

**CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA
DE CUATRO CEPAS DE *DUNALIELLA* PARA SER
UTILIZADAS EN ACUICULTURA**

ALEIKAR VÁSQUEZ-SUÁREZ, MIGUEL GUEVARA^{*}, GABRIEL SALAZAR¹,
BERTHA ARREDONDO-VEGA², ROBERTO CIPRIANI³, NATHALIE LEMUS
Y CÉSAR LODEIROS

*Laboratorio de Acuicultura, Ext. Plancton, Instituto Oceanográfico de
Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná 6101,
Estado Sucre, Venezuela*

**Autor por correspondencia: miguevara2003@yahoo.es*

*¹Instituto Universitario de Tecnología, Cumaná,
Estado Sucre, Venezuela*

*²Laboratorio de Biotecnología de Microalgas. Apdo. Postal 128,
La Paz, Baja California Sur 23000, México*

*³Departamento de Estudios Ambientales, Universidad Simón Bolívar,
Caracas, Venezuela*

Resumen. Se determinó el crecimiento y la composición bioquímica de tres cepas de *Dunaliella salina* (Las Peonías, estado Zulia; Coche, estado Nueva Esparta; y Araya, estado Sucre), una de *D. viridis* (Araya) y una cepa foránea *D. bardawil* (UTEX 2538), cultivadas en ambiente exterior. La evaluación de los cultivos fue mediante parámetros poblacionales y análisis del contenido de carbohidratos, proteínas y lípidos, incluyendo el perfil de ácidos grasos. La máxima densidad celular la alcanzó *D. viridis* con valores de $3,90 \times 10^6$ cel mL⁻¹. Las cepas analizadas mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos totales, cuyos porcentajes, en relación a la biomasa seca, variaron entre 38,3–52,8%; 7,7–10,8% y 8,4–12,7%, respectivamente. Entre los ácidos grasos poliinsaturados, las cepas *D. salina* Peonías, Araya y Coche, mostraron como predominante al ácido β -linolénico 18:3 (n-3), al igual que ocurrió con la cepa *D. bardawil* UTEX 2538; mientras que *D. viridis* Araya produjo en mayor cantidad el ácido 16:4 (n-3). Se evidencia el potencial, en cuanto al crecimiento, contenido proteico y concentración de ácidos grasos poliinsaturados de 16 y 18 carbonos, que presentan *D. salina* Araya y *D. viridis* Araya, al ser cultivadas en condiciones exteriores con la finalidad de ser utilizadas como dietas en organismos acuáticos de interés comercial. *Recibido: 08 febrero 2007, aceptado: 22 mayo 2007.*

Palabras clave: *Dunaliella salina*, *Dunaliella viridis*, cultivos discontinuos, ácidos grasos, microalgas, acuicultura, Venezuela.

GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF
FOUR *DUNALIELLA* STRAINS TO BE USED IN AQUACULTURE

Abstract. We determined growth and biochemical content of four *Dunaliella* strains in Venezuela: three *Dunaliella salina* strains from Las Peonías, Zulia State; Coche, Nueva Esparta State; and Araya, Sucre State; and one *D. viridis* strain from Araya, Sucre State. An exotic strain (*D. bardawil* UTEX 2538) was used as a control. Microalgae were cultured in outside conditions. Cultures were evaluated via population parameters, as well as carbohydrate, and protein and lipid content, including the fatty acid profile. Highest cell density (3.9×10^6 cells mL⁻¹) was achieved by *D. viridis*. Protein (38.30–52.80%), lipid (7.70–10.80%), and total carbohydrate contents (8.40–12.70%), in relation to dry weight, were significantly different among all strains ($P < 0.05$). Concerning polyunsaturated fatty acids, *D. salina* strains from Las Peonías, Araya and Coche produced β -linolenic acid 18:3n-3 in greater quantities, as well as *D. bardawil* UTEX 2538, whereas *D. viridis* Araya produced the highest content of 16:4 (n-3) acid. Based on their growth, higher protein content, and high polyunsaturated fatty acid concentrations, with 16 and 18 carbon atoms, the *D. salina* Araya and *D. viridis* Araya strains are excellent candidates to culture in the field, for use in diets of commercial aquatic organisms. *Received: 08 February 2007, accepted: 22 May 2007.*

Key words: *Dunaliella salina*, *Dunaliella viridis*, microalgae culture, fatty acids, microalgae diets, aquaculture, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

El valor nutricional de las microalgas depende principalmente de su contenido proteico, lipídico (especialmente ácidos grasos) y de carbohidratos (Napolitano *et al.* 1990). En general, entre los elementos nutricionales requeridos en una microalga para asegurar tasas altas de supervivencia de larvas de crustáceos y moluscos se encuentran un contenido proteico superior al 25% en base a biomasa seca, 8–30% de carbohidratos y alrededor de un 10% de lípidos, especialmente los ácidos grasos C20:5 n-3 y C22:6 n-6 (Robert *et al.* 2004). Por otra parte, también hay que tomar en cuenta otras características como el tamaño, la presencia de quetas y pared celular, las cuales causarían problemas, debido a que dificultan su asimilación por parte de las larvas (Núñez *et al.* 2002).

