiológicas como anticoagulante, antivirales, antitumoral, etc. (Qi Huimin, *et al.*, 2005).

Otros estudios describen las propiedades antibióticas de las macroalgas, demostrándose que diferentes géneros poseen efecto bactericida (Austin y Billaud, 1990, Negrete-Redondo *et al.*, 2006). También se demuestran propiedades antimicrobianas contra patógenos de organismos acuáticos. De esta forma, Immanuel *et al.* (2004), comprueban la capacidad antibiótica de dos algas verdes *Ulva lactuca* Linnaeus y *Ulva linza* Linnaeus, contra *Vibrio parahaemolyticus* Fujino, en camarón.

Una revisión reciente basada en genética concluyó que los géneros *Enteromorpha* sp Link y *Ulva* sp, no son entidades evolutivas separadas. Dado que este último es el nombre más antiguo, *Enteromorpha* debe ser considerada sinónimo de *Ulva* (Rico *et al.*, 2005). Este género es poco explotado y se consume tradicionalmente en Asia como alimento humano (FAO/NACA, 1995). El beneficio nutricional de esta alga comestible se debe

a su alto porcentaje en fibra dietética, la cual está compuesta por polisacáridos resistentes a las enzimas digestivas endógenas del humano. Sin embargo, la hipótesis es que los polisacáridos presentes en *Ulva* podrían desempeñar un papel protector contra ciertas patologías prevalentes en países Occidentales (Lahaye *et al.*, 1994).

*U. linza* es un alga de color verde claro brillante, de forma tubular aplanada y no ramificada con bordes ondulados, mide aproximadamente 40 cm de largo por 5 cm de ancho (figura 1). También se puede encontrar en forma aplanada, o dar la apariencia de lámina. Es cosmopolita y crece en el intermareal y submareal sobre rocas, sola o en grupo. Se puede encontrar durante todo el año (Van Patten, 2006).



Figura 1. Talo maduro de *Ulva linza*.

## 2. ANTECEDENTES

---

En el Golfo de California existen por lo menos 55 especies de algas con potencial comercial (Pacheco-Ruíz y Zertuche-González, 1996) y en el Pacífico frente a las costas de Baja California otras 29 (Aguilar-Rosas *et al.*, 1982), de estas últimas, solo tres se comercializan, debido principalmente a que no existen *in situ* biomasa suficiente o su presencia es discontinua en el tiempo, por lo que su aprovechamiento comercial podría complementarse con su cultivo (Zertuche-González, 1989).

Existen razones importantes para considerar el cultivo de las macroalgas. Por un lado, asegurar el abastecimiento de materia prima en forma continua, diversificar los ingresos de pescadores y más importante aún, el cultivo ofrece la oportunidad de mejorar los rendimientos y calidad de los productos extraídos mediante selección de técnicas y genética de cepas (Zertuche-González, 1989).

Se han hecho estudios de cultivo bajo condiciones controladas para conocer el crecimiento de algas verdes, entre ellas *U. lactuca*. En estos experimentos no se detectó efecto significativo por irradiancia. Sin embargo, la temperatura si afectó significativamente el crecimiento. La temperatura de 30°C fue letal y 18°C se consideró como óptima con un 7.5 % día<sup>-1</sup> peso húmedo (Pacheco-Ruiz *et al.*, 2003). En otro experimento con *Ulva intestinalis* Linnaeus, se observó el óptimo crecimiento con salinidades de 24 ‰, irradiancia de 250  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y una temperatura de 15°C (Kim y Lee, 1996).

Cordeiro-Marino *et al.* (1993), observaron en poblaciones de *Ulvaria sp* máximos crecimientos a 25°C con 40 ‰ de salinidad y mínimos a 30°C con 1‰, las algas murieron después de 54 a 73 días con esta combinación. No se detectó crecimiento a 15°C en cualquier salinidad.

Cultivos de *U. linza* a temperatura constante de 25°C, fotoperíodo neutro (12:12; L:O), irradiancia de 120  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (6000 lux) y uso de aguas residuales, demostraron ser excelentes condiciones para el crecimiento de esta especie, al obtenerse hasta 27 g de biomasa húmeda en 12 días. Los análisis proximales arrojaron niveles máximos de proteína de 30.2 %, carbohidratos 33.4 %, lípidos 19.8 %, cenizas 21.3 % y fibra 17.0 %, todos en base seca (Kwong-yu *et al.*, 1982).

Otros estudios sobre la composición bioquímica de algunas especies de *Enteromorpha sp*, muestran que durante primavera y otoño es más alto el contenido de proteínas y lípidos que durante el verano, cuando su contenido de carbohidratos es más alto (Haroon *et al.*, 2000).

Una gran cantidad de trabajos de investigación, arrojaron valores proximales en diferentes especies del género *Ulva*, en los cuales se observan amplios intervalos en los resultados de las diferentes especies examinadas. En este sentido, se reportaron concentraciones de cenizas que fluctúan entre 10.4 a 49.5 %, carbohidratos de 14.6 a 50.6 %; proteínas de 3.2 a 34 %; lípidos de 0.4 a 5.6 % y fibra cruda de 0.25 a 55.4 %, todos en base seca (Chapman, 1980; Piña, 1983; Darcy-Vrillon, 1993; Jensen, 1993; Haroon *et al.*, 2000; Morrisey *et al.*, 2001; McDermid y Stuercke, 2003;

Aguilera-Morales *et al.*, 2003; Hernández-Garibay *et al.*, 2006; Renaud *et al.*, 2006).

Además de su contenido en proteínas, Lahaye y Axelos (1993), sugiere que las Ulvales pueden ser una buena fuente de polisacáridos sulfatados con potencial bioactivo. En experimentos para cuantificarlos, se reportaron porcentajes fluctuantes en contenido y composición. Hernández-Garibay *et al.* (2006), por medio de extracciones ácidas en *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh, obtuvo 11.01 % de rendimiento con un contenido de 15.96 % de sulfatos, Percival (1967), reportó rendimientos de 16.0 % con 11.5 % de sulfatos en *Ulva compressa* Linnaeus, con extracciones en agua a 70°C y Lahaye *et al.* (1996), valores que fluctuaron entre 11.7 y 14.3 % en otras Ulvales.

Estos polisacáridos solubles se han caracterizado en *U. lactuca*, y se reporta que están compuestos de la combinación ramnosa, arabinosa, glucosa, xilosa, manosa, galactosa y ácido uránico (Ivanova *et al.*, 1994; Pádua *et al.*, 2004; Qi *et al.*, 2005). Las concentraciones de estos Ulvanos en *U. lactuca*, *U. rigida*, *U. pertusa* y *Ulva* sp, fluctúan de 3 a 72.9 % de glucosa, 4.9 a 10.9 % xilosa, 4.6 a 28 % ramnosa, 8.5 a 40.3 % sulfatos y 21.6 a 24.9 % ácido glucurónico (Lahaye *et al.*, 1994, Lahaye *et al.*, 1996, Qi *et al.*, 2005).

Lo anterior, resalta la importancia de conocer la biotecnología del cultivo de *Ulva* como estrategia a seguir, ya que la acuicultura de *U. linza* permitiría mantener una biomasa constante (algo que no proporcionan las praderas naturales), además de que su manejo ofrece la oportunidad de mejorar los

rendimientos y calidad de los productos extraídos mediante selección genética; todo esto con el interés de realizar una explotación comercial integral, ya que los polisacáridos sulfatados presentes en las Ulvaes, tienen propiedades antivirales (Ivanova *et al.*, 1994).

Lo anterior hace surgir una serie de cuestionamientos alrededor de *U. linza*, ¿Cuáles son las condiciones óptimas (irradiancia, fotoperíodo y temperatura) de crecimiento? ¿En que porcentaje están sus componentes químicos (proteínas, fibra cruda, lípidos, cenizas, carbohidratos) en el alga? y sobre todo ¿Cuál es su contenido y composición de polisacáridos sulfatados?

Sin duda, responder estas preguntas sentará la bases para una explotación mas racional de *U. linza*, ya sea de mantos naturales o producto de la biotécnia del cultivo.

### 3. HIPÓTESIS

---

#### 3.1 Hipótesis 1:

Las diferentes condiciones de temperaturas, irradiancias y fotoperíodos a las que someterá a *U. linza*, producirán cambios en su crecimiento.

#### 3.2 Hipótesis 2:

La composición química (proteínas, fibra cruda, lípidos y cenizas, carbohidratos) de *U. linza* debe ser similar a lo encontrado en otras especies del género *Ulva*.

#### 3.3 Hipótesis 3:

*U. linza* contiene polisacáridos sulfatados similares en composición a todas las Ulvales.

## 4. OBJETIVOS

---

### 4.1 Objetivo general:

- Conocer las condiciones óptimas para el cultivo de *U. linza*.
- Evaluar la composición química de *U. linza*.

### 4.2 Objetivos particulares:

- Determinar las condiciones óptimas de crecimiento de *U. linza* a diferentes valores de irradiancia, temperatura y fotoperíodo.
- Evaluar la relación peso fresco/peso seco de *U. linza*.
- Cuantificar el contenido de humedad, cenizas, proteínas, fibra cruda, lípidos y carbohidratos totales en *U. linza*.
- Evaluar el contenido y composición de los polisacáridos sulfatados en *U. linza*.

## 5. METODOLOGÍA

---

El material biológico fue obtenido de cultivos de *U. linza* de estanques exteriores del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) en el mes de marzo de 2006. La cepa se desarrolló a partir de esporas que se introdujeron en el agua de bombeo a los estanques de cultivo, por lo que es una cepa oriunda.

Las muestras se dividieron en dos partes, una para los experimentos de cultivo y otra para los análisis químicos.

### 5.1 CULTIVO EN MESA DE GRADIENTES:

Fragmentos de 0.05 g de muestra se colocaron en cajas petri de plástico de 100 ml, con 4 divisiones internas, a cada espacio se le añadió agua de mar filtrada (0.2  $\mu\text{m}$ ), esterilizada en autoclave (15 minutos) y enriquecida con medio Provasoli's modificado (Provasoli, 1968; Andersen, 2005). Posteriormente, las cajas con macroalgas se colocaron en las siguientes condiciones:

Temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35°C, irradiancias de 10, 40, 75, 150 y 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y tres fotoperíodos 9:15, 12:12, 15:9 (Luz:**O**scuridad; L:**O**). El experimento consistió en un factorial de 6x5x3 y se realizó en una mesa de gradientes como la descrita por Yarish *et al.*, (1979). Con la idea de realizar un registro visual de los cambios ocurridos en el alga

durante el período de cultivo, se tomaron fotografías con una cámara digital (kodak DX6440) al inicio y al final del experimento (Ver fotos anexo).

La iluminación se suministró por dos lámparas con dos tubos de luz blanca de 4 pies de 40 W por cada mesa. La luz externa se eliminó por cortinas hechas con bolsas de plástico negras y el fotoperíodo se controló con un reloj de tiempo (Steren, modelo TEMP-24H) (Fig. 2).



Fig. 2. Diseño experimental de la mesa de gradientes. Se observan las placas de aluminio (1), las lámparas de luz fría (2) y los termocirculadores (3) (Yarish *et al.*, 1979 y Zertuche-González, 1989).

La irradiancia se midió con un irradiómetro analógico 4 $\pi$ . (Biospherical Instruments Inc, QSL-100), la salinidad con un refractómetro cada dos días (Vista A366ATC) y la temperatura con un termómetro digital (Fisher Scientific 15-077-8D).

Para mantener los gradientes de temperatura se utilizaron tres termocirculadores (Fisher Scientific) y la temperatura del laboratorio se mantuvo controlada a  $17\pm 1^{\circ}\text{C}$  por un aparato de refrigeración (Carrier).

La tasa de crecimiento específico se calculó en peso húmedo semanalmente durante 42 días mediante la fórmula DeBoer *et al.*, (1978):

$$W = [\text{Ln} (w2 / w1) / t] * 100$$

Donde:

W = Porcentaje de crecimiento específico por semana.

w1 = Peso inicial en gramos

w2 = Peso final en gramos

t = tiempo

Ln = Logaritmo natural

A los datos obtenidos se les aplicó un estadístico ANDEVA de 3 vías y pruebas *a posteriori* Tukey (paramétrica o no paramétrica según la homodasticidad y normalidad de los datos) (Sokal y Rohlf, 1981; Zar, 1999).

## 5.2 ANÁLISIS QUÍMICOS

### 5.2.1 Pigmentos:

Para estimar los pigmentos (Dawes, 1986) se pesaron 0.03 g de alga seca. El material se colocó en un mortero, se le adicionaron 5 mL de acetona

al 80% y se homogenizó en baño de hielo. Posteriormente se filtró con un filtro shark skin (Schleicher y Schuell, 12.5 cm), y se midieron las absorbancia a 430, 480, 510, 630, 647 y 664 nm.

El contenido de clorofila a, b y carotenos se determinó con las siguientes fórmulas:

$$\text{Chl } a = V \times [(11.85 \times A_{664}) - (1.54 \times A_{647}) - (0.08 \times A_{630})] / p$$

$$\text{Chl } b = V \times [21.03 \times A_{647}) - (5.43 \times A_{664}) - (2.66 \times A_{630})] / p$$

$$\text{Carotenos} = V \times [(7.6 \times A_{480}) - (1.49 \times A_{510})] / p$$

Donde: V = volumen del extracto acetónico, y

p = peso del alga en mg

## 5.2.2 Análisis químico proximal

### 5.2.2.1 Humedad:

Muestras por triplicado de 3 g de alga fresca lavada y libre de material extraño se pesó en una balanza analítica digital (Sartorius BB 2105). Posteriormente se colocaron en una estufa (Precision Scientific modelo 2 EG), a 60°C hasta obtener peso constante (A.O.A.C., 1990). En seguida, se calculó la relación peso fresco/peso seco.

### **5.2.2.2 Cenizas:**

Un gramo de muestra seca y molida se colocó en una cápsula de porcelana (a peso constante). Posteriormente, se colocó en una mufla (Barnstead Thermolyne 1400) a 450°C durante 4 horas para su calcinación (A.O.A.C., 1990). El porcentaje de cenizas se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = (\text{g muestra calcinada} / \text{g muestra original}) \times 100$$

### **5.2.2.3 Proteínas:**

Para el análisis de proteínas se empleó el método MicroKjeldhal (A.O.A.C., 1990), el cual consta de tres pasos:

#### **1) Digestión**

En un matraz microkjeldhal de 30 mL se introdujeron 0.1 g de muestra seca y molida, 0.5 g de  $K_2SO_4$ , algunos granos de  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  y 2 mL de  $H_2SO_4$  concentrado. La digestión se llevó a cabo calentando en el digestor Microkjeldhal, hasta que la mezcla estuvo libre de partículas negras y presentó un color verde-azul cristalino. El blanco se hizo en las mismas condiciones agregando todos los reactivos excepto la muestra. Después que los digeridos se dejaron enfriar, se disolvieron en agua y se aforaron a 25 mL.

