



Generación biotecnológica para la producción de microalgas

Christine J. Band Schmidt. Instituto de Industrias, UMAR

Resumen

Se cultivaron a *Chaetoceros sp.*, *Dunaliella sp.1*, *Dunaliella sp.2*, *Nannochloropsis sp.*, *Neochloris oleabundans*, y una microalga no identificada denominada Col2 en medio f/2 (Guillard y Rhyther, 1962) y un medio convencional a base de fertilizantes agrícolas, MIII (Trujillo-Valle, 1992) hasta el inicio de la fase estacionaria. Se determinó la curva de crecimiento, la absorbencia, densidad máxima, tasa de crecimiento, tiempo de generación, número de generaciones y el contenido de proteínas (Lowry et al. 1951), carbohidratos (Yemm y Willis, 1954) y lípidos totales (Kates, 1982) hasta el inicio de la fase estacionaria. *Chaetoceros sp.*, *Nannochloropsis sp.* y *Dunaliella sp.2* presentaron mayor densidad en medio f/2 en un lapso de 3 a 5 días. *Dunaliella sp.1* obtuvo una mayor densidad en medio MIII en 16 días. *N. oleabundans* y Col 2 no presentaron diferencias significativas en la densidad obtenida en ambos medios de cultivo. *N. oleabundans* fue la cepa de crecimiento más lento, alcanzando la fase estacionaria en 15 y 17 días en medio f/2 y MIII, respectivamente. La mayor tasa de crecimiento se encontró en *Dunaliella sp.2* en medio f/2 (1.56) y la cepa con la tasa de crecimiento más baja fue *Nannochloropsis sp.* (0.2) en medio MIII. *Chaetoceros sp.* presentó el mayor contenido de proteínas en medio MIII (65.6 mg/l) y Col 2 presentó el contenido más bajo en el mismo medio (18.7 mg/l). *N. oleabundans* presentó un alto contenido de carbohidratos en medio MII (110 mg/l), *Chaetoceros sp.* solo presentó 4.88 mg/l en f/2, *Dunaliella sp.2* y *N. oleabundans* tuvieron el mayor contenido de lípidos totales 107 mg/l en medio f/2 y 100mg/l en medio MIII respectivamente, Col 2 tuvo el menor contenido de carbohidratos en medio MII (37 mg/l).

El cultivo de microalgas tiene una gran importancia en la acuicultura, ya que son el primer alimento de varias especies de importancia comercial.

En la Universidad del Mar se están iniciando varios proyectos de acuicultura, como son los de langostino, camarón, peces de ornato y en un futuro de moluscos bivalvos, por lo que el mantenimiento de un cepario en esta institución es de suma importancia.

Abstract

Chaetoceros sp., *Dunaliella sp.1*, *Dunaliella sp.2*, *Nannochloropsis sp.*, *Neochloris oleabundans*, and a microalgae not identified named Col2 were cultivated in a medium elaborated with agricultural fertilizers, MIII (Trujillo-Valle, 1992) until the initiation of the stationary phase of growth. The growth curve was determined by the maximum density, rate of growth, the generation time, numbers of generation and the content of proteins (Lowry et al. 1951), carbohydrates (Yemm y Willis, 1954) and the total lipids (Kates, 1982) until the beginning of the stationary phase of growth. *Chaetoceros sp.*, *Nannochloropsis sp.* and *Dunaliella sp.2* presented the maximum density in medium f/2 in 3 to 5 days. *Dunaliella sp.1* had a maximum density in medium MIII in 16 days. *N. oleabundans* and Col 2 didn't presented significant differences in both mediums. The strain with the lowest growth was *N. oleabundans* which reached the stationary phase in 15 and 17 days in medium f/2 and MIII, respectively. The highest rate of growth was presented in *Dunaliella sp.2* in medium f/2 (1.56) and the strain with the lowest growth rate *Nannochloropsis sp.* (0.2) in medium MIII. *Chaetoceros sp.* presented the highest content of proteins in medium MIII (65.6 mg/l) and Col 2 presented the lowest content in the same medium (18.7 mg/l), *N. oleabundans* had a high content of carbohydrates in medium MII (110 mg/l), *Chaetoceros sp.* only presented 4.88 mg/l in f/2. *Dunaliella sp.2* and *N. oleabundans* had the highest content of total lipids, 107 mg/l in medium f/2 and 100 mg/l in medium MIII respectively. Col 2 has the lowest content of carbohydrates in medium MII (37 mg/l).