Existen gran cantidad de estudios sobre la microalga *Dunaliella salina*, la mayoría enfocados a la producción de carotenos (Borowitzka y Borowitzka 1988, Cifuentes *et al.* 1992, Hosseini y Mansour 2006). Estos estudios, en Venezuela, por ejemplo, son relativos al análisis de la capacidad carotenogénica de la especie, caracterizando cepas de diferentes sistemas hipersalinos, particularmente del nororiente (Guevara *et al.* 2005). De igual forma, Yépez y Morales (1998) estudiaron a *D. viridis*, aislada de las salinas Las Cumaraguas, estado Falcón. Otros estudios sobre estas especies de sistemas hipersalinos, han sido enfocados a su utilización como alimento, particularmente en invertebrados marinos, sugiriendo su utilidad ya sea como alimento directo o complemento de dietas microalgales en función de una mayor condición de larvas y otros estados de desarrollo (Boonyaratpalin *et al.* 2001).

Las cepas autóctonas de los sistemas hipersalinos de las costas venezolanas (*D. salina* y *D. viridis*) han mostrado buen crecimiento a salinidades de 35–40 PSU en cultivos a pequeña escala (Yépez y Morales 1998, Marín *et al.* 1998). Esta característica, junto con la falta de pared celular, lo cual permitiría una mayor digestibilidad por parte de larvas de invertebrados, sugiere su posible utilización como alimento de los mismos. El objetivo de este trabajo es evaluar el crecimiento y la composición bioquímica, incluyendo el perfil de ácidos grasos de cuatro cepas de *D. salina* y *D. viridis*, provenientes de sistemas hipersalinos de la costa de Venezuela y el de una cepa foránea *D. bardawil* UTEX 2538, en cultivo masivo en ambiente exterior.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron tres cepas autóctonas de *Dunaliella salina* y una de *Dunaliella viridis* procedentes de ambientes hipersalinos en la costa de Venezuela, además de una cepa de *Dunaliella bardawil* (UTEX 2538), que sirvió como referencia comparativa, debido a su amplio uso en numerosas investigaciones.

Las cepas autóctonas estudiadas fueron *D. salina* Coche LAEP-21, aislada de las salinas de Coche, estado Nueva Esparta (10°49'23" latitud Norte y 63°58'42" longitud Oeste), *D. salina* Peonías LAEP-12, aislada de las salinas de Las Peonías, estado Zulia (10°45'15" latitud Norte y 71°38'42" longitud Oeste) y *D. salina* Araya LAEP-44 y *D. viridis* LAEP-20 provenientes de las salinas de Araya, estado Sucre (10°41'12" latitud Norte y 64°19'12" longitud Oeste). Todas estas cepas forman parte del cepario permanente de microalgas del Laboratorio de Acuicultura, extensión plancton del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Todas las cepas se cultivaron en un sistema discontinuo en ambiente exterior, durante los meses cálidos del año (julio-agosto 2004). La temperatura de los cultivos varió entre 25,3 y 36,8 °C, mientras que la intensidad luminosa estuvo entre los 136,7 y 371,0 $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$. Se utilizaron recipientes de vidrio de 26 cm de diámetro por 58 cm de alto con 10 L de agua de mar (37 PSU) previamente filtrada a través de membranas Whatman GF/C de 0,45 μm de porosidad, tratada con hipoclorito de sodio comercial (0,25 mL L^{-1}) y neutralizado con tiosulfato de sodio. Ésta fue posteriormente enriquecida con el medio Algal a una concentración 4 mM de nitrato (Fábregas *et al.* 1984). Los recipientes se protegieron con una malla comercial (Trical 60%) para disminuir la radiación solar y se sometieron a una aireación continua (200 mL min^{-1}).

Los cultivos se iniciaron con inóculos en fase de crecimiento exponencial a una densidad inicial de $3 \times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$. Todos los cultivos se hicieron por triplicado y se evaluó el crecimiento durante 20 días. El recuento celular se llevó a cabo cada 48 h, usando un hematocitómetro Neubauer de 0,1 mm de profundidad. La tasa de crecimiento (K) y el tiempo de duplicación (Td) se calculó según las recomendaciones en Madigan *et al.* (1999).