## 2) Destilación por arrastre de vapor

Se empleó el aparato de destilación (Rapid destilation unit LABCONCO). Para la destilación se usó una alícuota de 5 mL del digerido y se agregaron 9 mL de NaOH al 40%. La destilación se inició y se recogieron 40 mL del destilado en el matraz de recepción que contenía 5 mL de ácido bórico saturado más 5 mL de agua destilada con algunas gotas de indicador Shiro-Tashiro, el destilado viró de violeta a verde.

## 3) Titulación

Se titulo con HCl 0.01 N hasta que la muestra viró de verde a violeta. El porcentaje de proteínas se calculó mediante la fórmula:

$$\% \text{Nitrógeno protéico (Np)} = \frac{[(\text{mL muestra} - \text{mL blanco}) \times N(\text{HCl}) \times 1.4] \times \text{alícuota}}{\text{Peso de la muestra en g}}$$

Donde N es la normalidad del ácido empleada en la titulación.

$$\% \text{ Proteínas} = (\% \text{ N p}) \times 6.25$$
$$\text{Factor protéico} = 6.25$$

### 5.2.2.4 Lípidos:

Para la determinación de lípidos se empleó el método gravimétrico (Dawes, 1986), colocando 0.1 g de muestra de *U. linza* molida en 25 mL de una solución de cloroformo:metanol (2:1), en tubos de vidrio con rosca. Posteriormente se colocaron en baño maría (Precision modelo 181) a 60°C durante 30 min., al final se ajustó el volumen a 25 mL con la solución de cloroformo:metanol. La solución resultante se filtró a través de papel

Whatman No. 1 y se colectaron 20 mL, a los cuales se le agregó 4 mL de agua destilada; se agitó por 5 min. y se centrifugó por 10 min. a 1500 rpm en una centrífuga (Damon/IEC HN-SII).

La fase acuosa superior se decantó y la fracción remanente se evaporó en estufa a 60°C hasta un volumen de 1 mL; se transfirió cuantitativamente a cápsulas de aluminio a peso constante y se evaporó a sequedad a 60°C, se dejó enfriar en una cápsula de desecación con drierita por 15 min., posteriormente se pesó.

El porcentaje de lípidos, se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Lípidos} = (\text{peso final}) \times (5/4) \times 100 / \text{g muestra inicial}$$

#### **5.2.2.5 Fibra cruda:**

Para determinar el porcentaje de fibra cruda, se utilizó el método Kennedy (A.O.A.C., 1990). Se colocó 0.5 g de tejido de *U. linza* molida en un vaso de precipitado con 125 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1.25 % y se calentó a reflujo por 30 min. en parrillas con agitación y calentamiento (Corning modelo PC-420). Posteriormente, se dejó enfriar y se agregaron 150 mL de NaOH al 3.5 % y se calentó nuevamente a reflujo durante 30 min.

El material se filtró a través de un crisol Gooch con fibra de asbesto previamente calcinado (a peso constante) en una mufla (Barnstead Thermoline Furnace modelo 1400) y se lavaron con 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1.25 % caliente, seguido de 200 mL de agua destilada caliente y 15 mL de etanol. El

material se secó en una estufa por 4 h a 105°C y se pesó (peso 1). Luego se colocó en la mufla por 4 h a 450°C y se pesó (peso 2). Se realizó el cálculo del porcentaje de fibra cruda con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = (\text{peso 1} - \text{peso 2}) \times 100 / \text{g muestra}$$

#### **5.2.2.6 Carbohidratos totales:**

Se calcularon por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - (\text{lípidos} + \text{proteínas} + \text{humedad} + \text{cenizas} + \text{fibra cruda})$$

#### **5.2.3 Polisacáridos sulfatados**

La extracción de polisacáridos sulfatados de *U. linza* se hizo mediante el método propuesto por Percival, 1967; se emplearon tres medios diferentes: a) Agua a pH 6-7 b) HCl 0.1 N y c) NaOH 4 %. Las extracciones se hicieron sometiendo 2 g de alga seca y molida en 50 mL de los respectivos medios, se calentó a 60°C durante 3 horas. La solución resultante se filtró a través de un filtro Whatman No. 1, el filtrado se colectó, el residuo se resuspendió en 50 mL de solución y se reextrajo por 2 horas adicionales, luego se filtró y los filtrados de cada medio se juntaron, mientras que el residuo se secó y pesó.

Las soluciones filtradas se dejaron reposar por 18 horas a 60°C para disminuir a la mitad de su volumen. A la solución concentrada se le adicionó NaCl hasta 0.1 M y posteriormente se precipitó con 3 volúmenes de etanol concentrado, se dejó reposar por 2 horas y se centrifugó por 5 minutos a 4,000 rpm, el "pellet" obtenido se lavó 2 veces con etanol al 70 % por 30 minutos para eliminar sales y 2 veces con etanol concentrado para deshidratar; el producto se secó a 60° C en estufa de convección y se pesó.

### **Caracterización de los polisacáridos sulfatados:**

**5.2.3.1** Carbohidratos totales: El contenido de carbohidratos en los polisacáridos sulfatados se determinó mediante la prueba de Fenol-Ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), empleando glucosa como estándar (100 µg/mL).

El procedimiento se describe a continuación:

En tubos de ensayo de 15 x 160 se agregan 2 mL de muestra problema y 0.5 mL de fenol 3%. El material se agitó y se le agregaron 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (en un movimiento rápido). Se volvió a agitar y se dejó reposar por 30 min. Posteriormente se leyó su absorbancia a 485 nm en un espectrofotómetro (Beckman Coulter, Du 530 espectrofotómetro VIS).

**5.2.3.2** Proteínas se utilizó el método MicroKjeldhal (*op cit.*) descrito arriba con cambios en la cantidad de muestra, se utilizaron 0.05 g de muestra y se aforó a 10 mL.

**5.2.3.3** Para sulfatos, se utilizó el método turbidimétrico de Tabatabai 1974. En donde 0.020 g del polisacárido se hidrolizó en 0.5 mL de HCl 2N por 2 horas a 100°C, el hidrolizado se aforó a 10 mL y se filtró. La cuantificación se hizo mediante el método descrito empleando una curva de calibración con  $K_2SO_4$ .

## 6. RESULTADOS

---

### 6.1 CULTIVO:

En general los crecimientos en el experimento factorial fluctuaron entre  $2.53 \pm 1.35$  y  $8.18 \pm 0.28$  % día<sup>-1</sup> peso húmedo. Sin embargo, los mejores crecimientos se obtuvieron a temperaturas entre 10 y 25°C, irradiancias entre 150 y 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y en todos los fotoperíodos. Los crecimientos más bajos se detectaron en la temperatura 35°C en las irradiancias de 10 y 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y en los fotoperíodos corto y largo (Fig. 3). Independientemente de lo anterior, el óptimo crecimiento fue de  $8.18 \pm 0.28$  % día<sup>-1</sup> peso húmedo y se localizó en temperaturas de 20°C, irradiancias de 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y un fotoperíodo de 15:9 (L:O).

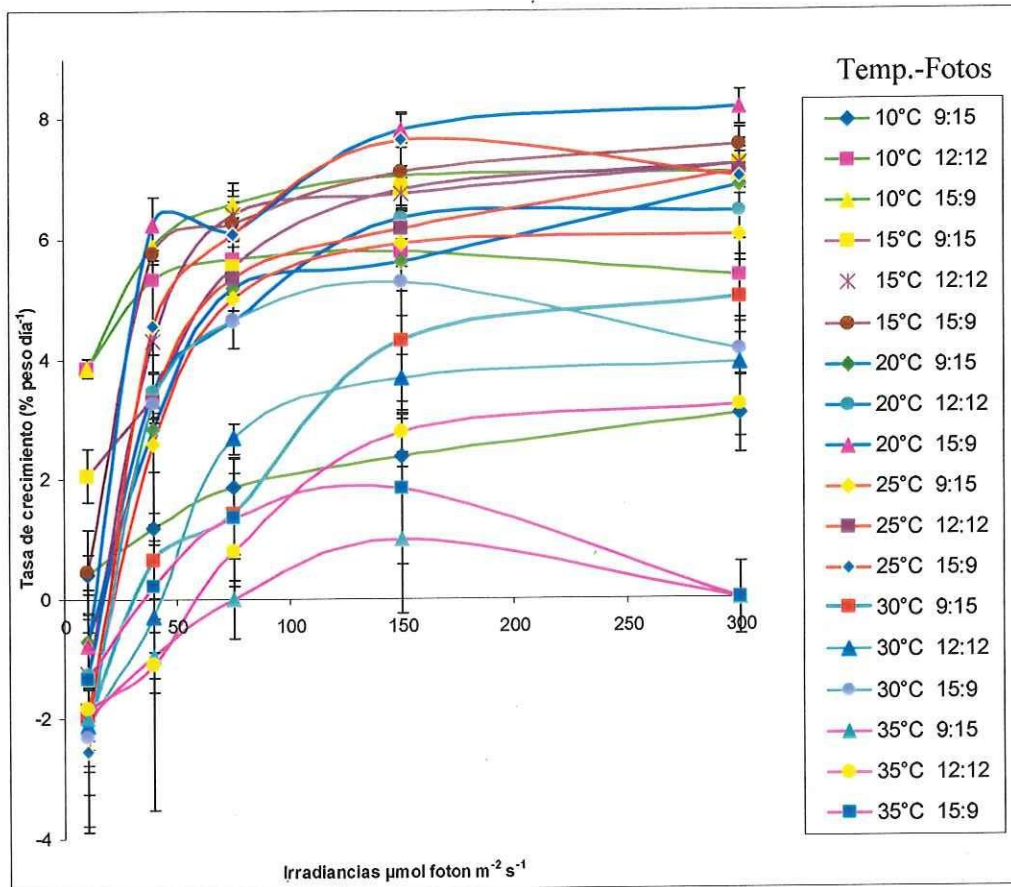


Figura 3. Crecimiento de *Ulva linza* a diferentes temperaturas, irradiancias y fotoperíodos (n=4 pseudo-réplicas).

El análisis estadístico ANDEVA arrojó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ), entre las variables utilizadas en este experimento que fueron fotoperíodo, temperatura e irradiancia (Tabla I). Los datos no fueron normales ( $p < 0.050$ ) y todos presentaron homogeneidad de varianza ( $p = 1.000$ ).

Tabla I. Análisis estadísticos ANDEVA de 3 vías sin replica, para comprobar efectos por fotoperíodo, temperatura e irradiancia en *U. linza*.

Variación	g. l	s. c	c. m	F		P	Significancia
				calc.	crítica		
Fotoperíodo	2	42.447	21.223	47.873	3.23	<0.001	*
Temperatura	5	258.706	51.741	116.711	2.45	<0.001	*
Irradiancia	4	416.959	104.24	235.13	2.61	<0.001	*
Residual	40	17.733	0.443				
Total	89	854.563	9.602				

\*Diferencia significativa  
 $\alpha = 0.05$

Las comparaciones *a posteriori* Tukey muestran que hubo diferencias entre todos los fotoperíodos (15:9≠12:12≠9:15) utilizados (tabla II).

Tabla II. Comparaciones Tukey entre fotoperíodos

Comparación (L:O)	Diferencias				P	P<0.050
	de medias	P	q	P		
15:9 vs. 9:15	1.682	3	13.834	<0.001	*	
15:9 vs. 12:12	0.804	3	6.61	<0.001	*	
12:12 vs. 9:15	0.878	3	7.223	<0.001	*	

\*Diferencia significativa

Las comparaciones *a posteriori* Tukey entre temperaturas no arrojan diferencias significativas entre 15=10; 15=20 y 20=25°C; mientras que en 30 y 35°C fueron diferentes a todos los demás (tabla III).

Tabla III. Comparación Tukey entre temperaturas

Comparación (°C)	Diferencias de medias	P	Q	P	P<0.050
15 vs. 35	4.775	6	27.777	<0.001	*
15 vs. 30	3.167	6	18.424	<0.001	*
15 vs. 25	1.015	6	5.905	0.002	*
15 vs. 10	0.689	6	4.007	0.073	NS
15 vs. 20	0.58	6	3.373	0.186	NS
20 vs. 35	4.195	6	24.404	<0.001	*
20 vs. 30	2.587	6	15.05	<0.001	*
20 vs. 25	0.435	6	2.531	0.484	NS
20 vs. 10	0.109	6	0.633	0.998	NS
10 vs. 35	4.087	6	23.771	<0.001	*
10 vs. 30	2.479	6	14.417	<0.001	*
10 vs. 25	0.326	6	1.898	0.76	NS
25 vs. 35	3.76	6	21.873	<0.001	*
25 vs. 30	2.152	6	12.519	<0.001	*
30 vs. 35	1.608	6	9.354	<0.001	*

\*Diferencia significativa

NS Diferencia no significativa

Las comparaciones *a posteriori* Tukey entre irradiancias arrojaron diferencias significativas en todas ellas, excepto 150 vs. 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  donde no se detectó diferencia significativa (tabla IV).

Tabla IV. Comparaciones Tukey entre Irradiancias

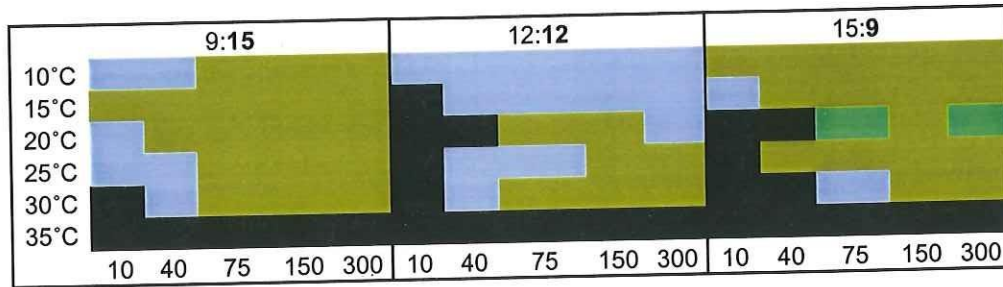
Comparación ( $\mu\text{mol}$ fotón $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Diferencias de medias	P	Q	P	P<0.050
300 vs. 10	5.773	5	36.783	<0.001	*
300 vs. 40	2.333	5	14.869	<0.001	*
300 vs. 75	0.969	5	6.176	<0.001	*
300 vs. 150	0.0195	5	0.124	1	NS
150 vs. 10	5.753	5	36.658	<0.001	*
150 vs. 40	2.314	5	14.744	<0.001	*
150 vs. 75	0.95	5	6.052	0.001	*
75 vs. 10	4.803	5	30.607	<0.001	*
75 vs. 40	1.364	5	8.693	<0.001	*
40 vs. 10	3.439	5	21.914	<0.001	*

\*Diferencia significativa

NS Diferencia no significativa

Las observaciones visuales en algunos tratamientos, revelaron liberaciones masivas de esporas desde la primera semana en algunos tratamientos ( $10^{\circ}\text{C}$  y  $15^{\circ}\text{C}$ , 15:9 fotoperíodo e irradiancias de 75, 150 y 300  $\mu\text{mol}$  fotón  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (tabla V). A temperaturas de  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$  y  $30^{\circ}\text{C}$  (9:15, 12:12, 15:9; L:O) la liberación de esporas aumentó gradualmente conforme pasaban las semanas, mientras que en temperatura de  $35^{\circ}\text{C}$ , todos los fotoperíodos (9:15, 12:12, 15:9) e irradiancias (10, 40, 75, 150 y 300  $\mu\text{mol}$  fotón  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), no se observó liberación, ya que las algas murieron (tabla V).