En la actualidad se cuenta con 4 cepas obtenidas de otras instituciones y 4 cepas aisladas de la región, 2 de ellas en cultivos monoalgales y las otras aún están en proceso de purificación.

Se han estado probando 2 medios de cultivo, uno tradicional y otro a base de fertilizantes agrícolas, para observar el efecto en el crecimiento y en la composición bioquímica de las cepas. Es importante conocer la

composición bioquímica de las cepas bajo diferentes condiciones de cultivo, pues ello nos ayudará a seleccionar cuál podría ser el mejor alimento desde el punto de vista de la composición bioquímica para una especie en particular.

Otra de las funciones del cepario es el de facilitar las cepas de nuestra colección a las Organizaciones o instituciones que lo soliciten, apoyando de esta manera proyectos de acuicultura que se lleven a cabo en la región.

Cabe señalar que este es sólo el inicio del funcionamiento del cepario, pues aún se pueden incorporar más cepas a nuestra colección y son varios los estudios que podemos ir abarcando en el futuro para ampliar nuestro conocimiento en el campo de las microalgas.

OBJETIVOS

- Producción de alimento vivo en una fase inicial con microalgas y *Artemia*.
- Mantenimiento del cepario.
- Aislamiento de microalgas
- Determinación de la composición bioquímica y valor nutricional de microalgas como alimento de organismos zooplanctónicos cultivables

METODOLOGIA

ORIGEN DE LAS CEPAS DE MICROALGAS Y CONDICIONES DE CULTIVO

Cepas

Chaetoceros sp: proveniente de la colección de algas del Departamento de Acuicultura del CICESE en Ensenada, B.C.N. Clave CH-X-1. Aislada por M. L. Trujillo V. (1988) de la Bahía de Todos Santos, B. C. México.

Dunaliella sp1: proveniente de la colección de algas del Departamento de Acuicultura del CICESE en Ensenada, BCN. Clave DU-X-2. Aislada por : M. I. González L. Médano del Faro de San José, B.C.N. México.

Nannochloropsis sp: proveniente de la colección de algas del Departamento de Acuicultura del CICESE en Ensenada, B.C.N. Clave NN-X-1.

Neochloris oleoabundans proveniente de la colección de algas de la Universidad de Texas, Clave UTEX 1185. Aislada por Chantanachat y Bold (1962) de suelo árido.

- ◆ *Dunaliella* sp2: aislada por C. Band-Schmidt (1993) de la salina "La Colorada", Oax.
COL2: aislada por C. Band-Schmidt (1994) de la salina "La Colorada", Oax. Diatomea del suborden Biraphidinea, orden Pennales.

Aislamiento:

Se tomaron muestras de fitoplancton en la salina "La Colorada" filtrando 50L de agua a través de una red de 100 µm de luz de malla. Una alícuota de las muestras se inocularon inmediatamente en un medio de enriquecimiento f/2 (Guillard y Ryther, 1962), con el fin de mantener e incrementar el número de organismos. A las 72 horas se volvieron a inocular en el mismo medio de cultivo realizando diluciones sucesivas, al mismo tiempo se realizaron siembras en medio solidificando con agar al 1% para tratar de lograr el aislamiento por ambos métodos. Las condiciones iniciales de incubación fueron: temperaturas 21± 1°C, iluminación continua con lámparas de luz de día 75 W y agitación manual cada 24 horas.