Cuando los cultivos alcanzaron la fase final de crecimiento exponencial, se extrajeron muestras de 5 mL por triplicado de cada réplica de los cultivos, para cada variable analizada. Estas muestras se centrifugaron a 4.000 rpm por 10 min a temperatura ambiente. La pastilla celular resultante se utilizó para la determinación de proteínas mediante el método de Lowry modificado por Herbert *et al.* (1971), carbohidratos por el método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956) y lípidos totales por el método de carbonización simple (Bligh y Dyer 1959, Marsh y Weinstein 1966).

El extracto lipídico se esterificó (Sato y Murata 1988) para la cuantificación de ácidos grasos, la cual se realizó mediante la inyección de 10 μL de muestra en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masa (Agilent 4890D) equipado con un detector de ionización a la llama (FID) y una columna capilar HP- INNOWax (30 m x Ø 0,32 mm) y 0,50 μm de espesor de la fase líquida (Croslinked Polyethylene Glycol).

La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo mediante la comparación de los tiempos de retención de un patrón comercial de metil-esteres de ácidos grasos PUFA-3 (Metreya Inc., Pleasant Gap, PA, USA).

Para establecer si existieron diferencias significativas entre las cepas en las variables de los parámetros de crecimiento y la composición bioquímica, se

analizaron los valores alcanzados al final de la fase exponencial, indicativa de cosecha (día 8), mediante un análisis de variancia de un factor (cepas). Las variables que mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$), se les aplicó un análisis múltiple de Scheffè en función de establecer diferencias entre las cepas estudiadas. Previo a los análisis se comprobó la homogeneidad de varianzas y distribución normal de los datos según Sokalf y Rolf (1995).

RESULTADOS

Las microalgas *D. viridis* Araya y *D. salina* Araya alcanzaron las mayores densidades celulares con valores de $3,90 \pm 0,05 \times 10^6$ y $3,7 \pm 0,06 \times 10^6$ cel mL⁻¹, respectivamente; mientras que la cepa de *D. salina* (cepa Coche) apenas logró mantener densidades similares a las del inóculo inicial $0,36 \pm 0,05 \times 10^6$ cel mL⁻¹ (Fig. 1).

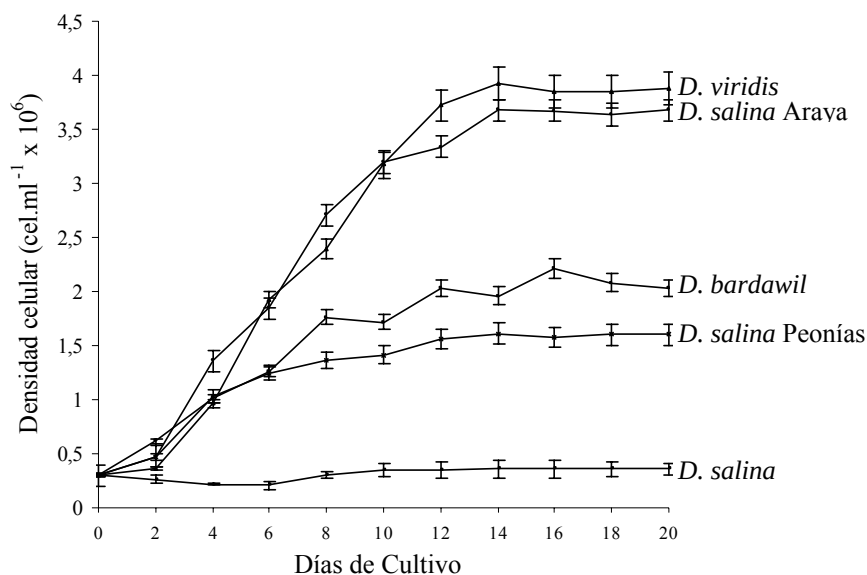


Figura 1. Crecimiento de cinco cepas del género *Dunaliella* en cultivos discontinuos bajo condiciones naturales.

Se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la velocidad de crecimiento (K) y el tiempo de duplicación (T_d) de las cepas. La mayor K y menor T_d , la presentó *D. salina* Araya con valores de $0,77 \text{ div día}^{-1}$ y 1,31 días, respectivamente. *D. salina* Coche mostró la tasa de crecimiento menor ($0,27 \text{ div día}^{-1}$) lo que se traduce en un mayor tiempo para duplicar su población (3,76 días; Tabla 1).

Tabla 1. Densidad celular máxima, tasa de crecimiento (K) y tiempo de duplicación (Td) de *Dunaliella* en cultivos discontinuos bajo condiciones naturales. Letras similares indican grupos estadísticamente iguales ($P > 0,05$).

