

**EFFECTO DE LA INTENSIDAD LUMÍNICA, TEMPERATURA Y SALINIDAD  
SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA  
*Isochrysis galbana* (CLON T-ISO)**

**EFFECT OF LIGHT INTENSITY, TEMPERATURE AND SALINITY ON THE  
GROWTH OF *Isochrysis galbana* (T-ISO)**

Luz Adriana Velasco, Judith Barros-Gómez, Gloria Helena Ospina-Salazar y Carlos Alberto Trujillo

**RESUMEN**

Con el fin de comprender el efecto de la intensidad lumínica, la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento en densidad de la microalga *Isochrysis galbana* (T-ISO), se llevó a cabo un experimento factorial 2x2x2 en condiciones de laboratorio. El crecimiento microalgal fue mayor en los tratamientos de alta intensidad lumínica (1024 lux) en comparación con los de baja iluminación (24 lux). La temperatura provocó efectos diferentes dependiendo la intensidad lumínica del cultivo. En los cultivos con iluminación alta, mayores crecimientos fueron obtenidos a alta temperatura (28°C), pero en condiciones de baja intensidad lumínica, los mayores valores se presentaron a baja temperatura (22°C). Las salinidades entre 27 y 35 no presentaron efecto alguno sobre el crecimiento algal.

**PALABRAS CLAVE:** Crecimiento, densidad celular, *Isochrysis galbana*, luz, salinidad, temperatura.

**ABSTRACT**

In order to understand the effect of light intensity, temperature and salinity on the growth in density of the microalgae *Isochrysis galbana* (T-ISO), a factorial experiment 2x2x2 was done under laboratory conditions. Microalgal growth was higher at high illumination (1024 lux) than at low one (24 lux). Temperature caused different effects depending on the light intensity supplied. In cultures with high illumination, bigger growth was obtained at high temperature (28°C), but in conditions of low light intensity, higher growth was presented at low temperature (22°C). Salinities between 27 and 35 did not show any effect on the growth of the microalgae.

**KEY WORDS:** Growth, cell density, *Isochrysis galbana*, light intensity, salinity, temperature.

**INTRODUCCIÓN**

Las microalgas constituyen el principal recurso alimenticio de la fase larval y/o adulta de moluscos, peces y zooplancton mantenidos en condiciones de laboratorio (Lavens y Sorgeloos, 1989; Brown et al., 1997). Por tal motivo, el conocimiento de las condiciones que permitan obtener una mayor biomasa microalgal en un menor tiempo, resulta de gran importancia en la industria acuícola. La producción de microalgas

depende de varios parámetros fisicoquímicos, entre los principales están el tipo y concentración de nutrientes, la temperatura, el pH, la salinidad y la intensidad lumínica (Paniagua et al., 1983; Lavens y Sorgeloos, 1989; Delgado, 1993; Bermúdez et al., 2002; Helm et al., 2006; Moronta y Morales, 2006). El efecto independiente y combinado de estos factores varía de acuerdo a la especie y sus rangos de tolerancia (Lobban et al., 1985), así mismo, de las condiciones específicas de las zonas donde las microalgas son cultivadas (Brown et al., 1997).

**Dirección de los autores:**

Universidad del Magdalena, Laboratorio de Moluscos y Microalgas - Carrera 2 No 18-27, Taganga - Santa Marta D.T.C.H. Colombia. Tel/Fax: 57-5-4219133. Email: molmarcol@gmail.com. (L.A.V, J.B.G, C.A.T). INVEMAR, Cerro Punta Betín, Santa Marta D.T.C.H. Colombia. Tel/fax: 57-5-4233280.