Medios de cultivo

Se utilizó medio f/2 (Guillard y Ryther, 1962) que consiste en una base nitrogenada, sales, elementos, traza y vitaminas disueltas en agua de mar filtrada y otro medio no convencional basado en fertilizantes agrícolas, denominado MIII (Trujillo-Valle, 1992), su formulación se prescribe a continuación:

MEDIO MIII

Solución "A" : (NH ₄) ₂ HPO ₄	FERTILIZANTE	9.5 g/l
Solución "B" : (NH ₄) ₂ SO ₄	FERTILIZANTE	116.16 g/l
Solución "C" : Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	REACTIVO	22.89 g/l

Condiciones del cultivo

Temperatura	21 ± 1°C
Iluminación continua	Lámparas de luz de día de 75 W
Aeración constante	

CURVAS DE CRECIMIENTO

Las técnicas de cultivo fueron las tradicionales, utilizando cultivos terminales de volúmenes progresivamente crecientes hasta garrafas de 3 L de capacidad con 1.5 L de cultivo.

Para obtener las curvas de crecimiento de las microalgas en ambos medios de cultivo hasta la fase estacionaria, se tomaron muestras diarias en 3 experimentos independientes durante varios días. Se realizaron conteos directos en un hematocitómetro determinando el número de células por mililitro, se leyó la absorbancia a la longitud de onda de mayor



absorbancia para cada microalga en un espectrofotómetro Spectronic 21, Milton Roy Company.

Con los valores obtenidos de la densidad celular se determinó la tasa de crecimiento, el tiempo de generación y el número de generaciones aplicando las siguientes fórmulas:

Tasa de crecimiento (Ke):	$Ke = \ln (Co2/Co1)/(t1 - t2)$
Tiempo de generación (g):	$g = (\ln 2)/Ke$
Número de generaciones:	$n = t/g$

Donde:

t = Tiempo (Días)

Co1 = Concentración inicial biomasa (cel/ml)

Co2 = Concentración final de biomasa (cel/ml)

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE MICROALGAS

Cosecha

Para cosechar las células se centrifugaron 20 ml de cultivo a 2,000 rpm durante 20 minutos y se lavaron las células 2 veces con una solución isotónica, obteniendo con ello una pastilla celular.

La pastilla celular obtenida se resuspendió en 3 ml de una mezcla de cloroformo-metanol (1:2). Se agitaron vigorosamente, se taparon las muestras y se dejaron en refrigeración durante 24 horas. Posteriormente se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos separando el paquete celular de la mezcla cloroformo-metanol. El paquete celular se lavó 3 veces con la misma mezcla, agiténdola cada vez.

Proteínas y carbohidratos

El paquete celular que se obtuvo se utilizó para determinar el contenido de carbohidratos y proteínas. Para ello se resuspendió el residuo en 1 ml de agua destilada, se agitó vigorosamente y se separó en 2 alícuotas de 0.5 ml. A una de estas partes se le agregaron 3 ml de HCl (2N) y a la otra 3 ml de NaOH (1N), se taparon las muestras y se colocaron en un baño a ebullición a 100 °C durante 1 hora (Kochert, 1978). El hidrolizado ácido se utilizó para determinar el contenido de carbohidratos (Yemm y Wills, 1954) y el hidrolizado básico para determinar el contenido de proteínas (Lowry et al. 1951). Antes de realizar las determinaciones se neutralizaron ambas fracciones.

Lípidos

A la fase cloroformo-metanol se le añadió agua destilada para romper el equilibrio cloroformo-metanol, obtenido con ello 2 fases: la cloroformica

conteniendo los lípidos, y la fase metanol-agua o fase acuosa.

Lípidos totales

Para obtener el contenido de lípidos totales, se pasó la fase cloroformica por un papel filtro Whatman 1 de 5.5 cm de diámetro con sulfato de sodio anhidro para eliminar por completo el agua. La muestra se concentró en un rotavapor y se pasó a unos viales previamente lavados con agua destilada, etanol y cloroformo, secados en una estufa a 60 °C y por diferencia de peso se obtuvo el contenido de lípidos totales (Kates, 1982).