Cepa	K (div día ⁻¹)	Td (días)	Densidad celular máxima (x 10 ⁶ cel mL ⁻¹)
<i>D. bardawil</i> UTEX 2538	0,47 ± 0,01 ^c	2,12 ± 0,02	2,00 ± 0,20 ^b
<i>D. salina</i> Peonías LAEP-12	0,56 ± 0,02 ^b	1,80 ± 0,02	1,60 ± 0,03 ^c
<i>D. viridis</i> LAEP-20	0,59 ± 0,02 ^b	1,69 ± 0,02	3,90 ± 0,05 ^a
<i>D. salina</i> Coche LAEP-21	0,27 ± 0,01 ^d	3,76 ± 0,03	0,36 ± 0,05 ^d
<i>D. salina</i> Araya LAEP-44	0,77 ± 0,02 ^a	1,31 ± 0,01	3,70 ± 0,06 ^a

La macromolécula con mayor concentración en las cepas estudiadas fue de origen proteico (Fig. 2), obteniéndose una proporción entre 32% y 53%, en contraste con los lípidos y carbohidratos que se encontraron en cantidades cercanas al 10% de biomasa seca. *D. salina* Peonías fue la que presentó el mayor porcentaje de proteínas ($P < 0,05$), con valores cercanos al $52,8 \pm 2,41\%$, mientras que la cepa *D. salina* Araya presentó un $32,3 \pm 2,09\%$, lo que la definió como la cepa con menor porcentaje de proteínas. Las cepas *D. bardawil* UTEX 2538, *D. salina* Coche y *D. viridis* Araya presentaron porcentajes (43% y 45%) estadísticamente iguales ($P > 0,05$).

El porcentaje de carbohidratos totales estuvo entre 4,36% (*D. bardawil* UTEX 2538) y 13,2% (*D. salina* Araya), siendo ésta última, significativamente superior al resto de las cepas ($P < 0,05$); mientras que en *D. salina* Peonías y Coche no se registraron diferencias significativas ($P > 0,05$).

Los lípidos totales estuvieron entre 7,24% (*D. viridis* Araya) y 10,75% (*D. salina* Coche). *Dunaliella viridis* y *D. salina* Araya presentaron las menores proporciones de lípidos (7,24% y 7,69%), mientras que las cepas restantes tuvieron mayor capacidad de lipogénesis, obteniendo cantidades significativamente mayores ($P < 0,05$) con valores entre 9,41% y 10,75% (Fig. 2).

En todas las cepas, el ácido graso saturado con mayor abundancia fue el palmítico (C16:0) y sus concentraciones fueron de 19,25; 20,25; 21,04; 23,32 y 24,65% para las cepas *D. viridis* Araya, *D. bardawil* UTEX 2538, *D. salina* Peonías, *D. salina* Coche y *D. salina* Araya, respectivamente (Tabla 2). En cuanto a los monoinsaturados, no se registraron mayores diferencias en las concentraciones del C16:1 n-9 (2,10–3,08%) y el C18:1 n-9 (2,22–3,83%). Por otra parte, sólo se presentaron ácidos grasos poliinsaturados de cadena entre 16

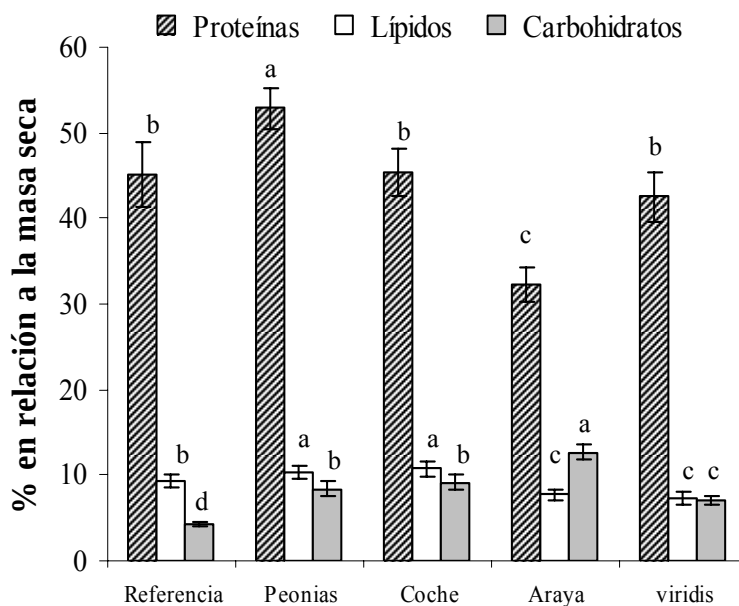


Figura 2. Contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos de cinco cepas de *Dunaliella* en cultivos discontinuos bajo condiciones naturales. Letras iguales indican grupos estadísticamente iguales ($P > 0,05$).

y 18 carbonos, siendo el β -linolénico (C18:3 n-3) el encontrado en mayor proporción, en las cepas *D. salina* Peonias y Araya. El segundo poliinsaturado mayor sintetizado fue el C16:4, donde *D. viridis* Araya mostró el mayor valor y *D. salina* Araya presentó el menor valor (Tabla 2).