*Isochrysis galbana* (clon T-ISO) es una microalga de la Clase Haptophyceae, posee células pardo amarillentas ovoides de diámetros entre 3 y 6  $\mu\text{m}$ , provistas de dos flagelos móviles. Se caracteriza por ser una especie con altos valores de crecimiento y contenido de proteínas (26 – 47,2 %) y lípidos (Whyte, 1987; Bourne et al., 1989; Fernández-Reiriz et al., 1989), especialmente del ácido graso docosahexanoico (DHA) (Volkman et al., 1989; Lourenço et al., 2002; Renaud et al., 2002; Pernet et al., 2003). Su contenido de carbohidratos y lípidos se incrementa con el desarrollo del cultivo, mientras que la proteína se incrementa únicamente en las últimas fases y los ácidos grasos poli-insaturados alcanzan sus valores más altos en la fase estacionaria tardía (Fidalgo et al., 1998; Phatarpekar et al., 2000). Esta especie presenta un crecimiento mayor o similar con fertilizantes agrícolas en comparación con los medios F/2 y Walne (González et al., 1999; Valenzuela-Espinoza et al., 2002). Debido a su tamaño, fácil digestión y alto valor nutritivo, *I. galbana* es una de las principales especies utilizadas como alimento para moluscos de interés comercial mantenidos en laboratorio (Paniagua et al., 1983; Bourne et al., 1989; Helm et al., 2006; Sarkis y Lovatelli, 2007; Velasco, 2007).

A pesar de su amplia utilización como alimento son pocos los trabajos llevados a cabo para comprender las relaciones entre los factores ambientales y su crecimiento poblacional. Por ello, en el presente estudio se determina el efecto independiente y combinado de la intensidad lumínica, temperatura y salinidad, sobre la densidad celular de la microalga *I. galbana* (T-ISO), cultivada en laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención y mantenimiento de la cepa

En este estudio se utilizó una cepa de la microalga *I. galbana*, clon T-ISO, obtenida del stock de microalgas del laboratorio CIBNOR (Baja California Sur, México) y cultivada en medio F/2 (Guillard, 1975) a una temperatura de  $24 \pm 3$  °C, intensidad lumínica (entre 20 y 1719 lux), aireación constante y salinidades entre 33 y 37, utilizando un sistema de cultivo en lotes por tres años en las instalaciones del Laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena (Santa Marta, Colombia).

## Diseño experimental

El experimento se desarrolló siguiendo un diseño experimental factorial  $2 \times 2 \times 2$  en el cual se examinó el efecto de dos salinidades (27 y 35), dos temperaturas (22 y 28°C) y dos intensidades de luz (1.024 y 24 lux) sobre el incremento en densidad de *I. galbana*. En total se manejaron ocho tratamientos y cuatro réplicas por cada uno. Las réplicas consistieron en frascos de vidrio con tapa de 100 ml provistos con 50 ml de medio F/2. Este medio fue preparado con agua de mar captada de la bahía de Taganga ( $11^{\circ} 16' \text{ N}$ ,  $74^{\circ} 11' \text{ O}$ ), Caribe colombiano, microfiltrada (1  $\mu\text{m}$ ) y esterilizada con calor (120 °C/15 min). Cada frasco fue sembrado con un mismo inóculo (18.000 cel  $\mu\text{l}^{-1}$ ), utilizando un volumen de 10 ml. Los frascos fueron colocados en baños termorregulados, sin suministro de aireación y provistos de iluminación constante mediante lámparas fluorescentes (75 W) ubicadas entre 0,15 y 3 m de distancia (equivalentes a 1.024 y 24 lux, respectivamente). Cada frasco fue agitado dos veces al día, reponiendo el volumen perdido por evaporación o toma de muestras, con F/2 preparado a la misma salinidad. Una de las réplicas fue seleccionada en cada tratamiento con el fin de medir diariamente el pH, utilizando un pHmetro WTW.

## Determinaciones de crecimiento

Cada 24 horas se monitoreó la densidad celular (D) de todas las réplicas a partir de una alícuota de 1 ml extraída previa homogenización del cultivo. Estas muestras fueron fijadas con solución Transeau y diluidas cuando la densidad celular era muy alta ( $> 3.475$  cel  $\mu\text{l}^{-1}$ ). Las preparaciones fueron examinadas sobre cámaras Neubauer bajo un microscopio. El cálculo de la densidad celular (D) se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$D \text{ (células ml}^{-1}\text{)} = FD \times C \times 10.000 \text{ ml}^{-1} \quad (1)$$

Donde: FD = factor de dilución y C = número de células promedio contadas en cada cuadrante de 1 mm.

$$FD = (v_m + v_f + v_a) / v_m \quad (2)$$

Donde:  $v_m$  = volumen de la muestra (ml),  $v_f$  = volumen del fijador (ml),  $v_a$  = volumen del agua de mar filtrada (ml).