Tabla V. Liberación de esporas



## 6.2 ANÁLISIS QUÍMICO:

### 6.2.1 Pigmentos

*U. linza* esta compuesta de los pigmentos Chla, Chlb y carotenos, donde el pigmento más abundante es la clorofila a (tabla VI).

Tabla VI. Clorofilas

<b>Clorofila a</b>	<b>872.72µg</b>
<b>Clorofila b</b>	<b>580.87µg</b>
<b>Carotenos</b>	<b>584.71µg</b>

### 6.2.2 Análisis proximal

En la composición química global del alga *U. linza* se apreció que en la fracción orgánica (44.64 %) los carbohidratos predominaron con un 20.18%, seguido de las proteínas con 19.98 %, fibra cruda con 3.71% y lípidos con 0.728 %. Con un porcentaje de humedad del 12% y el resto lo constituyen las cenizas con un 43.4% (tabla VII).

Tabla VII. Composición química global del alga *U. linza*

ANÁLISIS PROXIMAL		
	<i>U. linza</i>	Desv. Est.
Cenizas	43.4	1.16
Humedad	12	*
CHO's	20.18	*
Proteínas	19.98	0.49
Fibra Cruda	3.705	0.11
Lípidos	0.7275	0.02

### 6.2.3 Polisacáridos sulfatados:

El mayor rendimiento se obtuvo en la extracción alcalina y el mínimo con agua a pH neutro (Tabla VIII).

Tabla VIII Rendimiento

RENDIMIENTO	
Medio	%
H <sub>2</sub> O	6.55
H <sup>+</sup>	6.6
OH <sup>-</sup>	11.75

En lo correspondiente a la composición de los polisacáridos sulfatados, el mayor porcentaje de CHO's se obtuvo en la extracción neutra y menor en la extracción alcalina. El mayor porcentaje sulfatos se obtuvo del medio ácido y menor del alcalino. La mayor cantidad de proteínas se detectó, en la muestra neutra con un 6.6%, siguiéndole la muestra ácida con un 4.3% y la alcalina un 1.6% (tabla IX).

Tabla IX. Composición de Polisacáridos Sulfatados

	CHO's	SO <sub>3</sub>	Proteínas
pH neutro	49.5 ± 4.95	2.6 ± 0.2	6.6 ± 0.5
Ácido	42.2 ± 1.92	4.2 ± 0.2	4.3 ± 0.5
Alcalino	8.6 ± 0.5	1.4 ± 0.1	1.6 ± 1.8

± = desviaciones estándar

## 7. DISCUSIONES

---

En este experimento se detectaron cambios significativos en el crecimiento de *Ulva linza* en las diferentes condiciones probadas, esto se debió a que las plantas respondieron a las condiciones sometidas de una manera diferente. Los mejores crecimientos se observaron a temperaturas de 10, 15, 20 y 25°C con irradiancias altas (150 y 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y en todos los fotoperíodos. Sin embargo, a 35°C el crecimiento fue bajo y en algunos casos (300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) las algas murieron después de tres semanas de experimentación, sin detectarse reproducción. Comportamientos similar se reporta en *Ulva lactuca*, donde 30°C fue letal para el alga (Pacheco-Ruíz *et al.*, 2003).

El mejor crecimiento se obtuvo en temperatura de 20°C, irradiancia de 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y un fotoperíodo de 15:9 (L:O). Estas condiciones fueron diferentes a lo reportado por Kwong-yu *et al.* (1982), en Hong Kong con *U. linza*, al reportar crecimientos óptimos a 25°C, 120  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y fotoperíodo neutro. Estas diferencias se podrían atribuir a variación asociada al medio donde se desarrolla cada especie (diferentes ecotipos) (Lüning, 1990).

En temperaturas de 30 y 35°C, las algas que sobrevivieron sufrieron fuerte contaminación de epifitas, lo anterior se atribuye a que la cepa que se utilizó para el experimento no eran cultivos axénicos ya que se obtuvieron de los tanques exteriores del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, donde el agua que se utiliza solo pasa por un filtro de arena. Las especies que

aparecieron en altas temperaturas son algas filamentosas oportunistas que tienen mayores límites de tolerancia que *U. linza* y la utilizan como sustrato y en condiciones extremas presentan un rápido desarrollo, desplazando al hospedero (Moll y Deikman, 1995).

En todas las temperaturas se observó decoloración del tejido en cultivo, lo cual se atribuye principalmente al efecto de liberación de esporas por las algas. Este comportamiento se ha reportado en *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh (Moll y Deikman, 1995) y se corroboró en este experimento al observarse liberación masiva de esporas desde la primera semana, lo anterior se debió al estrés ocasionado por el cambio de temperatura y fotoperíodo en el que fue sometido el alga.

Respecto al análisis químico proximal de *U. linza*, los resultados indican que las cenizas y los carbohidratos son los componentes químicos más abundantes. Este hallazgo es normal, ya que los carbohidratos son un componente importante para el metabolismo, pues es el producto de la fotosíntesis, que provee la energía necesaria para la respiración y otros procesos metabólicos y forma parte de la matriz y pared celular de las macroalgas (Haroon *et al.*, 2000, Kloareg y Quatrano 1988). Sin embargo, el porcentaje de carbohidratos en *U. linza* es de los mas bajos reportados hasta el momento (**20.18 %**) y solo se han obtenido valores inferiores en *U. lactuca* con 14.6 % (Renaud *et al.*, 2006), *Ulva. fascista* 17.1 % (McDermid, 2003) y *U. intestinales* 18.7 % (Renaud *et al.*, 2006; Tabla X).

Tabla X. Comparación de los análisis químico de *Ulva linza* (Bahía de Todos Santos) con otras especies *Ulva* (valores expresados en %).

	Cenizas	Humedad	CHO's	Proteínas	Lípidos	Fibra Cruda
Algas verdes <sup>(1)</sup>	10-50		50	10-30	1-5	
<i>U. clathrata</i> <sup>(2)</sup>	47.2	10.16	21.82	19.95	0.88	N.D
<i>U. compressa</i> <sup>(3)</sup>	10.4	13.6	53	12.4	N.D	10.6
<i>U. fascista</i> <sup>(4)</sup>	26.01	N.D	44.65	17.93	1.8	9.61
<i>U. fascista</i> <sup>(5)</sup>	25.4	83.4	20.6	12.3	3.6	N.D
<i>U. fascista</i> <sup>(6)</sup>	32.2	86.1	17.1	8.8	5.1	N.D
<i>U. flexuosa</i> <sup>(7)</sup>	23.2	87.6	39.9	7.9	5.6	N.D
<i>U. intestinales</i> <sup>(8)</sup>	29.2	93.6	22.2	11.4	5.2	N.D
<i>U. intestinales</i> <sup>(9)</sup>	49.5	N.D	18.7	3.2	1.8	N.D
<i>U. lactuca</i> <sup>(10)</sup>	21.3	N.D	14.6	7.06	1.64	55.4
<i>U. lactuca</i> <sup>(11)</sup>	15.6	18.7	50.6	14.9	0.4	0.2
<i>U. linza</i> <sup>(12)</sup>	19.2	13.5	46.2	19.3	1.73	N.D
<b><i>U. linza</i> **</b>	<b>43.3</b>	<b>12</b>	<b>20.18</b>	<b>19.98</b>	<b>0.7275</b>	<b>3.705</b>
<i>U. rigida</i> <sup>(13)</sup>	N.D	N.D	46	25	1	N.D
<i>Ulva sp</i> <sup>(14)</sup>	N.D	N.D	48	18	1.7	N.D
<i>Ulva sp</i> <sup>(15)</sup>	36.38	6.7	N.D	14.10	N.D	N.D
<i>Ulva sp</i> <sup>(16)</sup>	N.D	N.D	34.02	14.37	3.92	N.D

Chapman, 1980<sup>(3,11 y 12)</sup>, Piña, 1983<sup>(4)</sup>, Darcy-Vrillon, 1993<sup>(1)</sup>, Jensen, 1993<sup>(1)</sup>, Haroon *et al.*, 2000<sup>(16)</sup>; Morrisey *et al.*, 2001<sup>(13 y 14)</sup>; McDermid, 2003<sup>(5, 6, 7 y 8)</sup>; Aguilera-Morales *et al.*, 2003<sup>(15)</sup>; Hernández-Garibay *et al.*, 2006<sup>(2)</sup>; Renaud *et al.*, 2006<sup>(9 y 10)</sup>, Este trabajo \*\*.

N.D. No determinado

Los minerales en las macroalgas, tienen como principal función crear un balance de cargas en los procesos de osmoregulación. El contenido de minerales reportado en macroalgas es generalmente alto, de 10 a 50% de su peso seco (Jensen, 1993). *U. linza* en esta investigación presentó altos porcentajes de minerales (43.3 %), contrario a lo reportado para esta misma especie (19.2 %) por Chapman (1980). Sin embargo, los valores reportados en esta investigación están dentro del intervalo reportado para algas verdes por Darcy-Vrillon (1993; tabla X).

En proteínas en el género *Ulva* registra intervalos entre 10 al 30% (Darcy-Vrillon, 1993). Las proteínas son un componente importante de la composición estructural de las macroalgas marinas (Haroon *et al.*, 2000). Investigaciones anteriores con *U. linza* reportan porcentajes que caen dentro del intervalo reportado por Chapman (1980) en las Ulvales.. En este experimento los porcentajes de proteínas en *U. linza* fue de los más altos que se tengan registro, únicamente superados por *U. clathrata* (Hernández-Garibay *et al.*, 2006; tabla X).

Los lípidos constituyen la proporción relativamente más pequeña en el tejido de las algas marinas (Haroon *et al.*, 2000), su concentración varía entre el 1 y 5% (Darcy-Vrillon, 2003). El contenido de lípidos reportado para *U. linza* por Chapman (1980), se encontró dentro de este intervalo (1.73 %). Sin embargo, en esta investigación los porcentajes de lípidos *U. linza* estuvieron por debajo del intervalo reportado por (0.7275 %; tabla X).

El mayor rendimiento polisacáridos sulfatados se obtuvo en la extracción alcalina con un 11.75%, pero con valores de SO<sub>3</sub> (1.4 %) más bajos que con la extracción ácida (4.2 %). Esto se puede deber a la precipitación de sales junto con los polisacáridos (Tabla IX), estos valores fueron mucho menores a los reportados por Hernández-Garibay *et al.* (2006), quien obtiene 15.96% de sulfatos con extracciones ácidas en *U. clathrata*. Sin embargo son similares a los encontrados por Percival (1967), con 11.5 % de sulfatos en *U. compressa*, con extracciones en agua a 70°C y Lahaye *et al.* (1996), intervalo de 11.7 y 14.3 % en Ulvales (tabla XI).

Tabla XI. Composición química de los polisacáridos sulfatados extraídos de varias especies de *Ulva* (% peso seco)

	Azúcares totales	Sulfatos	Proteínas	CHOS
<i>Ulva armonica</i> <sup>2</sup>	57.2	11.7	Nd	Nd
<i>Ulva compressa</i> <sup>1</sup>	Nd	11.5	Nd	Nd
<i>Ulva clathrata</i> <sup>3</sup>	Nd	15.96	44.25	19.22
<i>Ulva gigantea</i> <sup>2</sup>	79.6	11.9	Nd	Nd
<b><i>Ulva linza</i> **</b>	<b>Nd</b>	<b>4.2</b>	<b>4.3</b>	<b>42.2</b>
<i>Ulva rigida</i> <sup>2</sup>	59.5	14.3	Nd	Nd
<i>Ulva rotundata</i> <sup>2</sup>	56.9	13.5	Nd	Nd
<i>Ulva olivascens</i> <sup>2</sup>	63.4	13.8	Nd	Nd
<i>Ulva scandinavica</i> <sup>2</sup>	56.3	13.1	Nd	Nd

Percival, 1967<sup>1</sup>, Lahaye *et al.*, 1996<sup>2</sup>; Hernandez-Garibay *et al.*, 2006<sup>3</sup>, Este trabajo \*\*  
Nd. No determinado

Los polisacáridos sulfatados de *U. linza* fueron similares a los resultados obtenidos para *U. clathrata* (Hernandez-Garibay *et al.*, 2006), se componen de carbohidratos, sulfato inorgánico y una fracción proteica; donde el porcentaje de sulfatación y proteínas es menor en *U. linza* que en *U. clathrata*.

## 8. CONCLUSIONES

---

1. El mejor crecimiento se obtuvo en temperatura de 20°C, irradiancia de 300  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y un fotoperíodo de 15:9 (L:O).
2. Las cenizas y los carbohidratos fueron los componentes químicos más abundantes.
3. Los lípidos constituyen la proporción relativamente más pequeña en *U. linza*.
4. El rendimiento de polisacáridos sulfatados *U. linza* es menor a los registrados en otras especies de *Ulva*.
5. El extracto obtenido en medio ácido fue el tuvo el más alto contenido de sulfato.

## 9. LITERATURA CITADA

---

- Aguilar-Rosas, L. E., Aguilar Rosas, I. Pacheco Ruiz, E. Borquez Garcés, M. A. Aguilar Rosas y E. Urbieta González. 1982. Algas de importancia económica de la región noroccidental de Baja California, México. *Ciencias Marinas*. 8: 49-63.
- Aguilera-Morales, M., Casas-Valdez, M., Carrillo-Domínguez. S., González-Acosta, B., Pérez-Gil, F. 2003. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha spp.* as a potential food source. México. *Journal of Food Composition and Análisis*.
- Andersen, R.A. 2005. *Algal culturing techniques*. China. Elsevier Academic Press. 578 pp.
- A.O.A.C. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15<sup>th</sup> edition. AOAC. Washington, D.C. 556 pp.
- Austin, B., Billaud, A. C. 1990. Inhibition of the fish pathogen, *Serratia liquefaciens*, by an antibiotic-producing isolate of *Planococcus* recovered from sea water. *Fish Diseases* 13: 553-556.
- Chapman, V.J. 1980. *Seaweeds and their uses*. USA. British Library cataloguing in Publication Data. 88-97.

Cordeiro-Marino, M.; Braga, M. R. A.; Fujii, M. T.; Guimaraes, S. M. P. B. and Mitsugi, E. M. 1993. Monostromatic green algae from Espírito Santo State, Brazil: life history, growth and reproduction in culture. *Revista Brasileira de Biologia*, 53: 285-293.

Darcy-Vrillon B. 1993. Nutricional Aspects of the Developing use of Marine Macroalgae for the Human Food Industry. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 44:23-35.

Dawes, C.J. 1986. *Botánica Marina*. Limusa. México. 676 pp.

DeBoer, J.A., Guigli, H.J., Israel, T.L. Elia, C.F.D. 1978. Nutritional studies of two red algae. I. Growth rate as a function of nitrogen source and concentration. *Journal of Phycology*. 14: 261-266.