RESULTADOS

CURVAS DE CRECIMIENTO

Chaetoceros sp.

con aereacion; 1.5 L

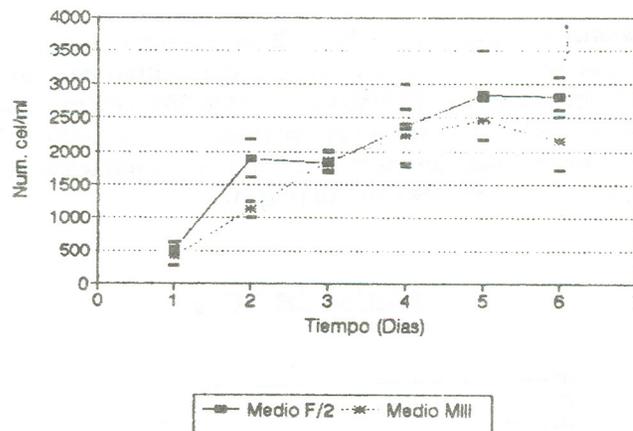


Fig. 1 : Cinética de la concentración celular de *Chaetoceros* sp. cultivada en medio F/2 y medio Mill. Valores medios y desviación estándar.

Chaetoceros sp: En la figura 1 y 2 se muestra el crecimiento de *Chaetoceros* sp. En medio de f/2 y medio MIII expresado en cel/ml y en la absorbancia registrada a 675 nm. La densidad celular máxima en ambos medios de cultivo se alcanzan al quinto día de cultivo con un valor de 2,662,5000 ± 409,260 cel/ml en medio F/2 y 2,475,00 ± 288,300 cel/ml en medio MIII. Después del quinto día se observa una disminución en la densidad celular en medio MIII, en medio F/2 la densidad es prácticamente la misma.

La densidad óptica de *Chaetoceros* sp. En medio MIII es mucho más baja que en medio f/2 (Fig. 2), al quinto día del cultivo se observa una absorbancia máxima de 0.217. En medio f/2 la absorbancia máxima se alcanza al séptimo día del cultivo con un valor de 0.284.



Chaetoceros sp.

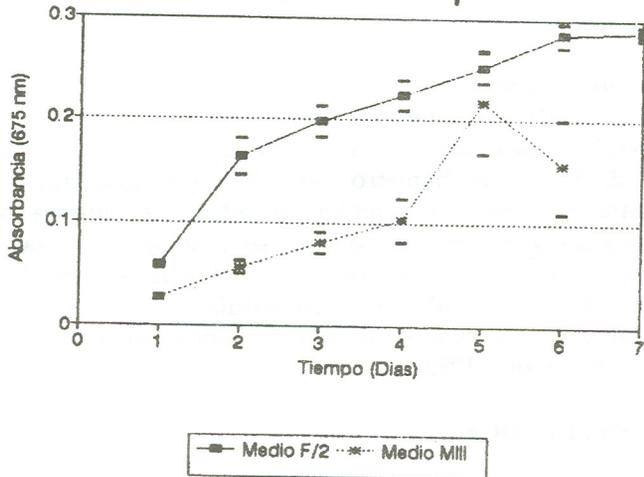


Fig.2 : Cinética de la densidad óptica registrada a 675 nm de *Chaetoceros* sp. cultivada en medio F/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.

Dunaliella sp2: En medio f/2 la máxima densidad celular se alcanza al séptimo día del cultivo con una concentración de $22,600,000 \pm 8418,530$ cel./ml. En medio MIII la densidad máxima se alcanza al dieciseisavo día del cultivo con una concentración de $23,500,000 \pm 3,889,090$ cel./ml (Fig. 3).

Dunaliella sp 1

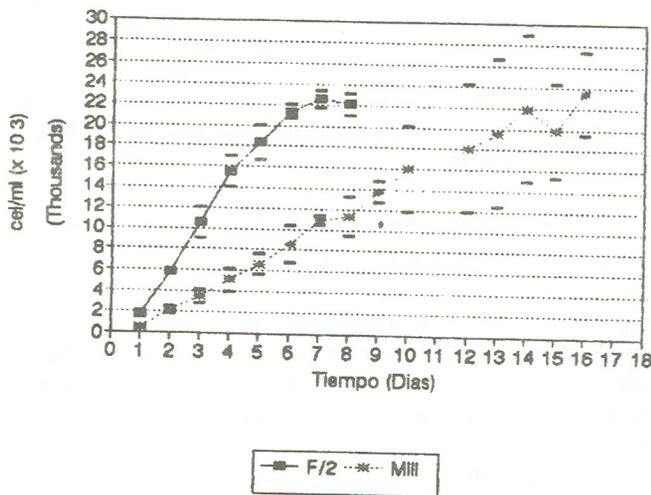


Fig.3 : Cinética de la concentración celular de *Dunaliella* sp. cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.