Finalmente, se calculó la tasa de división celular (K) para cada tratamiento de acuerdo con la ecuación descrita por Fogg (1965):

$$K = \frac{\log_2 N - \log_2 N_0}{t} \quad (3)$$

Donde K es la tasa de crecimiento celular, log es el logaritmo en base 2, N la densidad celular final, N<sub>0</sub> la densidad celular inicial y t el tiempo de cultivo en días.

### Análisis estadísticos

Con el fin de evaluar el efecto de la intensidad lumínica, la temperatura y la salinidad sobre la densidad celular a lo largo del tiempo de cultivo, se realizaron ANOVAS factoriales de medidas repetidas con el supuesto de esfericidad asumida. Cuando se detectó la influencia significativa de la interacción entre factores, se realizaron ANOVAS a una vía de medidas repetidas seguidas de test de Tukey para establecer la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos de interés. También se aplicó un análisis de correlación entre los valores de pH y la densidad celular de *I. galbana* para determinar la existencia de asociaciones entre estas variables. Los análisis estadísticos se efectuaron mediante el programa estadístico SPSS 11.5. Para las decisiones se usó un nivel de significancia del 95 %.

## RESULTADOS

Los cultivos de *I. galbana* que tenían una densidad inicial de 1.800 cel μl<sup>-1</sup> alcanzaron valores entre 260 y 4.520 cel μl<sup>-1</sup> luego de ocho días (Figura 1). En los tratamientos de alta iluminación, se evidencia un

crecimiento positivo de la densidad algal desde el primer día hasta el final del experimento (Figura 1). Contrariamente, en los tratamientos de baja iluminación, el crecimiento fue negativo a lo largo del experimento (Figura 1). La tasa de división celular K presentó valores positivos bajo condiciones de alta intensidad lumínica y negativos a baja intensidad lumínica (Tabla 2). Los análisis estadísticos demostraron que la densidad celular de la microalga se vio afectada por la iluminación y por la interacción entre ésta y la temperatura, pero no por la salinidad (Tabla 1). Densidades celulares significativamente mayores fueron obtenidas en los tratamientos de alta intensidad lumínica. En los tratamientos con iluminación alta, el mantenido a 28°C presentó mayores densidades celulares que el de 22°C, aunque éstas diferencias fueron significativas únicamente en el día siete (P < 0,001). En condiciones de baja intensidad lumínica ocurrió lo contrario, los cultivos mantenidos a 22 °C presentaron mayores densidades celulares que los expuestos a 28 °C siendo estas diferencias significativas desde el día siete (P < 0,001).

El pH de los cultivos osciló entre 7 y 9,3 (Figura 2). Los valores tendieron a aumentar con la edad de los cultivos expuestos a una alta iluminación, mientras que aquellos sometidos a baja iluminación presentaron el patrón inverso. Se encontró una correlación positiva significativa entre el pH y la densidad celular de *I. galbana* (r<sup>2</sup> = 0,8394, P = 0,00).