DISCUSIÓN

Las diferencias presentadas en las velocidades de crecimiento (K) y los tiempos de duplicación (Td) de las cepas de *Dunaliella* corroboran lo planteado por Borowitzka y Borowitzka (1988), quienes sugieren que no todas las cepas de *Dunaliella*, aunque sean de la misma especie, poseen la capacidad de responder de forma similar a las mismas condiciones de cultivo.

Los mayores valores de densidad celular de las cepas *D. salina* Araya y *D. viridis*, muestran la potencialidad de estas cepas para ser cultivadas de forma

Tabla 2. Valores promedios de ácidos grasos, expresados en porcentaje de área, presentes en cinco cepas de *Dunaliella* en cultivos discontinuos bajo condiciones naturales.

Ácidos Grasos	D. <i>bardawil</i>	D. <i>viridis</i>	Cepas de <i>D. salina</i>		
			Peonías	Coche	Araya
Σ Saturados	21,76	19,94	21,44	24,33	26,51
14:0	0,85	0,18	0,20	0,51	1,24
16:0	20,25	19,25	21,04	23,32	24,65
18:0	0,66	0,51	0,20	0,50	0,62
Σ Monoinsaturados	7,22	7,79	6,12	8,87	6,58
16:1n-9	2,9	3,06	2,10	2,89	3,08
18:1 n-7	1,25	2,51	0,90	2,15	0,32
18:1 n-9	3,07	2,22	3,12	3,83	3,18
Σ Poliinsaturados	69,74	71,66	71,31	65,36	65,44
16:2 n-6	5,40	5,10	2,35	3,25	4,90
16:3 n-3	1,95	2,85	2,75	2,65	1,89
16:4 n-3	21,15	22,75	21,54	18,25	16,58
18:2 n-6	14,91	15,66	15,45	13,43	14,24
18:3 n-3	23,05	22,38	25,98	25,45	25,83
18:3 n-6	1,03	1,21	0,95	0,65	0,75
18:4 n-3	1,90	1,71	2,29	1,68	1,25
Total	98,72	99,39	98,87	98,56	98,53
ΣOtros	1,28	0,61	1,13	1,44	1,471

masiva bajo condiciones tropicales, permitiendo disminuir costos en la producción de larvas de organismos acuáticos, como por ejemplo de moluscos y crustáceos, las cuales son alimentadas a través de cultivos masivos en ambientes no controlados (Lora-Vilchis *et al.* 2004).

Las bajas densidades celulares obtenidas por *D. salina* Coche pueden ser consecuencia del tamaño de las células ya que esta cepa presenta un mayor volumen en comparación con el resto (datos no mostrados); una hipótesis alternativa podría ser su procedencia, ya que la misma se aisló de un bloque de sal, soportando y adaptándose fisiológicamente a altas salinidades (300 PSU), muy por encima de la utilizada en el presente estudio (37 PSU). De esta manera, el proceso de adaptación a nuevos ambientes puede ser dependiente del origen de las cepas como lo señala Cifuentes *et al.* (1992) para cepas de *D. salina* provenientes de ambientes hipersalinos del subtropico suramericano.

Los porcentajes de proteínas obtenidos permiten suponer que la concentración de nitrato utilizada en los cultivos permitió la disponibilidad del nitrógeno durante la fase exponencial y que dicho compuesto fue asimilado por cada cepa de acuerdo a su metabolismo. Estos porcentajes se encuentran dentro del margen con respecto a los valores presentados por Becker (1986), quien mencionó que las microalgas son una alta fuente de proteínas con valores entre 30% y 65% de su biomasa seca. Por otro lado, Ben-Amotz *et al.* (1982) compararon cepas de *D. salina* y *D. bardawil* encontrando entre un 30% y 50% de proteínas, para ambas especies. Igualmente, Renaud *et al.* (1994) obtuvieron valores de $40,3 \pm 2,80\%$ de la biomasa seca en *D. salina*, los cuales asemejan a los presentados en este trabajo.

Desde el punto de vista nutricional, los porcentajes proteicos presentes en las microalgas bajo estudio son de suma importancia debido a que en la larvicultura, esta macromolécula juega un papel preponderante en el mantenimiento, regeneración de tejidos y crecimiento o formación de nuevas estructuras, así como también aporta notables cantidades de energía para el desarrollo normal de los organismos cultivados (Higuera 1989).