La absorbancia registrada de *Dunaliella* sp1. a 683 nm medio f/2 es mayor que en medio MIII, registrándose el valor máximo al octavo día del cultivo en medio f/2 con un valor de 0.408 y en MIII al dieciseisavo día del cultivo con un valor de 0.38 (Fig. 4).

Dunaliella sp 1

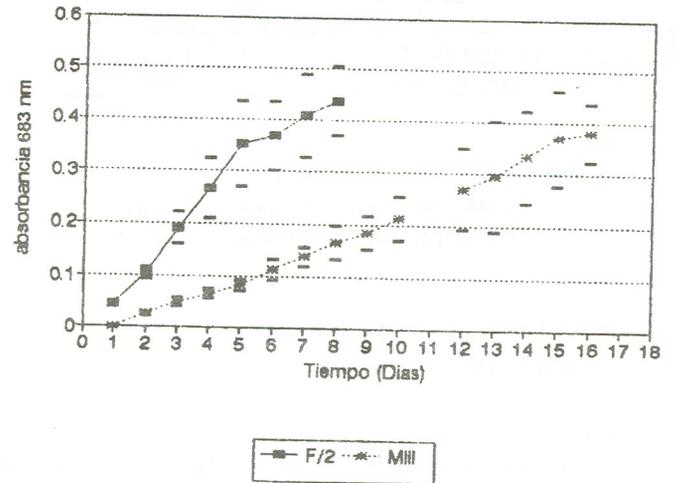


Fig.4: Cinética de la densidad óptica registrada a 683 nm de *Dunaliella* sp1. cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.

Nannochloropsis sp: En figura 5 se muestra el crecimiento de *Nannochloropsis* sp., en los dos medios de cultivo. En medio f/2 la densidad alcanzada es mayor que en medio MIII y se otorga al quinto día del cultivo, la concentración máxima es de $44,925,000 \pm 3,500,180$ cel./ml. En medio MIII la mayor concentración se logra al décimo día del cultivo y es de $12,150,000 \pm 1,279,790$ cel./ml.

Nannochloropsis sp

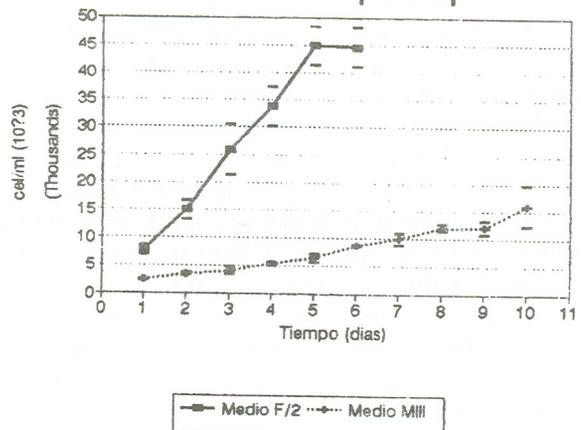


Fig.5: Cinética de la concentración celular de *Nannochloropsis* sp. cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.



La densidad óptica registrada a 675 nm también es mayor en f/2 que en medio MIII, alcanzando en el primer caso la lectura mayor al sexto día del cultivo con un valor de 0.485. En medio MIII la absorbancia máxima se presenta al décimo día del cultivo con un valor de 0.156 (Fig. 6).