Druehl, L. 1936. *Pacific Seaweeds*. Ed. Harbour Publishing. Canada. pp. 142-152.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. 1956. Calorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Analit. Chem.* 28: 350-356.

FAO/NACA 1995. *Regional Study and Workshop on the Environmental Assessment and Management of Aquaculture Development*

(TCP/RAS/2253). NACA Environment and Aquaculture Development Series No. 1. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific, Bangkok, Thailand.

Haroon, A. M., Szaniawska, A., Normant, M., Janas, U. 2000. The biochemical composition of *Enteromorpha* spp. From the Gulf of Gdansk coast on the southern Baltic Sea. *Oceanologia*. 42: 19-28.

Hernández-Garibay Enrique, Rodríguez-Gamboa Annabel, Pacheco-Ruiz Isaí, Guardado-Puentes Julián y Bautista-Alcantar José, 2006. Polisacáridos sulfatados del alga verde *Enteromorpha clathrata*. V Congreso Mexicano de Ficología. Guadalajara México.

Immanuel, G., Vincybai, V. C., Sivaram, V., Palavesam, A., Marian, M. P. 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aquaculture*. 236: 553-556.

Ivanova, V., Rouseva, R., Kolarova, M., Serkedjieva, J., Rachev, R., y Manolova. 1994. Isolation of a polysaccharide with antiviral effect from *Ulva lactuca*. *Preparative Biochemistry*. 24: 83-97.

Jensen A. 1993. Present and Future Needs for Algae and Algal Products. *Hydrobiologia* 260/261: 15-23.

Kim, K. Y., Lee, I. K. 1996. The germling growth of *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) in laboratory culture under different combinations of irradiance and salinity and temperature and salinity. *Phycologia*. 35: 327-331.

Kloareg B. and R.S. Quatrano. 1988. Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanogr.Mar. Biol. Annu. Rev.*, 26:259-315.

Kwong-yu Chan', P . K . Wong, P. K., y Ng. S. L. 1982 Growth of *Enteromorpha linza* in sewage effluent and sewage effluent-seawater mixtures. *Hydrobiologia* 97: 9-13.

Lahaye, M. y Axelos, M. A. V. 1993. Gelling properties of water-soluble polysaccharides from proliferating marine green seaweeds (*Ulva* ssp). *Carbohydrate Polymers*. 22: 261-265.

Lahaye, M., Jegou, D., Buleon, A. 1994. Chemical characteristics of insoluble glucans from the cell wall of the marine green alga *Ulva lactuca* (L.) Thuret. *Carbohydrate Research* 262: 115-125

Lahaye, M, Ray, B., Baumberger, S., Quemener, B., y Alexos, M, A. V. 1996. Chemical characterisation and gelling properties of cell wall

polysaccharides from species of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta).  
Hydrobiología 326/327: 473-480.

Lüning, Klaus. 1990. Seaweeds, Their Environment, Biogeography, and  
Ecophysiology. Canada. A Wiley-Interscience Publication. 277-346

McDermid, K., Stuercke, B. 2003. Nutritional composition of edible Hawaiian  
seaweeds. USA. Journal of Applied Phycology. 15: 513-524

Moll, B. y Deikman J. 1995. *Enteromorpha clathrata*: a potencial seawater-  
irrigated crop. Bioresource Technology. 52:225-260.

Morrissey, J., Kraan, S., Guiry, M. D. 2001. A Guide to Commercially  
Important Seaweeds on the Irish Coast. Dublin. Bord Iascaigh Mhara.  
56-60.

Negrete-Redondo, P., Figueroa, G., Romero-Jarero, J., López-Simeón, R.  
2006. Análisis *in vitro* de la actividad antibacteriana *Oedogonium*  
*capillare* contra bacterias patógenas de peces. Veterinaria México. 37:  
209-221.

Nisizawa, K. 2000. Seaweeds Kaiso. Japan. Japan Seaweed Association. 8-

Pacheco-Ruíz, I., Becerril\_Bobadilla, F., Zertuche-González, J. A., Chee Barragán, A., Gálvez-Telles, A y Blanco-Betancourt, R. 2003. Effects of El Niño on beds of *Ulva lactuca* along the northwest coast of the Gula of California, México. *Geofísica Internacional*. 42: 447-453.

Pacheco-Ruíz, I., y Zertuche-González, J. A. 1996. The Commercially Valuable Seaweeds of the Gulf of Califórnia. México. *Botânica Marina*.

Pádua, M., Growoski Fontoura, P. S., Mathias, A. L. 2004. Chemical Composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützing) Bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fascita* (Delile). Brasil. *An Intenational Journal*. 47: 49-55

Percival, E. 1967. Polysaccharides of the green seaweeds, *Ulva lactuca* and *Enteromorpha compressa*.

Piña, C. 1983. Contribución al estudio de la composición química del alga mexicana *Ulva fasciata* Delile. México. *Ser. Botánica*. 54, 243-246

Provasoli, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. *Cultures and Collections of Algae*. pp. 63-75

Qi, Huimin., Zhao, T., Zhang, Q., Li, Z., Zhao, Z., Xing, R. 2005. Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from

*Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta). Journal of Applied Phycology. 17:527-534

Renaud, S. M., Luong-Van, J. T. 2006. Seasonal variation in the chemical composition of tropical Australian marine macroalgae. Journal of Applied Phycology. Online firsts.

Rico, A., Lanas, P., López-Gappa, J. 2005. El potencial de colonización del género *Ulva* (Chlorophyta, Ulvales) en el puerto de Comodoro Rivadavia (Chubut, Argentina). Ciencias Marinas. 31: 719-735

Sokal, R.R. y Rohlf F.J. 1981. Biometría. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica. H. Blume ED. Rosario. Madrid, España. 832 pp.

Tabatabai, M.A. 1974. Determination of sulfates in water samples. Sulphur. Inst. J. 10:11-13.

Van Patten, M. 2006. Seaweeds of Long Island Sound. The University of Connecticut. U.S.A. 25.

Yarish, C., Lee, K. W. & Edwards, P. 1979. Short communication. An improved apparatus for the culture under varying regimes of temperature and light intensity. *Botanica Marina* 22:395-7.

Zar, Jerrold H. 1999. *Biostatistical Análisis*. USA. Prentice Hall. 663.

Zertuche-González, J. A. 1989. Capítulo 11: Macroalgas y el desarrollo de su cultivo. *In* Rosa-Vélez, d. I. & González Farias, F. [Eds.] *Temas de Oceanografía Biológica en México*. UABC, México. 319-37.

## Anexo de figuras de inicio y final del experimento

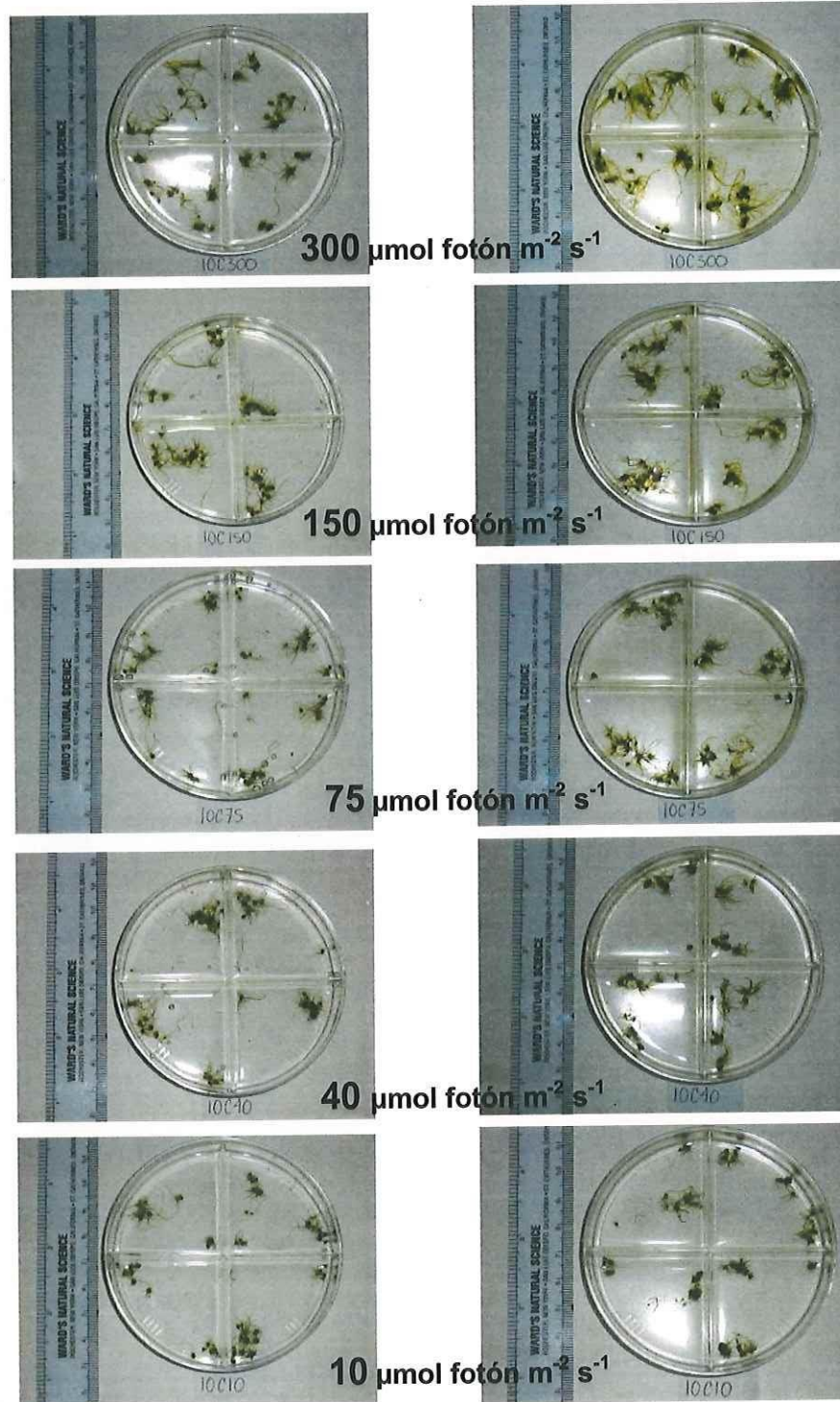


Figura 4. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 10°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.

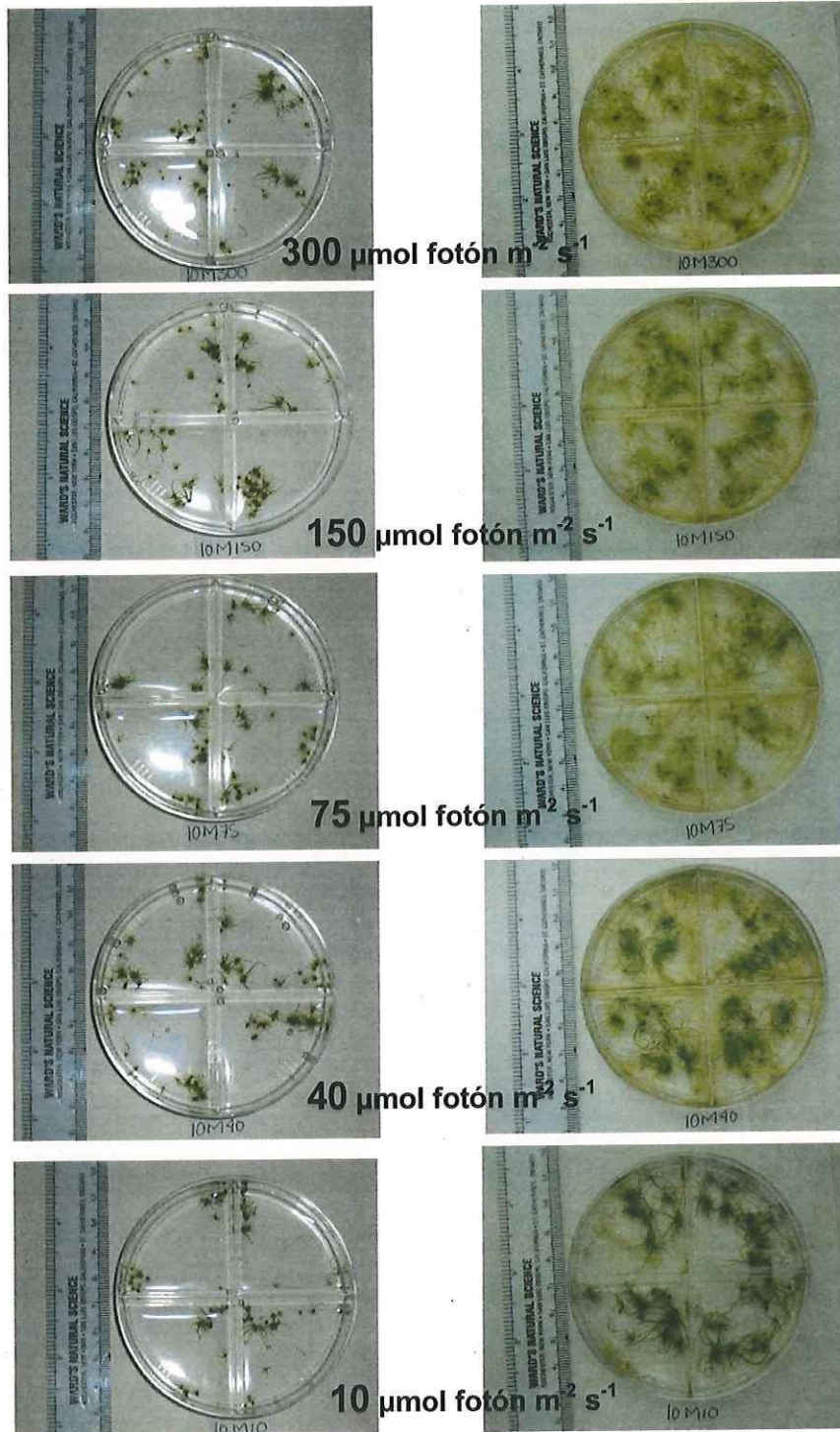


Figura 5. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 10°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.