Las concentraciones de carbohidratos mostradas por las microalgas analizadas son similares a los publicados por Renaud *et al.* (1994) quienes mencionan que *D. salina* puede alcanzar valores de 11% con respecto a la biomasa seca, al igual que lo hace Ben-Amotz *et al.* (1982) para *D. bardawil*. En acuicultura, los carbohidratos no están considerados como nutrientes esenciales en la dieta de larvas de peces o crustáceos, ni tampoco se ha establecido un requerimiento absoluto, pero su inclusión en la dieta podría representar un ahorro con respecto a la utilización de las proteínas, la cual es la fuente más valiosa para el crecimiento en lugar de ser utilizada como fuente energética.

Los porcentajes de lípidos alcanzados en el presente estudio son similares a los presentados por Brown *et al.* (1989) y Becker (1994), quienes muestran para *D. salina*, porcentajes de lípidos cercanos al 9% de su biomasa seca. En el caso de *D. bardawil* y otras clorofíceas, Shifrin y Chisholm (1981) y Ben-Amotz *et al.* (1982) indican que estos microorganismos logran acumular hasta un 30% de lípidos totales, cuando son cultivados con deficiencia de nitrógeno. Esta puede ser la razón del por qué la cepa de referencia en estudio presentó porcentajes bajos de lípidos. El aporte lipídico de las microalgas para ser utilizadas como alimento, es de suma importancia, ya que entre ellos se encuentran los triacilglicéridos, los cuales están relacionados con el desarrollo de larvas de moluscos bivalvos (Nevejan *et al.* 2003).

Los perfiles de ácidos grasos obtenidos en esta investigación son similares a los presentados por Ben-Amotz *et al.* (1985), donde mencionan que *D. salina* tiene como mayor componente al C16:3. De igual forma, Renaud *et al.* (1994) establecen que *D. salina* logra sintetizar mayoritariamente los ácidos grasos C16:0, C16:4 (n-3), C18:2 (n-6) y C18:3 (n-3). Al mismo tiempo, hacen mención que las clorofíceas se caracterizan por presentar altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (AGPs) con cadenas de 16 y/o 18 carbonos, mientras que los AGPs de 20 y/o 22 átomos de carbono se encuentran como constituyentes minoritarios y en algunos casos carecen totalmente de ellos, tal y como se observó en las cepas analizadas. Además, indican que *D. salina* puede llegar a producir hasta un 78% de AGPs con respecto al total de ácidos grasos, valor que es muy cercano al obtenido.

En el presente estudio, al igual que en el de Mendoza (1999) se encontró mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados que en otras investigaciones (Mourente *et al.* 1990, Becker 1994, Renaud *et al.* 1994, y Caers *et al.* 2002). Estas diferencias pueden estar relacionadas a factores genéticos, los cuales han sido una explicación de la variabilidad en la caroteogénesis de cepas de *Dunaliella salina* (Gómez y González 2001, 2005).

Un aspecto común e importante es la presencia de los ácidos grasos linoleico C18:2 y linolénico C18:3, de las familias n-6 y n-3, respectivamente. Estos ácidos grasos son considerados esenciales debido a que los animales no pueden sintetizarlos (Abalde *et al.* 1995), por lo que es de suma importancia incluirlos en las dietas (Spector 1999).

La concentración de las diferentes macromoléculas y ácidos grasos hallados en las cepas nativas, principalmente *D. salina* Araya y *D. viridis* Araya, abren la posibilidad de utilizarlas como fuente nutricional en acuicultura, en primer lugar por sus altos contenidos proteicos, los cuales ayudan al acortamiento del tiempo para alcanzar la madurez, la fecundidad de las hembras y el balance de energía en algunos bivalvos y camarones, además de satisfacer los requerimientos nutritivos de larvas, postlarvas o reproductores de diferentes especies (Benemann 1992, Fariás y Uriarte 2001). Por otro lado, la cantidad y calidad de las fracciones lipídicas que pueden ser consideradas materia prima para la elaboración de harinas, utilizadas como piensos acuícolas y aceites que pueden suplantar los mencionados productos de origen animal. Sumado a esto, distintos autores han enfatizado también la importancia del suministro de una fuente adicional de ácidos grasos poliinsaturados en los cultivos de bivalvos, particularmente, los de cadenas con 20 o más átomos de

carbono, los cuales son imprescindibles durante el desarrollo embriológico y larvario de estos animales (Soudant *et al.* 1996, Jonsson *et al.* 1999).

Al comparar la composición bioquímica de las microalgas analizadas con otras microalgas comúnmente utilizadas como alimento para larvas de moluscos o crustáceos, por ser consideradas un buen alimento para éstos (Brown *et al.* 1997, Martínez-Fernández *et al.* 2004), todas las cepas estudiadas presentan calidad bioquímica y por lo tanto adecuada calidad nutricional. Sin embargo, *D. salina* Araya y *D. viridis* serían las recomendadas para ser utilizadas como parte de la dieta en el cultivo de moluscos y crustáceos, debido a su facilidad de crecimiento en ambiente exterior. Finalmente, sería interesante llevar a cabo estudios donde se determine el porcentaje de ingestión y digestión de estas microalgas por parte de diferentes tipos de larvas, para así establecer a que especies les favorecería la adición de *D. salina* Araya y *D. viridis* Araya como parte de la dieta para su desarrollo.