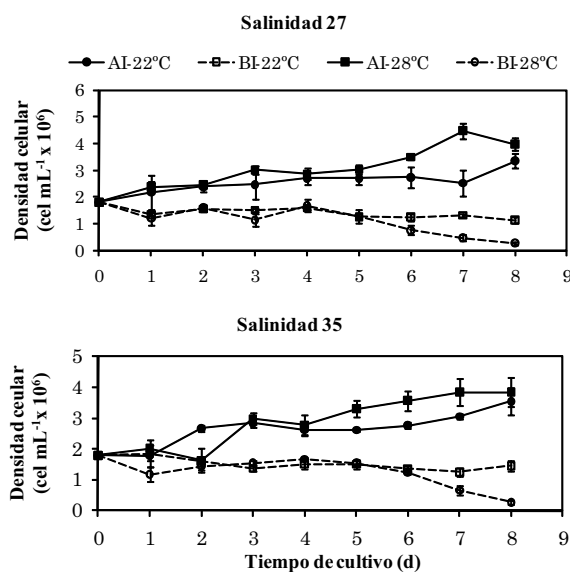


Figura 1. Curvas de crecimiento algal de *I. galbana* cultivada bajo diferentes condiciones de salinidad (35 y 27), iluminación (AI = 1.024 lux y BI = 24 lux) y temperatura (22 y 28 °C). Valores promedio ± ee.

Tabla 1. Análisis de varianza factorial de medidas repetidas para la determinación del efecto de la intensidad lumínica, temperatura y salinidad sobre la densidad celular de *I. galbana*. Los valores significativos ( $P < 0,05$ ) se indican con un asterisco.

FACTOR	GL	F	P
Iluminación	1	30,324	0,000*
Temperatura	1	0,860	0,363
Salinidad	1	1,365	0,256
Iluminación x Temperatura	1	65,222	0,000*
Iluminación x Salinidad	1	4,321	0,497
Temperatura x Salinidad	1	4,360	0,561

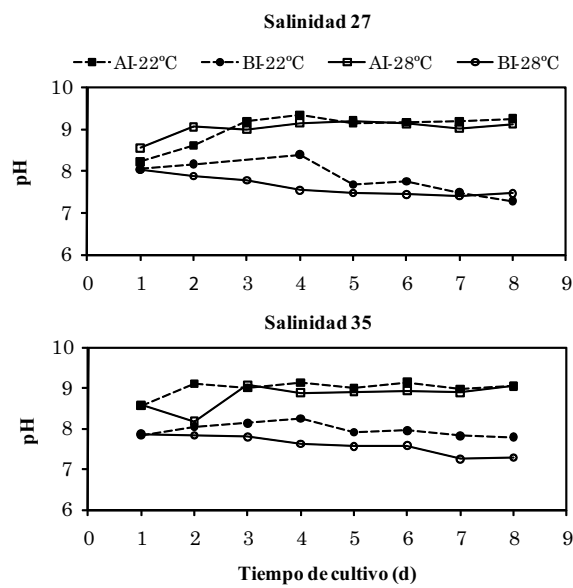


Figura 2. Comportamiento del pH en los cultivos de *I. galbana* bajo diferentes condiciones de salinidad (35 y 27), iluminación (AI = 1.024 lux y BI = 24 lux) y temperatura (22 y 28 °C).

Tabla 2. Tasa de crecimiento relativo (K) para *I. galbana* en los tratamientos aplicados. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Intensidad lumínica (lux)	Temperatura (°C)	Salinidad	K (div día <sup>-1</sup> )
1024	28	35	0,13 <sup>a</sup>
		27	0,13 <sup>a</sup>
	22	35	0,11 <sup>a</sup>
		27	0,10 <sup>a</sup>
24	28	35	-0,37 <sup>d</sup>
		27	-0,37 <sup>d</sup>
	22	35	-0,03 <sup>b</sup>
		27	-0,10 <sup>c</sup>

## DISCUSIÓN

El crecimiento positivo de *I. galbana* cultivada bajo condiciones de mayor intensidad lumínica coincide con los resultados obtenidos con otras microalgas entre las cuales están *Chaetoceros* sp. (Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1994); *Chroomonas* sp. (Bermúdez et al., 2002) y *Tetraselmis suecica* (Helm et al., 2006). Una condición para que haya crecimiento en la densidad microalgal es que la energía total y el Carbón fijado gracias al proceso de fotosíntesis deben exceder los valores usados en la respiración (mantenimiento del metabolismo) (Lobban et al., 1985). La tasa de producción fotosintética se incrementa proporcionalmente con la intensidad de la luz, sin embargo, a intensidades muy altas, la producción fotosintética sufre un retardo y una disminución debido a un efecto de inhibición en la producción y fotooxidación de los pigmentos (Fogg, 1965; Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1994). De otro lado, la tasa de respiración de las algas cuando están expuestas a la luz es relativamente baja e independiente de la intensidad lumínica (Lobban et al., 1985). Muchas microalgas logran adaptarse a condiciones de baja intensidad lumínica y tener crecimientos positivos mediante el aumento de su capacidad para captar luz a través del incremento en el contenido de clorofila (Richardson et al., 1983). El crecimiento negativo de *I. galbana* mantenida a baja iluminación sugiere que la microalga no se adaptó a estas condiciones, ocurriendo un déficit en la energía necesaria para la reproducción celular atribuible a la disminución en la actividad fotosintética y/o al aumento en la respiración.