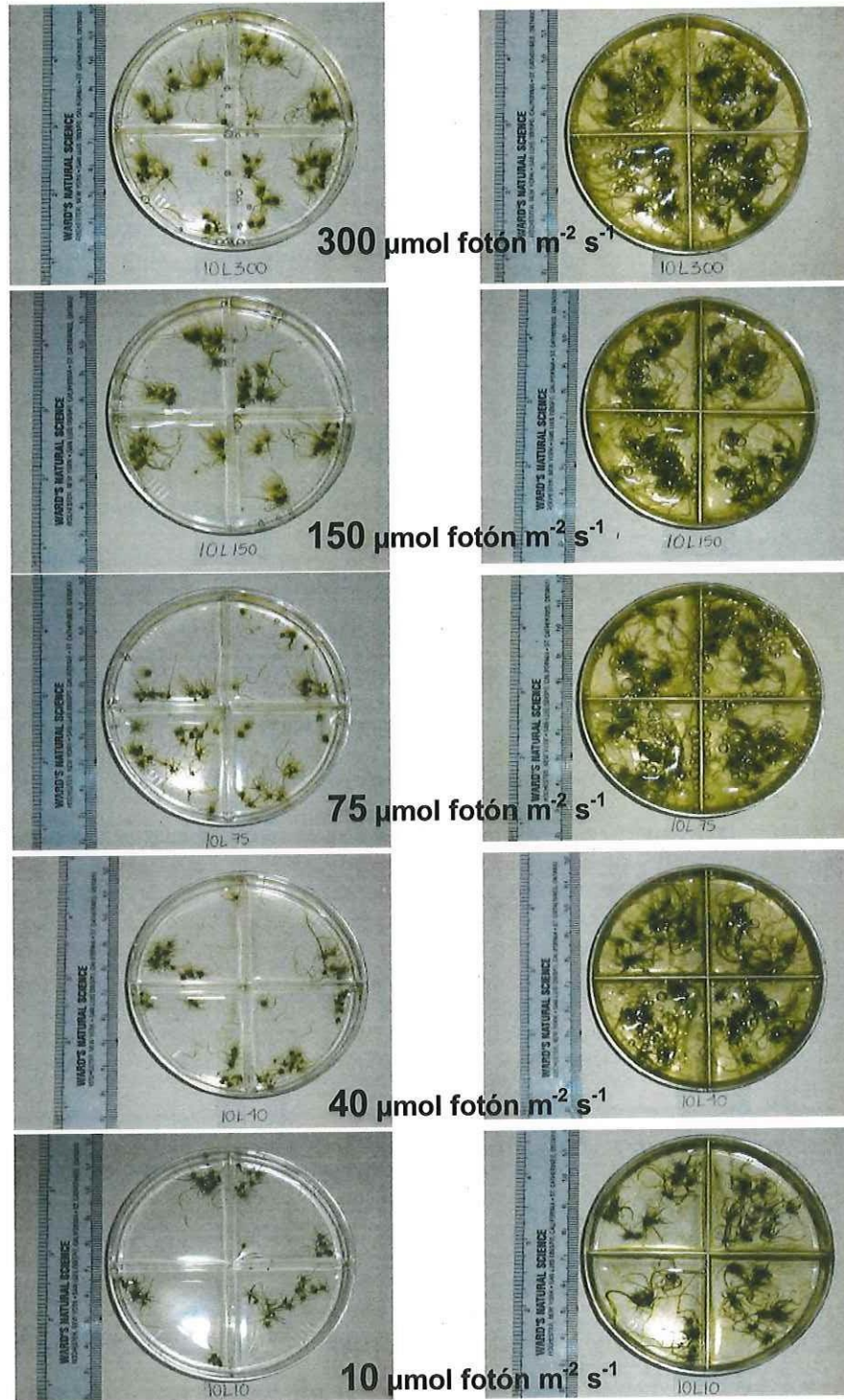


Figura 6. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 10°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.

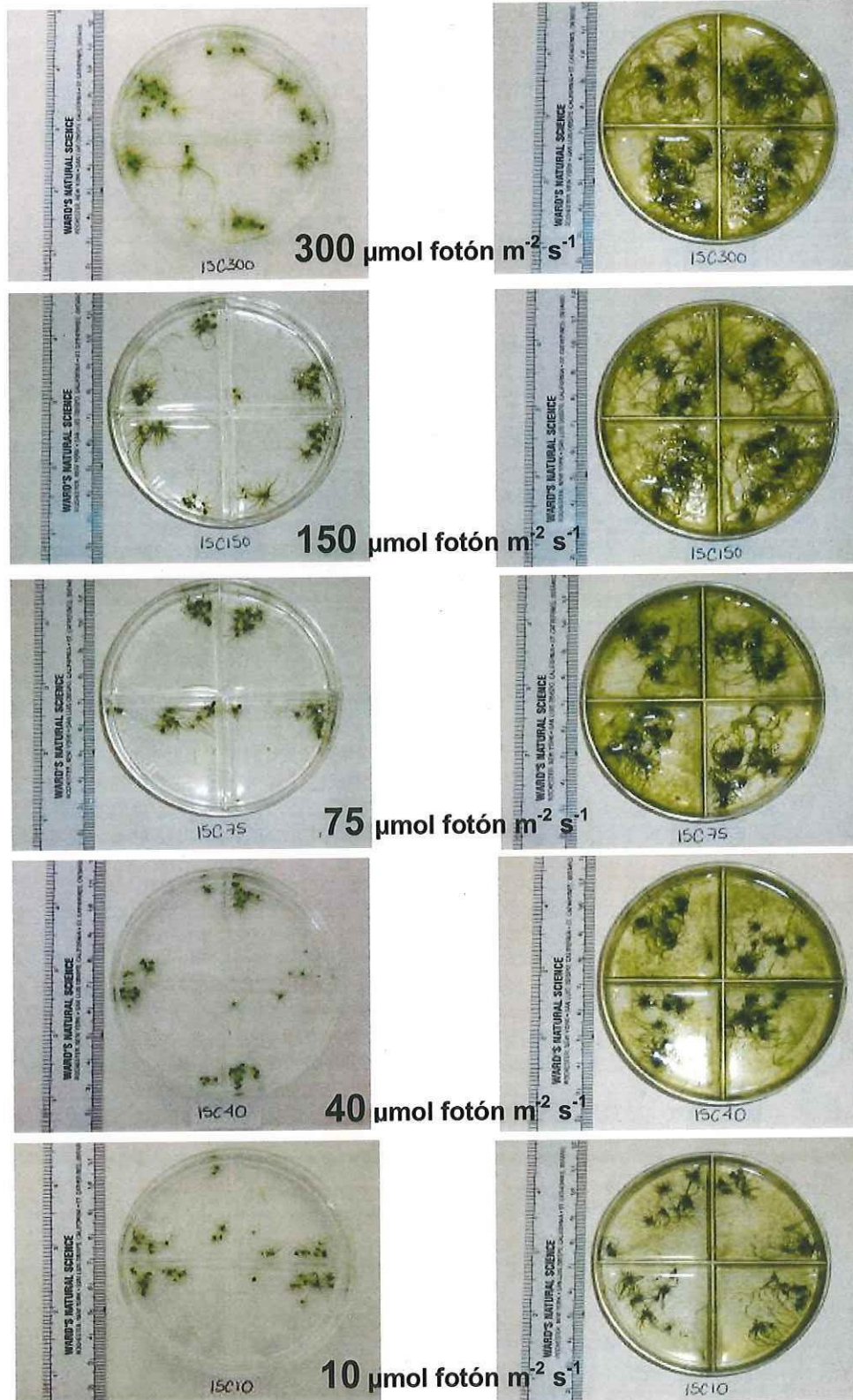


Figura 7. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 15°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.

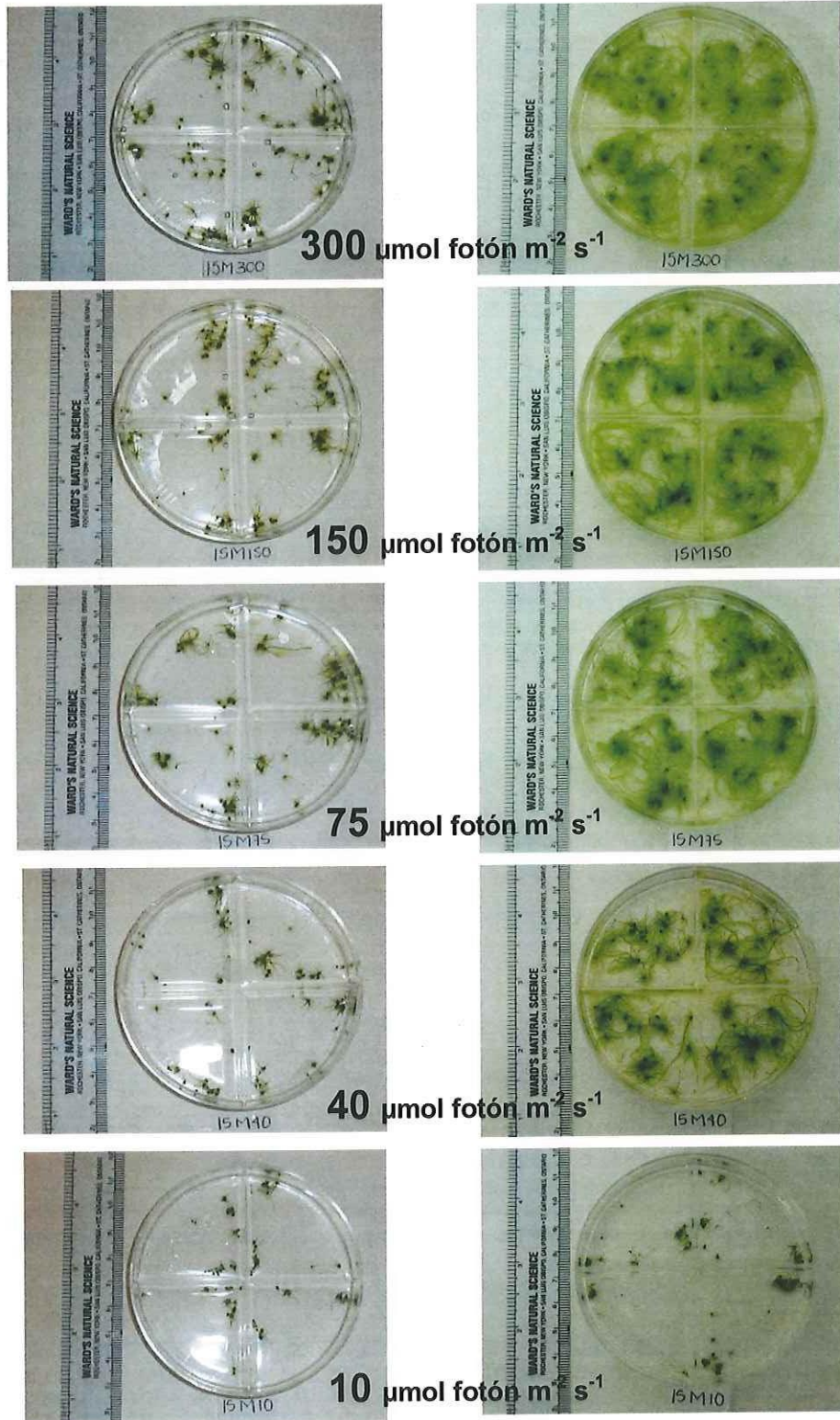


Figura 8. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 15°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.

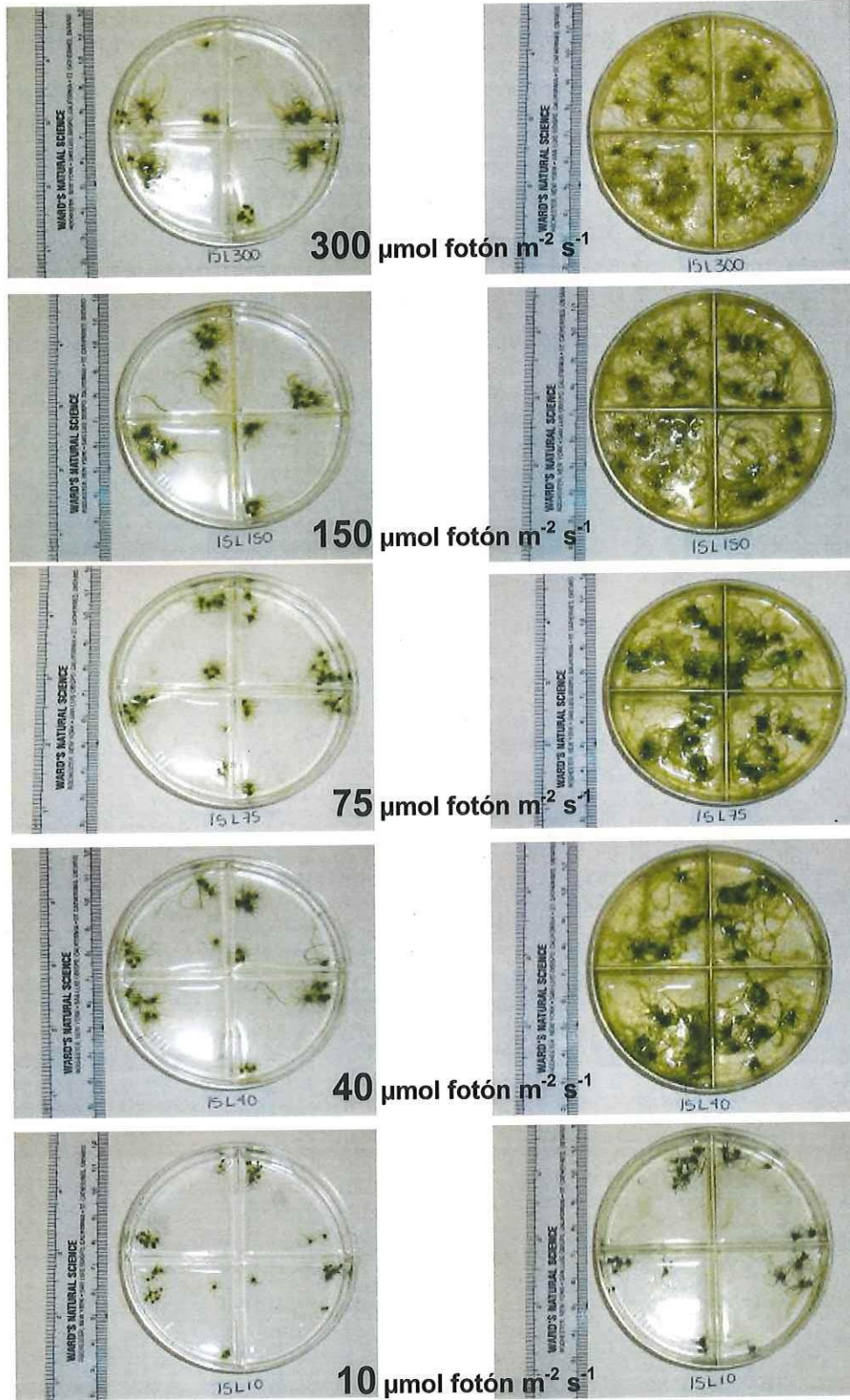


Figura 9. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 15°C, fotoperiodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.