Nannochloropsis sp

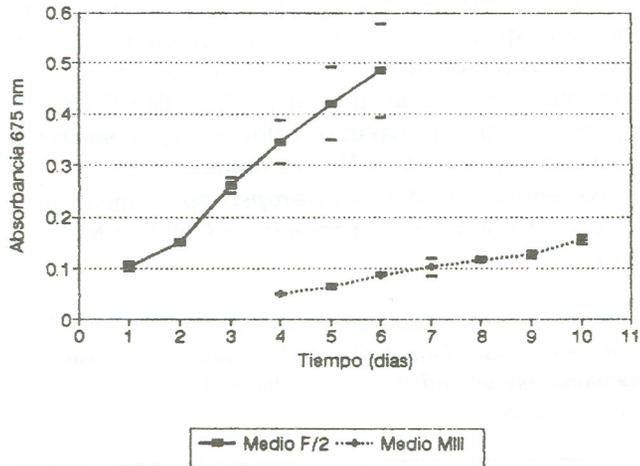


Fig.6: Cinética de la densidad óptica registrada a 675 nm de *Nannochloropsis sp.* cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.

Neochloris oleabundans: El crecimiento de *Neochloris oleabundans* en medio MIII y f/2 se muestra en la figura 7, donde se observa un incremento de la concentración celular hasta el día 17 en medio MIII donde se presenta la densidad máxima con un valor de $6,670,000 \pm 1,177,000$ cel/ml, en medio f/2 la densidad máxima se alcanza al quinceavo día con una concentración de $6,675,000 \pm 2,085,000$ cel/ml.

N. oleabundans

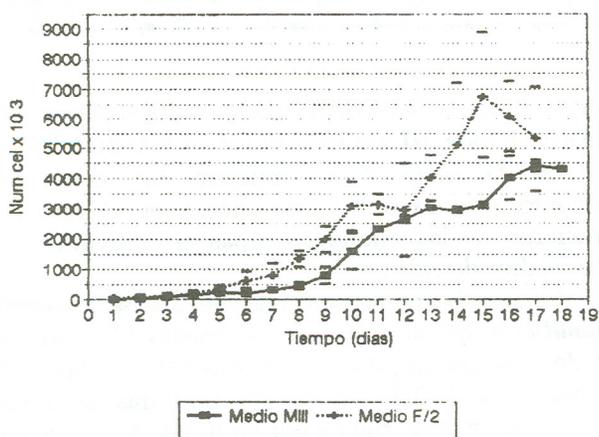


Fig. 7 : Cinética de la concentración celular de *Neochloris oleabundans sp.* cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.

La absorbancia registrada a 675 nm muestra, en la figura 8, el valor máximo. En medio MIII se presenta al diecisieteavo día con un valor de 0.196 y en medio F/2 en el día 16 con un valor de 0.14.

N. oleabundans

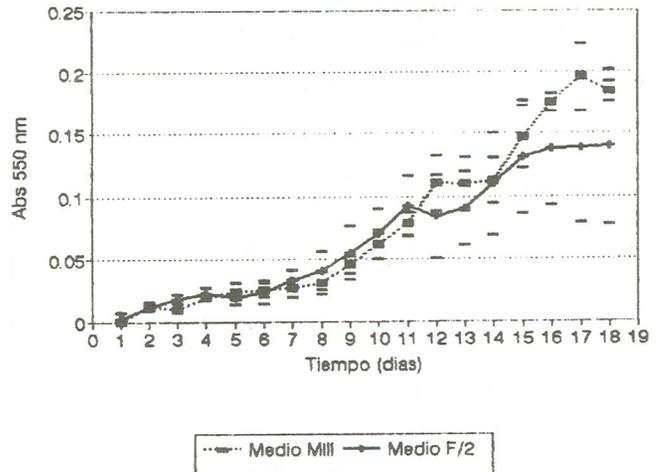


Fig. 8: Cinética de la densidad óptica registrada a 675 nm de *Neochloris oleabundans* cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.

Dunaliella sp2: En medio f/2 la densidad celular mayor se alcanza al tercer día del cultivo con una concentración de $4,550,000 \pm 10,551,410$ cel/ml después del cual ocurre una disminución importante en la concentración celular. En medio MIII la densidad máxima se alcanza al quinto día del cultivo con un valor de $2,197,200 \pm 597,550$ cel/ml (Fig. 9).