AGRADECIMIENTOS

La investigación fue financiada por el Fondo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Venezuela (FONACIT), el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (CIUDO) y la Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Acuicultura del estado Sucre (FIDAES), siendo la segunda contribución de la FIDAES.

LITERATURA CITADA

- ABALDE, J., A. CID, P. FIDALGO, E. TORRES Y C. HERRERO. 1995. Microalgas: cultivo y aplicaciones. Monografía No. 26. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de la Coruña, España. 210 pp.
- BECKER, E. 1986. Nutritional properties of microalgae: potentials and constraints. Pp. 339–419, *en* A. Richmond (ed.), Handbook of microalgal mass culture. CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA.
- BECKER, E. 1994. Biotechnology and microbiology. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, 293 pp.
- BEN-AMOTZ, A., A. KATZ Y M. AVRON. 1982. Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: purification and characterization of β -carotene rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). J. Phycol. 18: 529–537.
- BEN-AMOTZ, A., T. TORNABENE Y W. THOMAS. 1985. Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. J. Phycol. 21: 2–81.
- BENEMANN, J. 1992. Microalgae aquaculture feeds. J. Appl. Phycol. 4: 233–245.
- BLIGH, E. Y W. DYER. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911–917.
- BOONYARATPALIN, M., S. THONGROD, K. SUPAMATTAYA, G. BRITTON Y L.

- SCHLIPALIUS. 2001. Effects of b-carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. Aquacul. Res. 32: 182–190.
- BOROWITZKA, M. Y L. BOROWITZKA. 1988. *Dunaliella*. Pp. 27–58, en M. A. Borowitzka y L. J. Borowitzka (eds.), Micro-algal biotechnology. Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York, USA.
- BROWN, M., S. JEFFREY Y C. GARLAND. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. CSIRO Marine Reports, No. 205.
- BROWN, M. 1991. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 145: 79–99.
- BROWN, M., S. JEFFREY, J. VOLKMAN Y G. DUNSTAN. 1997. Nutricional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture 151: 315–331.
- CAERS, M., S. UTTING, P. COUTTEAU Y P. MILLICAN. 2002. Impact of the supplementation of a docosahexaenoic acid-rich emulsion on the reproductive output of oyster broodstock, *Crassostrea gigas*. Marine Biology 140: 1157–1166.
- CIFUENTES, A., M. GONZÁLEZ, M. CONEJEROS, V. DELLAROSSA Y O. PARRA. 1992. Growth and carotenogenesis in eight strains of *Dunaliella salina* Teodoresco from Chile. J. Appl. Phycol. 4: 111–118.
- DUBOIS, M., K. GILLES, J. HALMILTON, P. REBERS Y F. SMITH. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 2: 350–356.
- FÁBREGAS, J., J. ABALDE, C. HERRERO, B. CABEZAS Y M. VEIGA. 1984. Growth of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. Aquaculture 42: 207–215.
- FARIAS, A. Y I. URIARTE. 2001. Effect of microalgae protein on the gonad development and physiological parameters for the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). J. Shellfish Res. 20: 97–105.
- GÓMEZ, P. Y M. GONZÁLEZ. 2001. Genetic polymorphism in eight Chilean strains of the carotenogenic microalga *Dunaliella salina* Teodoresco (Chlorophyta). Biol. Res. 34: 23–30.
- GÓMEZ, P. Y M. GONZÁLEZ. 2005. The effect of temperature and irradiance on the growth and carotenogenic capacity of seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) cultivated under laboratory conditions. Biol. Res. 38: 151–162.
- GUEVARA, M., C. LODEIROS, O. GÓMEZ, N. LEMUS, P. NÚÑEZ, L. ROMERO, A. VÁSQUEZ Y N. ROSALES. 2005. Carotenogénesis de cinco cepas del alga *Dunaliella* sp. (Chlorophyceae) aisladas de lagunas hipersalinas de Venezuela. Rev. Biol. Trop. 53: 331–337.
- HERBERT, D., P. PHIPPS Y R. STRANSE. 1971. Chemical analysis of microbial cells. Pp. 209–244, en J. Noris y D. Ribbons (eds.), Methods in microbiology. Academic Press, London, UK.
- HIGUERA, M. 1989. Requerimientos de proteína y aminoácidos en peces. Pp. 53–98, en FAO (ed.), Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. ONU/FAO, Roma.