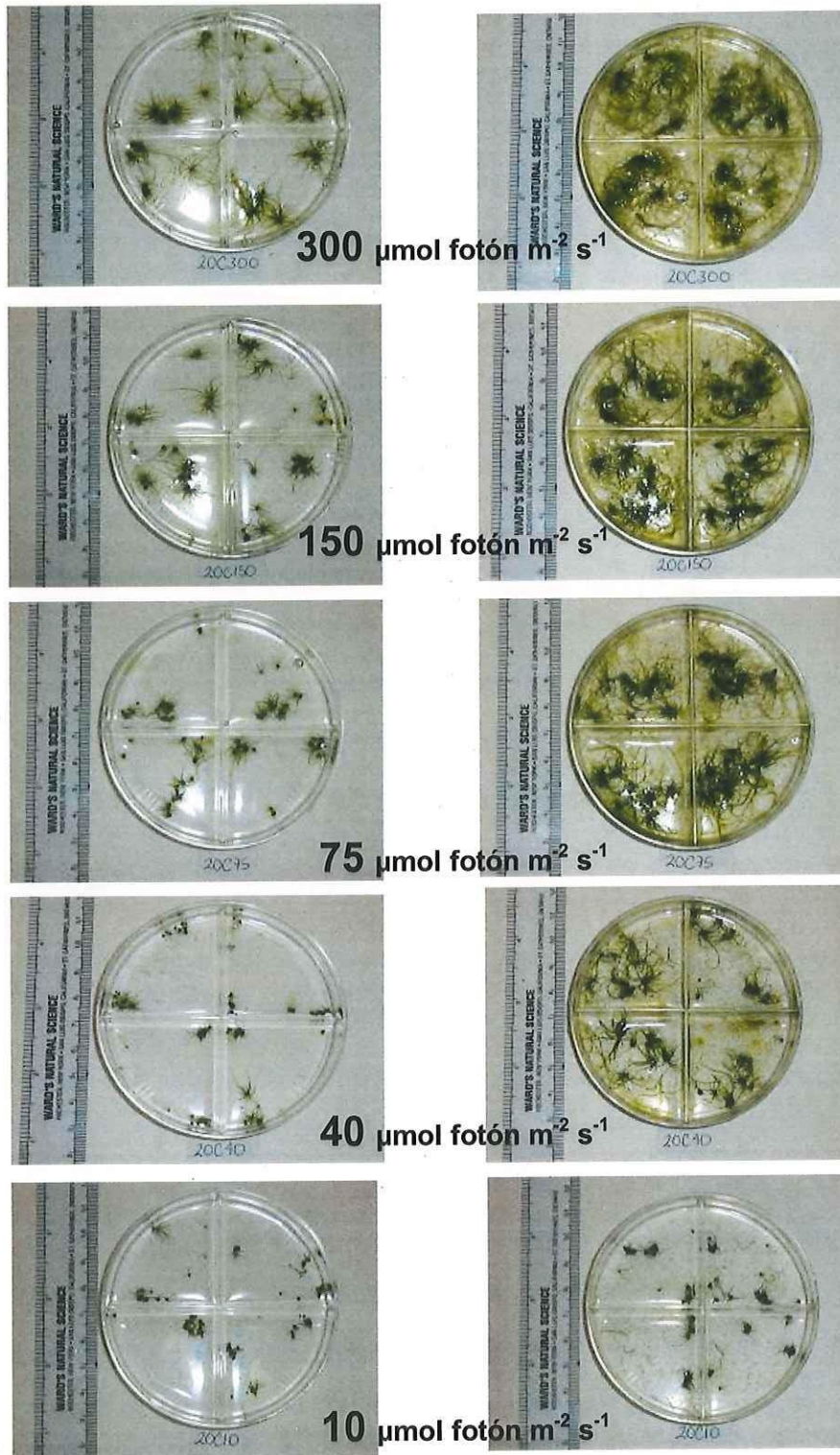


Figura 10 Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 20°C, fotoperíodo 9: 15. Las irradiancias se indican en cada experimento.

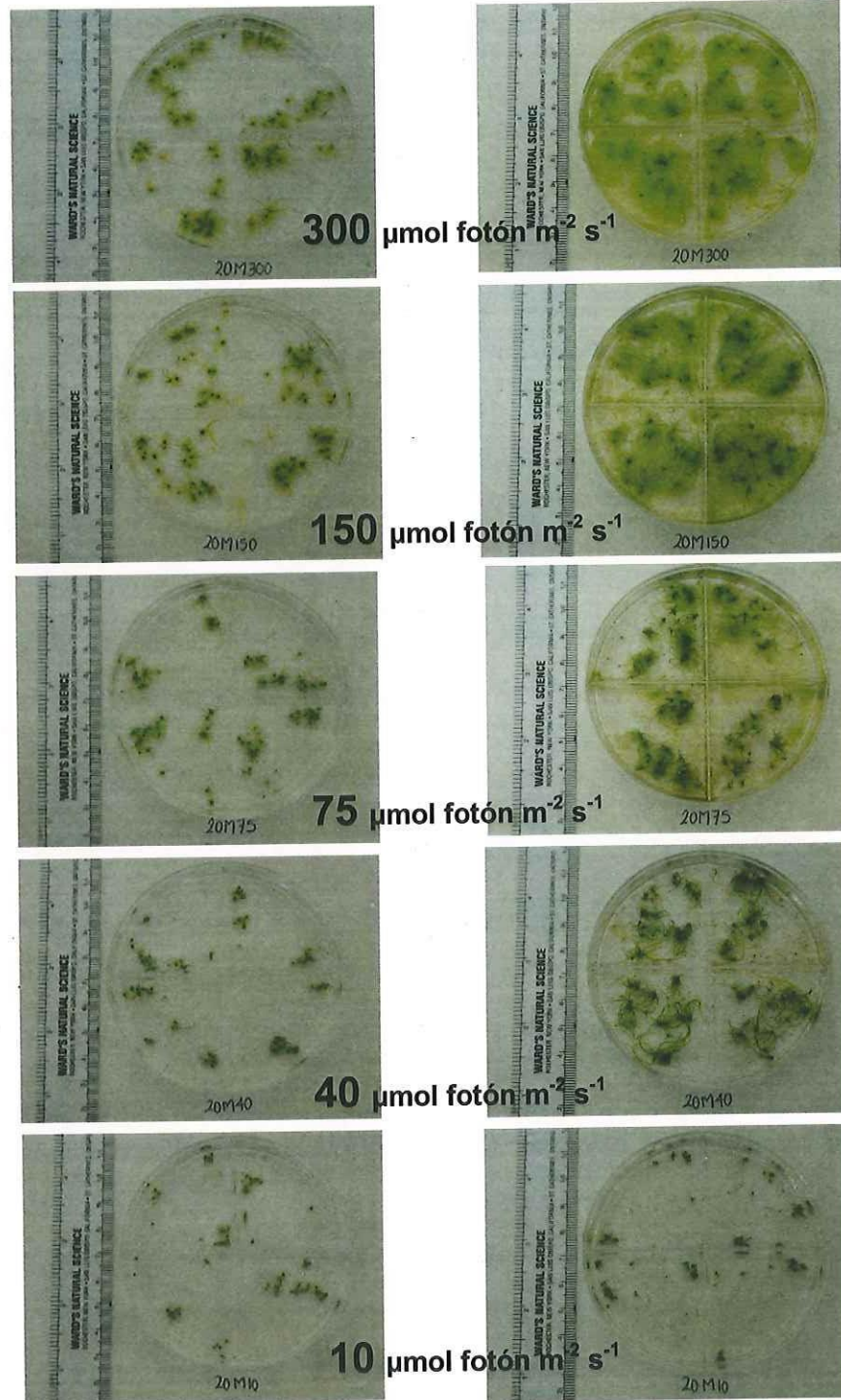


Figura 11. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 20°C, fotoperiodo 12: 12. Las irradiancias se indican en cada experimento.

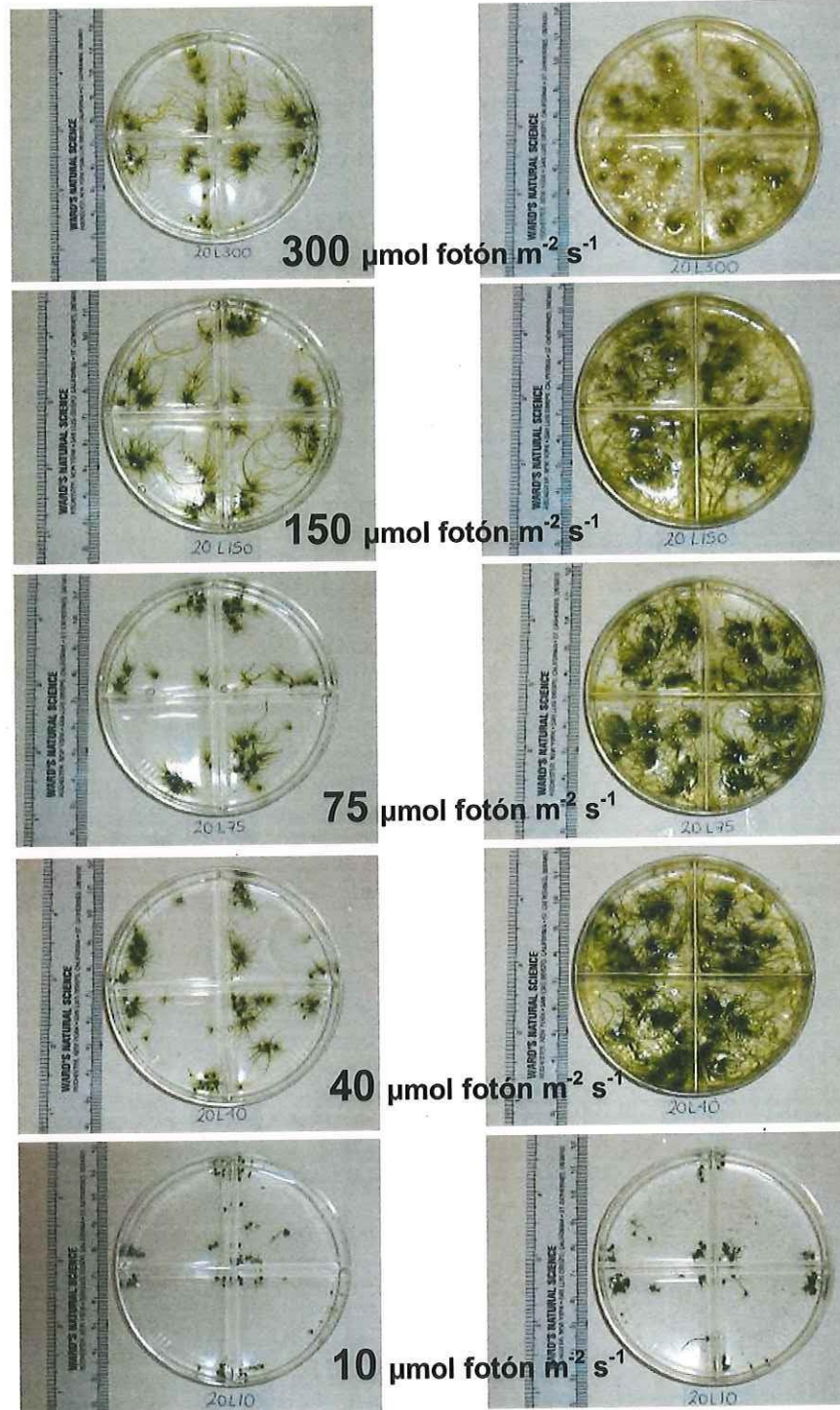


Figura 12. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 20C, fotoperíodo 15: 9. Las irradiancias se indican en cada experimento.

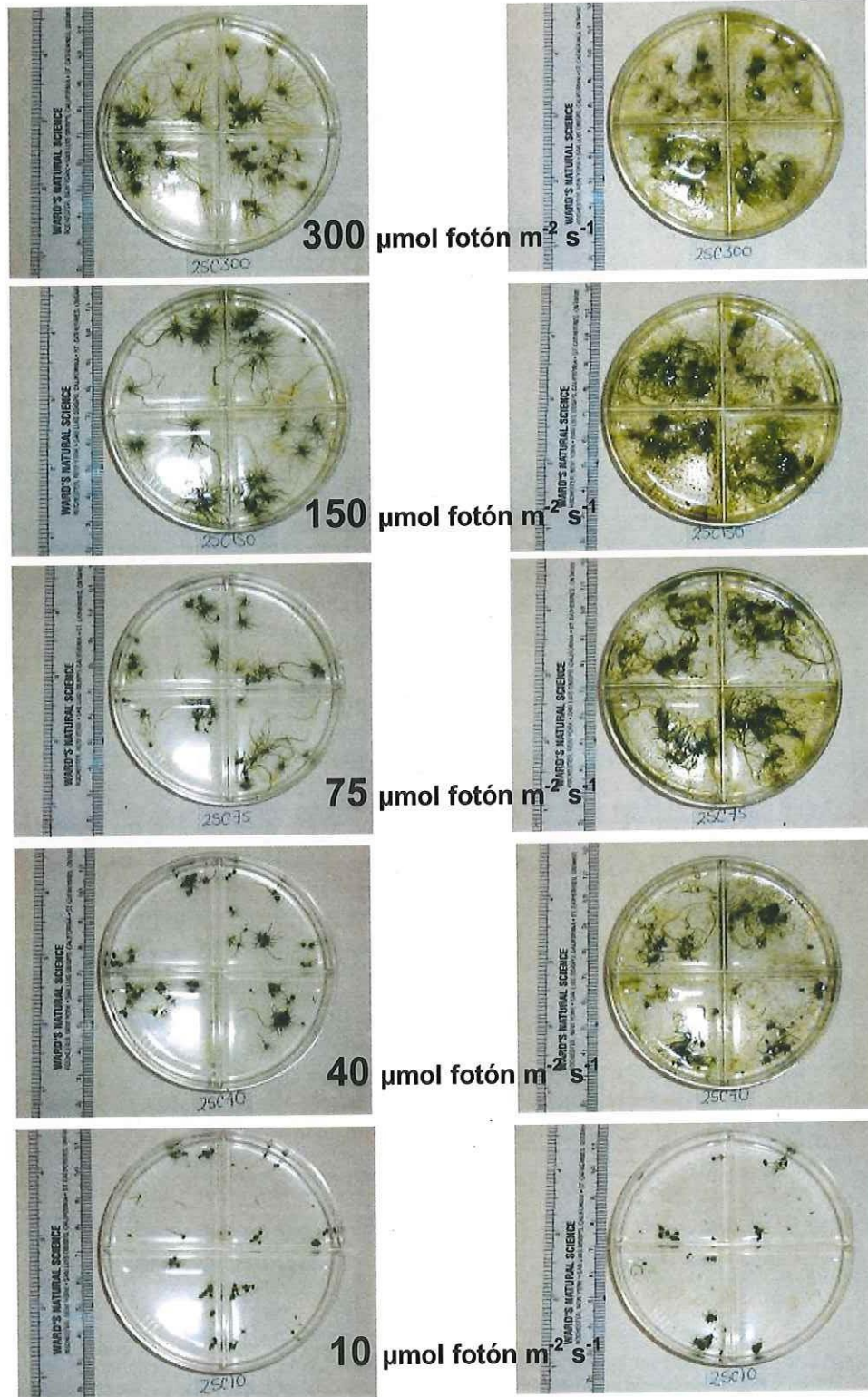


Figura 13. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 25°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.