El alto crecimiento presentado bajo condiciones de alta temperatura e iluminación coincide con lo encontrado en otras microalgas como *Chlorella* sp. y *Nannochloropsis* sp. (James et al., 1989). El aumento de la temperatura provoca el aumento de la fotosíntesis (Lobban et al., 1985; Uribe, 1995), de la respiración (Dawson, 1966) y del crecimiento algal (James et al., 1989; Renaud et al., 2002). A temperaturas muy altas, mientras que la respiración tiene valores altos, descienden tanto la fotosíntesis (Dawson, 1966) como el crecimiento (James et al., 1989). Sin embargo, es posible que el crecimiento puede mantenerse si la intensidad lumínica es lo suficientemente alta para permitir que la fotosíntesis mantenga la respiración, en lugar de las reservas corporales (Dawson, 1966). En este estudio, cuando *I. galbana* fue mantenida bajo condiciones de mayor intensidad lumínica, la alta temperatura posiblemente ocasionó un aumento en la tasa fotosintética por encima de la tasa respiratoria dando como resultado

mayores densidades algales que en condiciones de baja temperatura. Contrariamente, en los tratamientos de baja luminosidad, la alta temperatura pudo provocar el aumento en la tasa de respiración celular, por encima de la tasa de fotosíntesis, ocasionando bajos crecimientos y densidades celulares que en condiciones de baja temperatura.

La falta de efecto de la salinidad sobre el crecimiento celular de *I. galbana* coincide con los resultados obtenidos bajo rangos de salinidades más amplios, entre 10 y 35 (Renaud y Parry, 1994). Los valores extremos de salinidad afectan negativamente las tasas de fotosíntesis, respiración y crecimiento de las microalgas marinas (Lobban et al., 1985, Marín et al., 1998; Bermúdez et al., 2002; Helm et al., 2006). Mientras que la exposición a medios con bajas salinidades ocasiona el hinchamiento de las células e incluso su explosión, los medios hipertónicos producen la deshidratación de las mismas (Lobban et al., 1985). Aparentemente, *I. galbana* se adapta bien a las bajas salinidades ya sea debido a que puede aumentar de volumen sin explotar y sus componentes funcionan bien a bajas concentraciones osmóticas, o mediante la regulación osmótica de sus líquidos internos gracias al bombeo de iones hacia su interior (Lobban et al., 1985).

La relación directamente proporcional que se encontró entre la densidad celular de los cultivos de *I. galbana*, el pH y la intensidad lumínica también ha sido reportada para otras microalgas como *Chlorella sorokiniana* (Moronta y Morales, 2006), *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella autotrophica*, *Cylindrotheca* sp. y *Coccolithis elabens* (Armstrong y Calder, 1978). Esta relación puede ser explicada por tres sucesos: 1) La actividad fotosintética hace disminuir la concentración de  $\text{CO}_2$  en el medio lo que hace que el sistema tampón  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  se altere y se incremente el pH (Lourenço et al., 1997; Skoda, 1997; Lourenço et al., 2002). 2) La absorción del nitrógeno necesario para el crecimiento de las microalgas resulta en un incremento del pH del medio, especialmente cuando la fuente de nitrógeno son los nitratos (Fogg, 1965; Lourenço et al., 2002). 3) La luz induce el aumento en la toma de protones por parte de los cloroplastos, alcalinizando el medio (Armstrong y Calder, 1978). Sin embargo, en algunas especies como *Tetraselmis suecica* el aumento de pH a valores por encima de 7,5 provoca el descenso en la cantidad de células que se cosechan diariamente (Helm et al., 2006) posiblemente debido a que el pH altera la actividad de varias enzimas (Lobban et al., 1985).