- HOSSEINI, A. Y S. MANSOUR. 2006. Pilot culture of three strains of *Dunaliella salina* for *b*-carotene production in open ponds in the central region of Iran. *World J. Microbiology & Biotechnology* 22: 1003–1006.
- JONSSON, P., K. BERNTSSON, C. ANDRE Y S. WÄNGBERG. 1999. Larval growth and settlement of the European oyster (*Ostrea edulis*) as a function of food quality measured as fatty acid composition. *Mar. Biol.* 134: 559–570.
- LEAL, E. 1996. Efecto de algunos factores ambientales sobre la capacidad carotenogénica de una cepa de *Dunaliella salina* Teodoresco (Chlorophyceae, Dunaliellales). Trabajo de Grado, Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 104 pp.
- LORA-VILCHIS, M., M. ROBLES-MUNGARAY Y N. DOKTOR. 2004. Food value of four microalgae for juveniles of the Lion's Paw Scallop *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1833). *J. World Aquaculture Soc.* 35: 297–303.
- MADIGAN, M. T., J. M. MARTINKO Y J. PARKER. 1999. Brock Biología de los Microorganismos (8 ed.). Prentice Hall, Madrid, España, 1064 pp.
- MARÍN, N., F. MORALES, C. LODEIROS Y F. TAMIGNEAUX. 1998. Effect of nitrate concentration on growth and pigment synthesis of *Dunaliella salina* cultivated under low illumination and preadapted to different salinities. *J. Appl. Phycol.* 10: 405–411.
- MARSH, J. Y D. WEINSTEIN. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipids Res.* 7: 574–592.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, E., H. ACOSTA-SALMÓN Y C. RANGEL-DÁVALOS. 2004. Ingestion and digestion of 10 species of microalgae by winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) larvae. *Aquaculture* 230: 417–423.
- MENDOZA, H., A. MARTEL, M. JIMÉNEZ DEL RÍO Y G. GARCÍA-REINA. 1999. Oleic acid is the main fatty acid related with carotenogenesis in *Dunaliella salina*. *J. Appl. Phycol.* 11: 15–19.
- MORALES, F. 1995. Efectos de algunos parámetros ambientales sobre las especies halofíticas de microalgas del género *Dunaliella* (Dunal) Teodoresco, 1905 (Chlorophyta, Volvocales) presentes en la salina de Araya, Estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Grado, Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, 66 pp.
- MOURENTE, G., L. LUBIÁN Y J. ODRIÓZOLA. 1990. Total fatty acid composition as taxonomic index of some marine microalgae used as food in marine aquaculture. *Hidrobiología* 203: 147–154.
- NAPOLITANO, E., R. ACKMAN Y W. RATNAYAKE. 1990. Fatty acid composition of three cultured algal species (*Isochysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as food for bivalve larvae. *J. World Aquaculture Soc.* 37: 22–30.
- NEVEJAN, N., I. SAEZ, G. FAJARDO Y P. ZORRUELOS. 2003. Supplementation of EPA and DHA emulsions to a *Dunaliella tertiolecta* diet: effects on growth and lipid composition of scallop larvae, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture* 217: 613–632.

- NÚÑEZ, M., C. LODEIROS, M. DE DONATO Y C. GRAZIANI. 2002. Evaluation of microalgae diets for *Litopenaeus vannamei* larvae using a simple protocol Aquacul. International 10(3): 177–187.
- RENAUD, S., L. PARY Y T. LUONG-VAN. 1994. Microalgae for use in tropical aquaculture I: Gross chemical and fatty acid composition of twelve species of microalgae from the Northern Territory, Australia. J. Appl. Phycology. 6: 337–345.
- ROBERT, R., M. CHRETIENNOT-DINET Y R. KAAS. 2004. Amélioration des productions phytoplanctoniques en éclosérie de mollusques: caractérisation des microalgues fourrage. Report Ifremer DRV/RA/RST/LPI/2004-2005, 150 pp.
- SATO, N. Y N. MURATA. 1988. Membrana Lipids. Method Enzimol. 167: 251–259.
- SHIFRIN, N. Y S. CHISHOLM. 1981. Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light dark cycles. J. Phycol. 17: 374–384.
- SOKAL, R. Y F. ROHLF. 1995. Biometry. Ed. W. Freeman, New York, 887 pp.
- SOUDANT, P., Y. MARTY, J. MOAL Y J. SAMAIN. 1996. Fatty acids and egg quality in great scallop. Aquaculture International 4: 191–200.
- SPECTOR, A. 1999. Essentiality of fatty acids. Lipids 34: S1–S3.
- YÉPEZ, M. Y E. MORALES. 1998. Efecto de la concentración de nitrato y cloruro de sodio sobre la densidad celular y contenido de pigmentos de *Dunaliella viridis*. Bol. Centro Invest. Biol. 32: 1–12. Univ. del Zulia, Maracaibo.