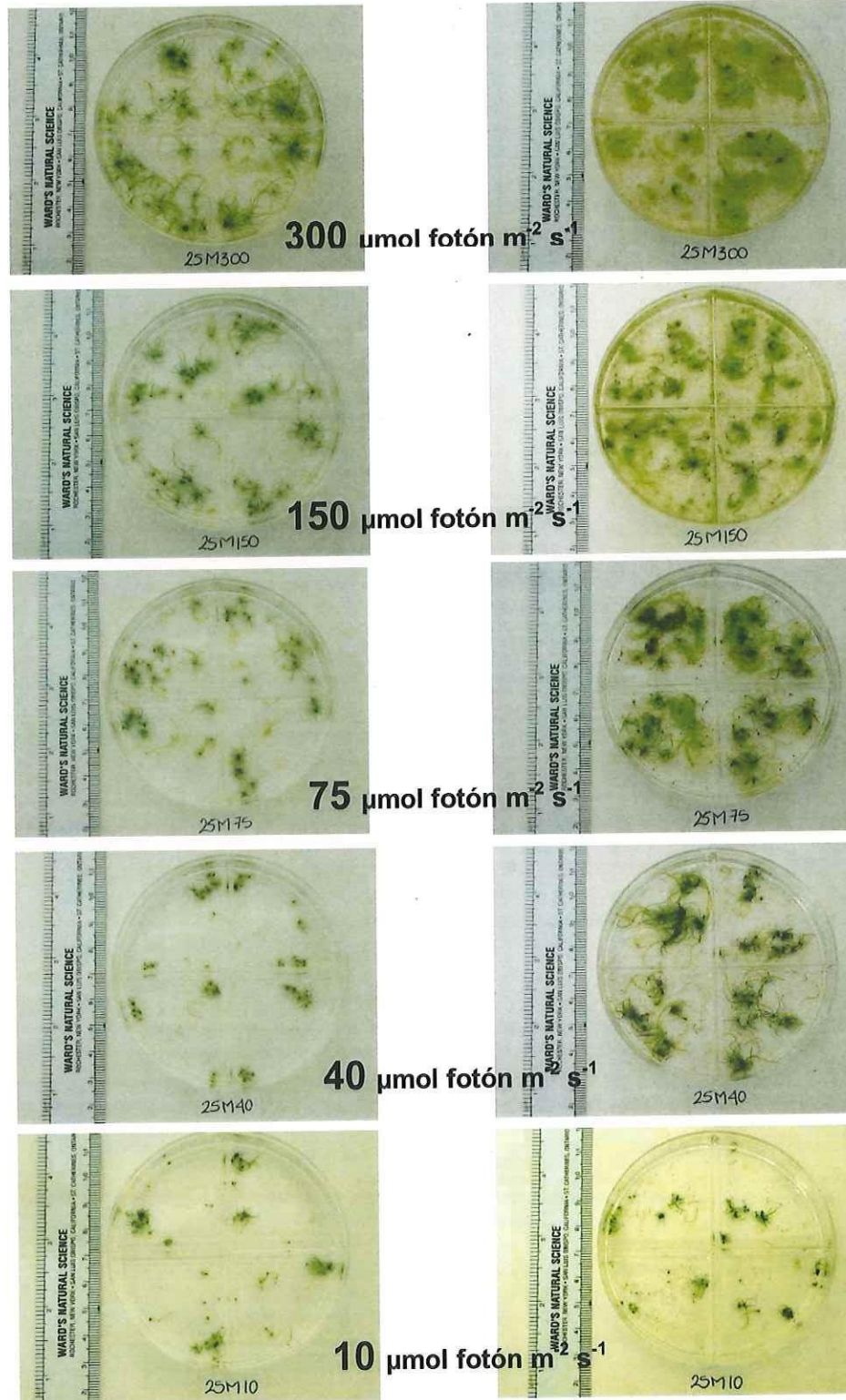


Figura 14. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 25°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.

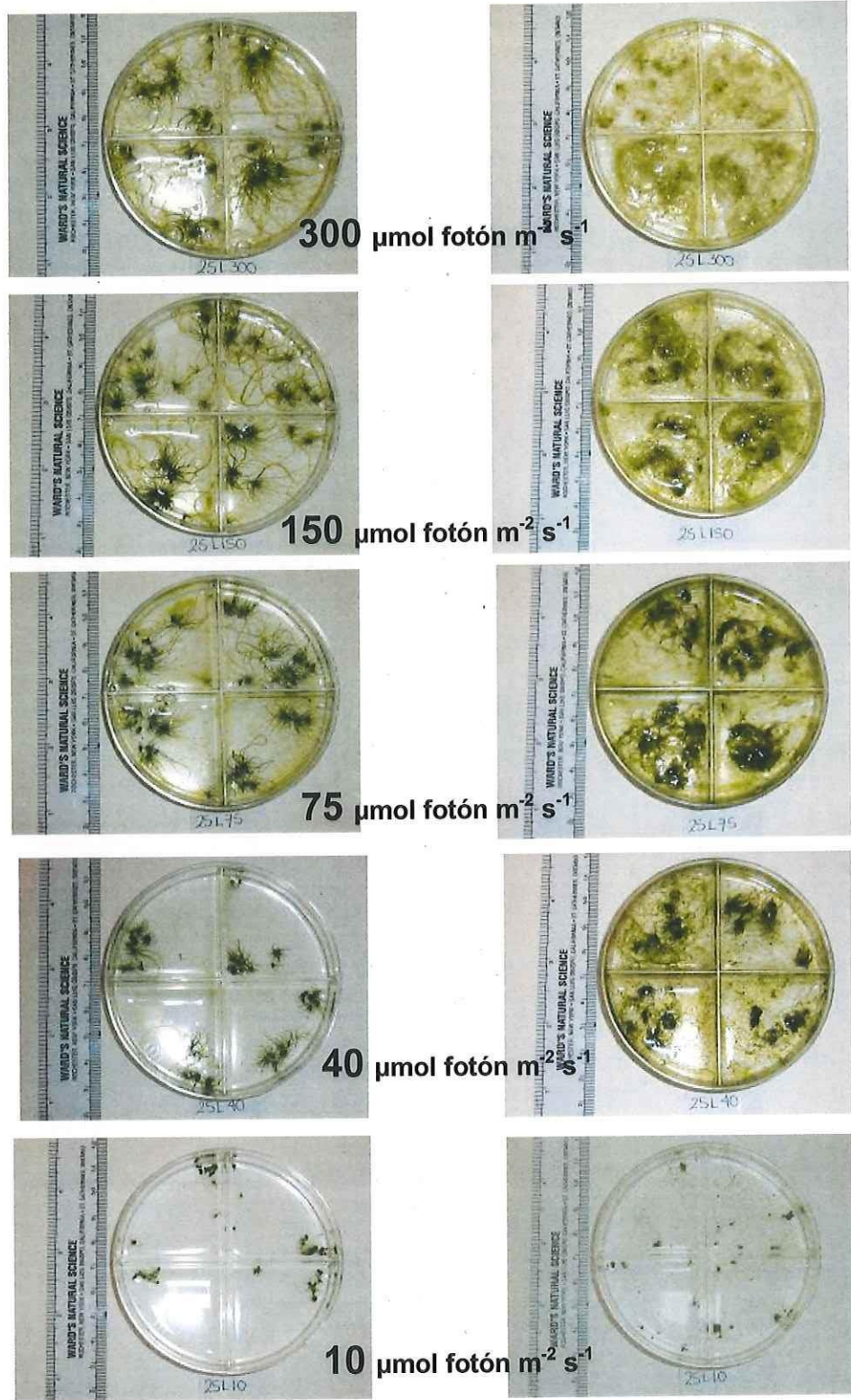


Figura 15. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 25°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.

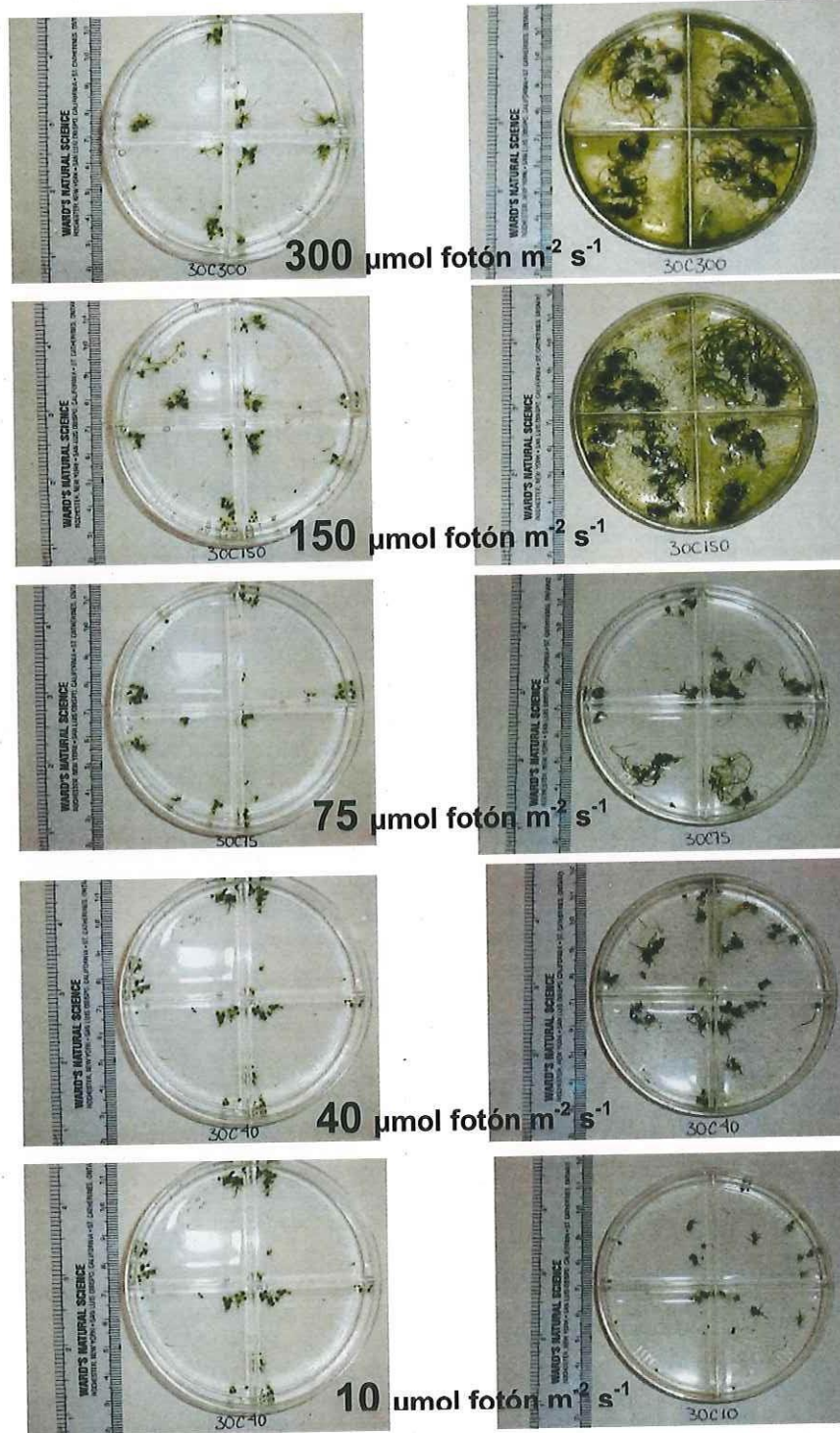


Figura 16. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 30°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.

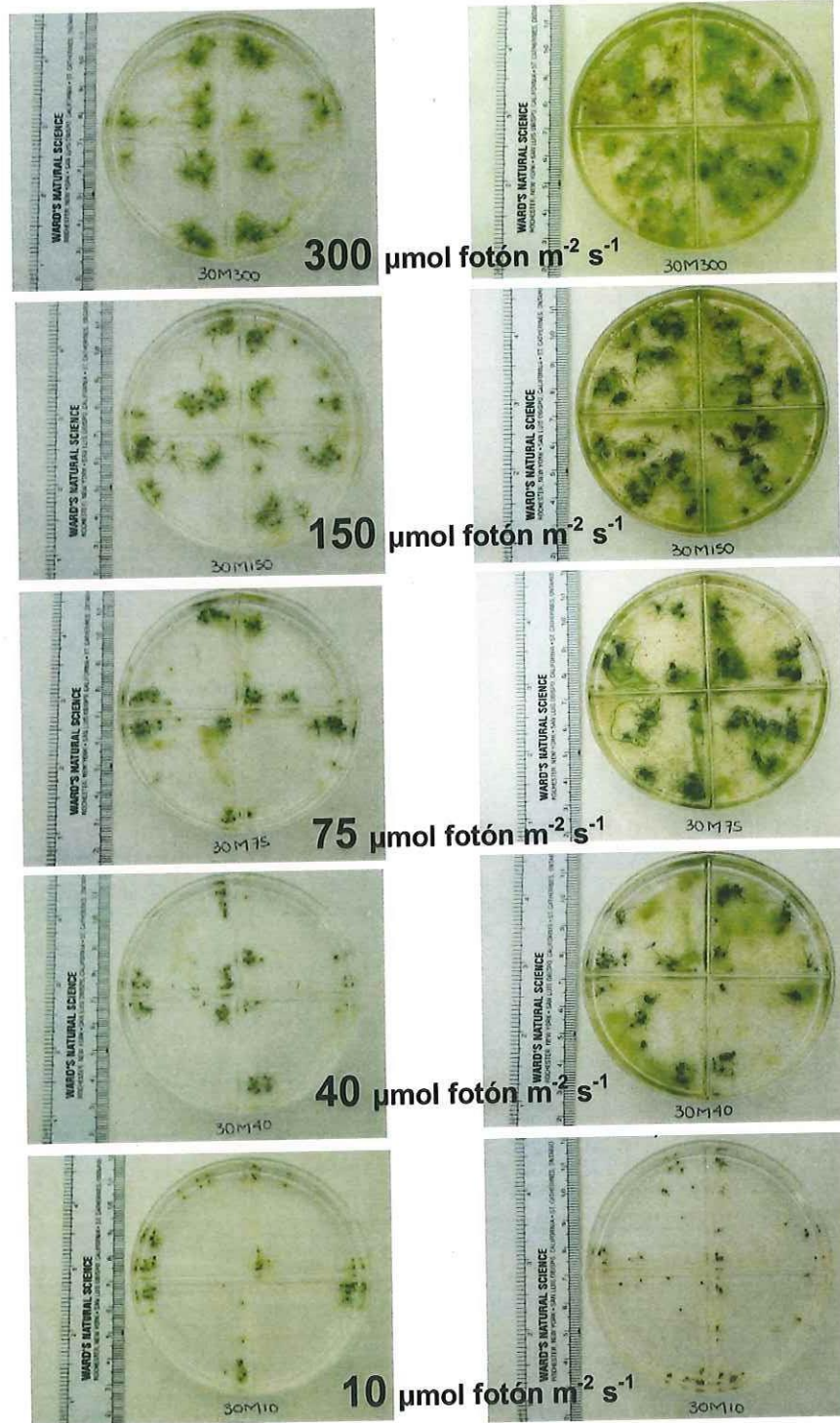


Figura 17. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 30°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.