Las tasas de crecimiento específicas de *I. galbana* obtenidas en el presente estudio fueron entre dos y cinco veces menores a las presentadas en otros estudios (Tabla 3), lo que puede explicarse por las menores intensidades lumínicas utilizadas.

Los resultados sugieren que la densidad celular de *I. galbana* depende en forma directa de la intensidad lumínica. Esta variable a su vez interactúa con la

temperatura provocando efectos diferentes en la densidad algal. Mientras que en condiciones de alta luminosidad (1.024 lux) la temperatura elevada (28 °C) promueve el aumento de la densidad microalgal, la baja luminosidad (24 lux) la hace decrecer. Finalmente, las salinidades probadas (27 y 35) no afectaron el crecimiento algal de *I. galbana*.

Tabla 3. Investigaciones relacionadas con la tasa de crecimiento relativo (K) en *I. galbana*.

Iluminación (lux)	Temperatura (°C)	Salinidad	Aireación	Medio de cultivo	K (div. día <sup>-1</sup> )	Referencia
3.240	15	35	Si	Walne	1,2	Fernández-Reiriz et al., 1989
4.250	22	30	-	F/2	0,26	Marín et al., 1994
2.430	22.7	-	Si	F/2	0,47	González et al., 1999
16.200	23	31	No	Conway	1,17	Lourenço et al., 2002
1.024	28	35	No	F/2	0,13	Presente estudio

\* Los valores de K equivalen al promedio de los tratamientos a una iluminación alta, los cuales no fueron significativamente diferentes entre sí (P < 0,05).

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a L.M. Manjarrés por su ayuda y asesoría en el manejo estadístico de los datos. Este trabajo fue financiado por la Maestría de Acuicultura y Ecología Acuática Tropical de la Universidad del Magdalena.

## BIBLIOGRAFÍA

Armstrong, J.E. y J.A. Calder. 1978. Inhibition of light-induced pH increase and O<sub>2</sub> evolution of marine microalgae by water-soluble components of crude and refined oils. *Appl. Environ. Microbiol.* 35: 858-862.

Bermúdez, J., C. Lodeiros y E. Morales. 2002. Producción de biomasa de la microalga marina *Chroomonas* sp., en función del pH, intensidad luminosa y salinidad. *Bol. Inv. MAR. Cos.* 31: 167-185.

Bourne, N., C.A. Hodgson y N.C. Whyte. 1989. A manual for scallop culture in British Columbia. Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences 1694, 215p.

Brown, M., S. Jeffrey, J. Volkman y G. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.

Dawson, E.Y. 1966. Marine botany. An Introduction. Holt, Rinehart y Winston, Inc. New York: 242-259.

Delgado, G. 1993. Guía para el cultivo de microalgas. Instituto Nacional de Pesca. Guayaquil. 50 p.

Fernández-Reiriz, M.J., A. Pérez-Camacho, M. J. Ferreiro, J. Blanco, M. Planas, M. J. Campos y U. Labarta. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.

Fidalgo, J. P., A. Cid, E. Torres, A. Sukenik y C. Herrero. 1998. Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*. *Aquaculture* 166: 105-116.

Fogg, G. E. 1965. Algal cultures and phytoplankton ecology. The University of Wisconsin Press. Madison. 175 p.

González, B., E. Buitrago y K. Frontado. 1999. Evaluación de medios nutritivos para el crecimiento de tres microalgas marinas de uso común en acuicultura. *Memorias, Fundación La Salle de Ciencias Naturales*, 51: 75-84.

Guillard, R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: *Culture of marine invertebrate animal*. Plenum Press. New York: 29-59.

Helm M.M., N. Bourne y A. Lovatelli. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual Práctico. FAO Documento Técnico de Pesca 471. Roma. 184 p.

James, C.M., S. Al-Hinty y A. E. Salman. 1989. Growth and W3 fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes. *Aquaculture*. 77: 337-351.

Lavens, P. y P. Sorgeloos. 1989. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center. Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Gent. 210 p.

Lobban, C.S., P.J. Harrison y M.J. Duncan. 1985. The physiological ecology of seaweeds. Cambridge University Press. New York. 200 p.

Lourenço, S.O., U.M. Lanfer-Márquez, J. Mancini-Filho, E. Barbarino y E. Aidar. 1997. Changes in biochemical profile of *Tetraselmis gracilis* I. Comparison of two culture media. *Aquaculture* 148: 153-168.

Lourenço, S.O., E. Barbarino, J. Mancini-Filho, K.P. Schinke y E. Aidar. 2002. Effects of different nitrogen sources on the growth and biochemical profile of 10 marine microalgae in bath culture: an evaluation for aquaculture. *Phycologia* 41: 158-168.

EFFECTO DE LA INTENSIDAD LUMÍNICA, TEMPERATURA Y SALINIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA  
*Isochrysis galbana* (CLON T-ISO)

---

- Marín, N., C. Lodeiros y R. Verginelli. 1994. Cultivo de microalgas y el rotífero *Brachionus plicatilis* a gran escala. *Biol. Mar. Acta Cient. Ven.* 45: 226-230.
- Marín, N., F. Morales, C. Lodeiros y E. Taigneaux. 1998. Effect of nitrate concentration on growth and pigment synthesis of *Dunaliella salina* cultivated under low illumination and preadapted to different salinities. *J. Applied Phycology* 10: 405-411.
- Moronta, R. y E. Morales. 2006. Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 23: 27-41.
- Paniagua, J., F. Buckle, C. Granados y D. Loya. 1983. Manual de metodología y alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE. México. 60 p.
- Pernet, F., R. Temblay, E. Demers y M. Roussy. 2003. Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. *Aquaculture* 221: 393-406.
- Phatarpekar, P. V., R. A. Sreepada y C. T. C. Pednekar. 2000. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. *Aquaculture* 181: 141.
- Renaud, S.M. y D.L. Parry. 1994. Microalgae for use in tropical aquaculture II: Effect of salinity on growth, gross chemical composition and fatty acid composition of three species of marine microalgae. *J. Applied Phycology* 6: 347-356.
- Renaud, S.M., L.V. Thinh, G. Lambrinidis y D.L. Parry. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211: 195-214.
- Richardson, K., J. Beardall y J.A. Raven. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis strategies. *New Phytol.* 93: 157-191.
- Sánchez-Saavedra, M.P. y D. Voltolina. 1994. The chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions. *Comp. Bioch. Phys. Part B: Bioch. Mol. Biol.* 107: 39-44.
- Sarkis, S. y A. Lovatelli. 2007. Installation and operation of a modular bivalve hatchery. Food and agriculture organization of the United Nations. FAO fisheries technical paper 492, Rome. 173 p.
- Skoda, B. 1997. Contributions to the biochemical taxonomy of the genus *Chlorella* Beijerinck s. l. - pigment composition. *Algological Studies* 87: 109-136.
- Uribe, E. 1995. Tecnología de cultivos de microalgas. En: 8th Curso Internacional en Cultivo de Moluscos. Coquimbo: 14-44.
- Valenzuela-Espinoza, E., R. Millán-Núñez y F. Núñez-Cebrero. 2002. Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll a content in *Isochrysis aff. galbana* (clone T-Iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquaculture Engineering* 25: 207-216.
- Velasco, L. A. 2007. Energetic physiology of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus* fed with different microalgal diets. *Aquaculture* 270: 299-311.
- Volkman J.K., S.W., Jeffrey, P.D., Nichols, G.I., Rogers y C.D., Garland. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 128: 219-240.
- Whyte, J. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture* 60: 231-241.

Fecha de recepción: 10/06/2008  
Fecha de aceptación: 21/02/2009