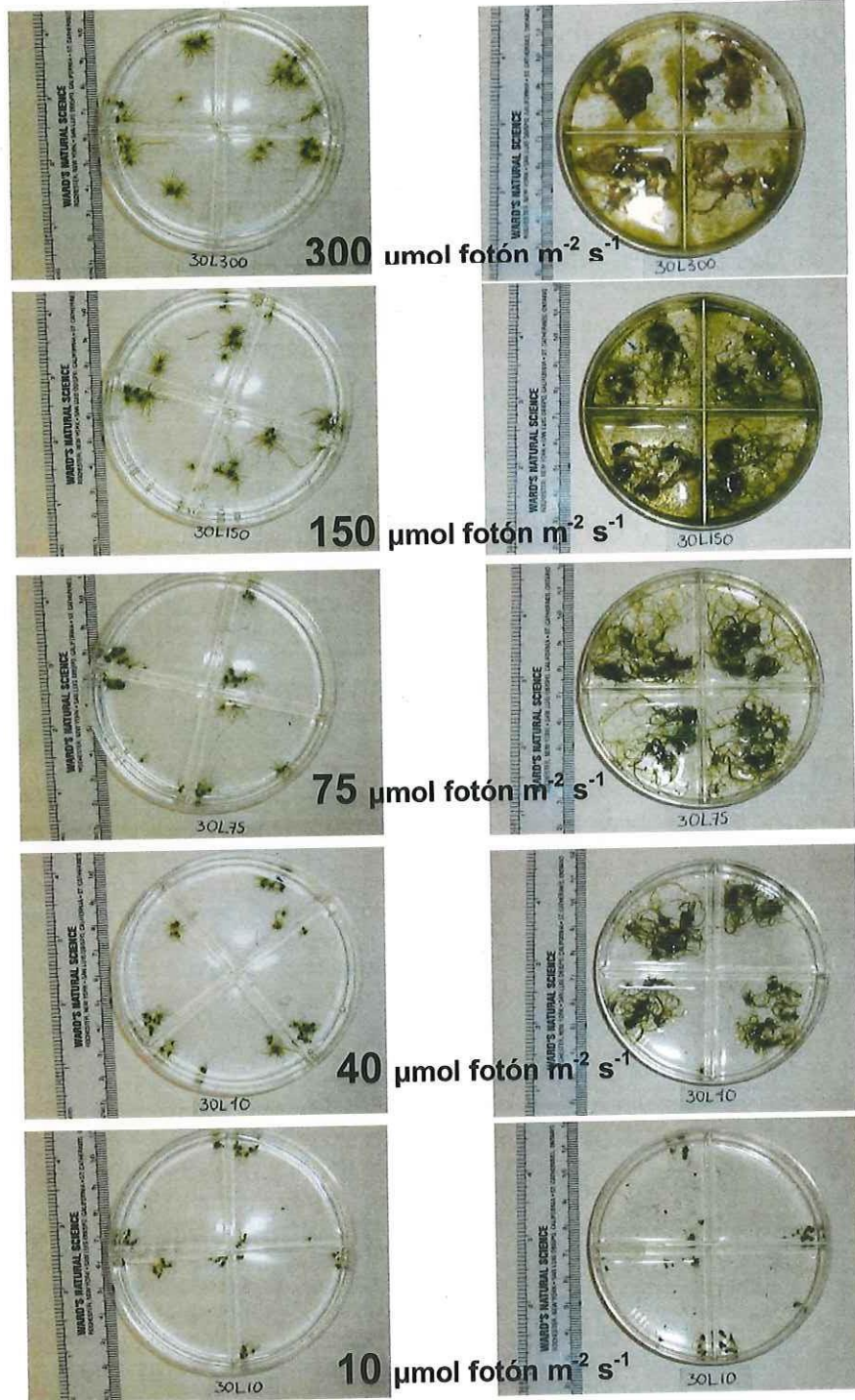


Figura 18. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 30°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.

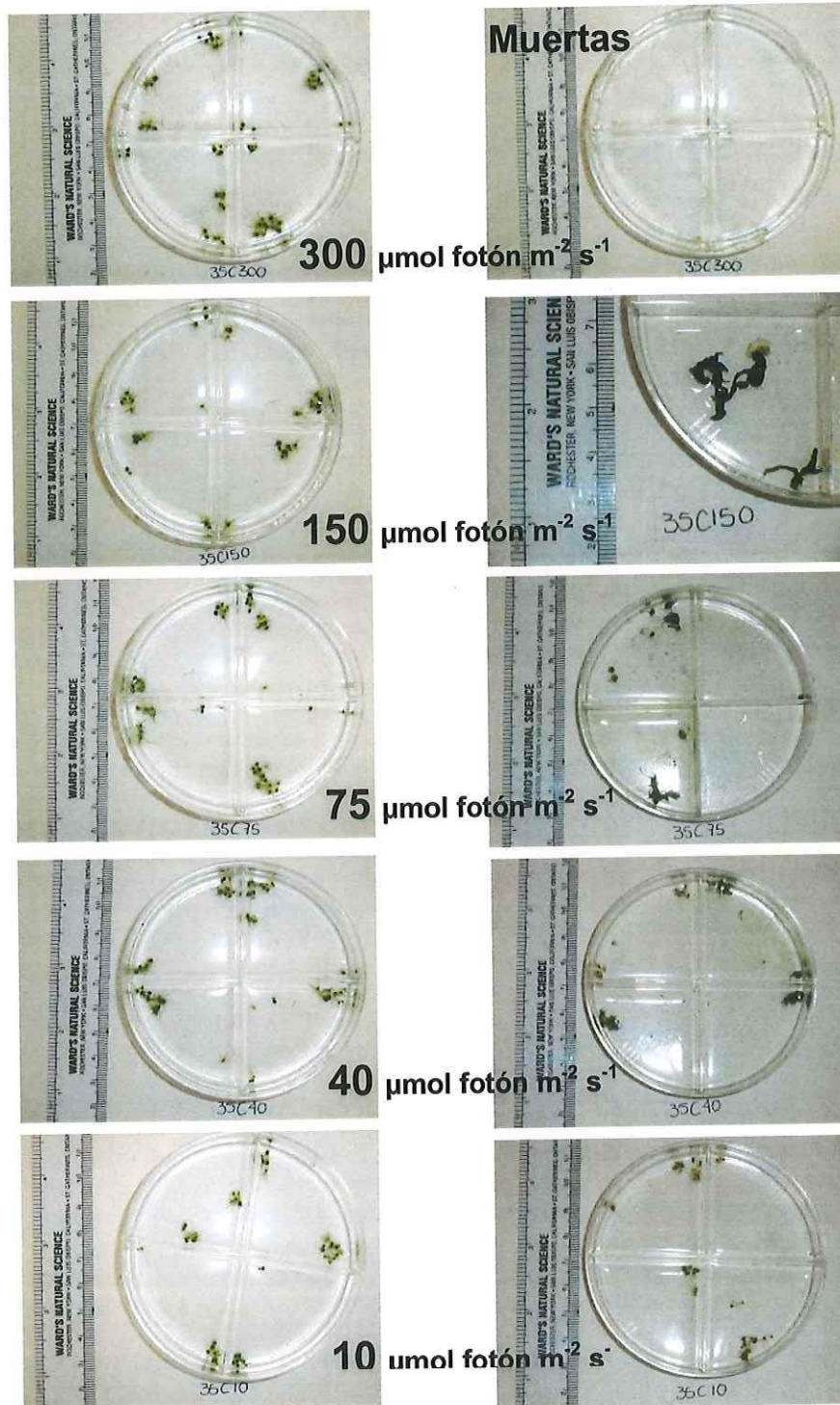


Figura 19. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 35°C, fotoperíodo 9:15. Las irradiancias se indican en cada experimento.

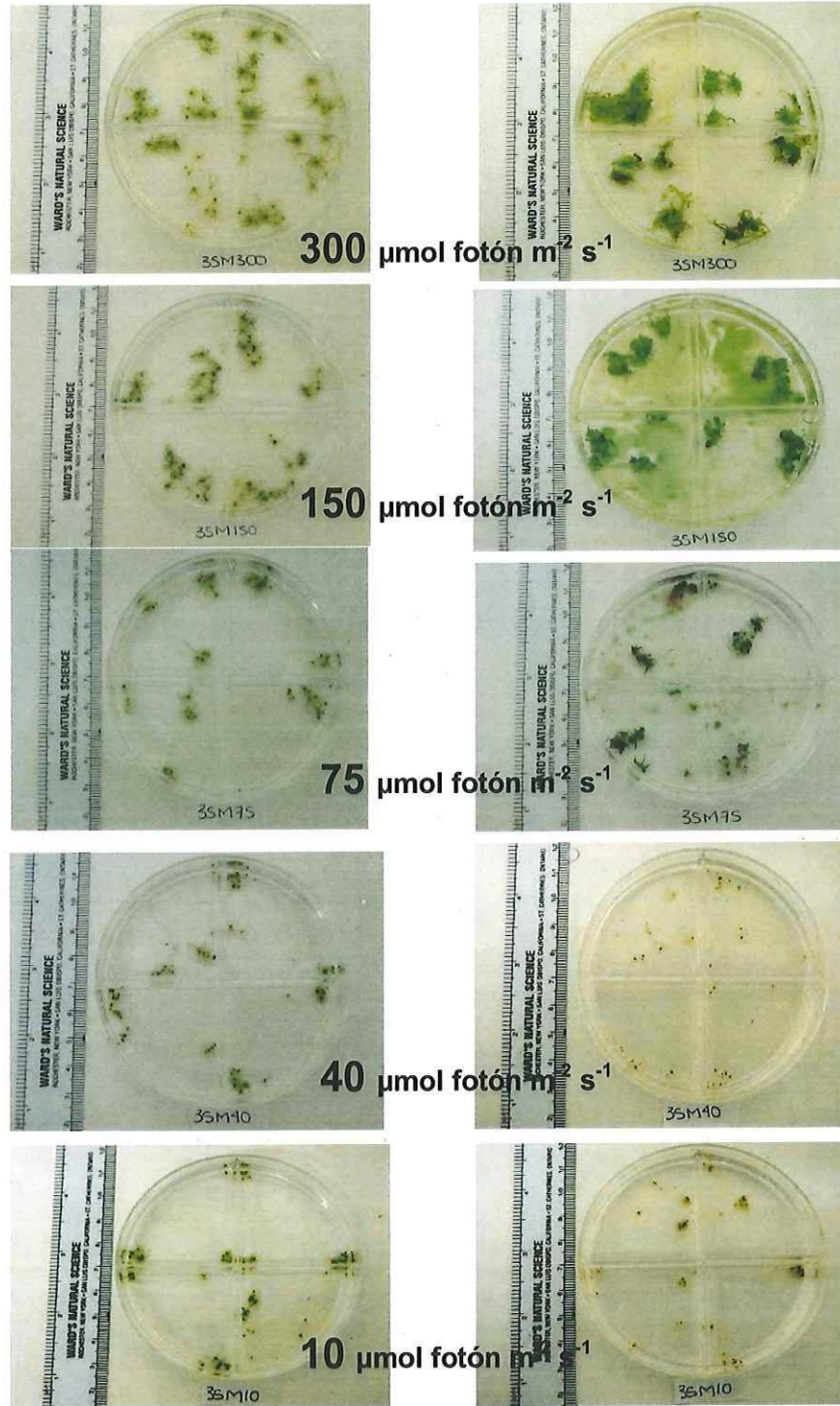


Figura 20. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 35°C, fotoperíodo 12:12. Las irradiancias se indican en cada experimento.

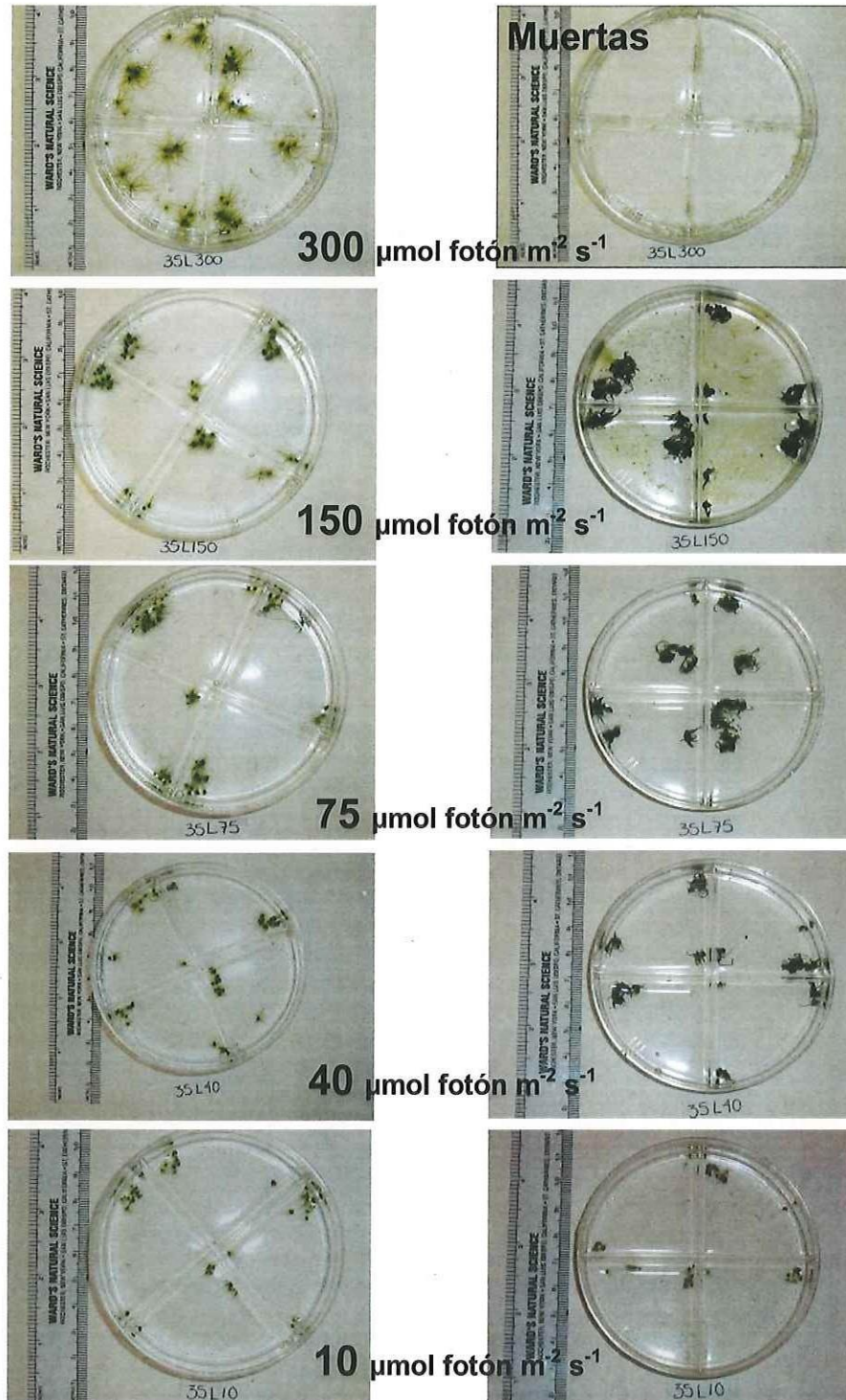


Figura 21. Inicio (izquierdo) y final del experimento (derecho) con temperatura de 35°C, fotoperíodo 15:9. Las irradiancias se indican en cada experimento.