Dunaliella sp2

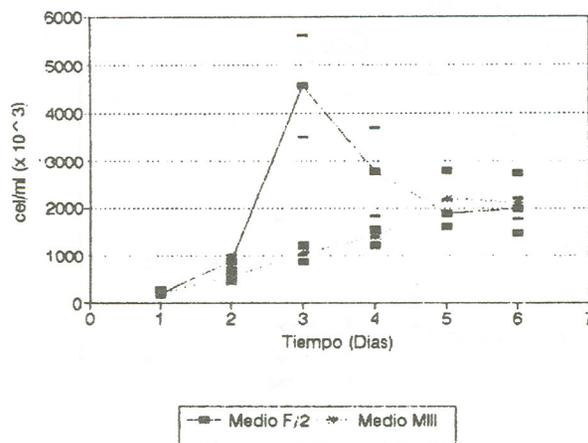


Fig. 9 : Cinética de la concentración celular de *Dunaliella sp2*. cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores medios y desviación estándar.



La absorbancia registrada a 680 nm en *Dunaliella sp2* presenta un incremento similar en ambos medio de cultivo, pero con valores más bajos en medio MIII. En ambos medios el valor máximo se alcanza al sexto día con un valor de 0.146 nm en medio f/2 y de 0.135 ± 0.03 nm en medio MIII (Fig. 10)

Dunaliella sp2

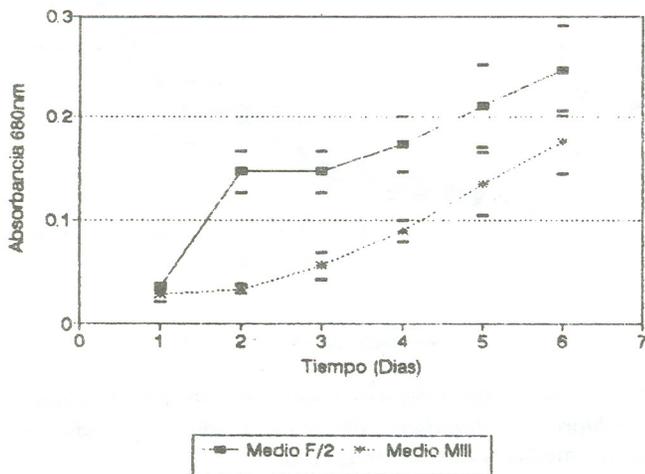


Fig. 10: Cinética de la densidad óptica registrada a 680 nm de *Dunaliella sp2* cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores y desviación estándar.

Col 2: La curva de crecimiento de Col 2 en ambos medios de cultivo expresado en cel/ml se muestra en la figura 11. En medio F/2 la máxima densidad celular se alcanzó al tercer día del cultivo con un valor de $456,250 \pm 97,250$ cel/ml y en medio MIII la densidad máxima se alcanza al cuarto día del cultivo con un valor de $470,000 \pm 149$ cel/ml.

Col 2

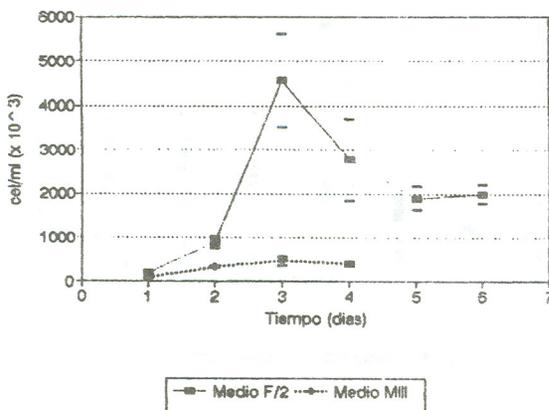


Fig. 11: Cinética de la concentración celular de Col 2 cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores y desviación estándar.

La absorbancia a 680 nm se muestra en la figura 12, el valor máximo en medio f/2 se registró al sexto día del cultivo con un valor de 0.054 y en medio MIII al cuarto día del cultivo con un valor de 0.05.

En la tabla 1, se muestra la densidad y absorbancia máxima alcanzada en ambos medios de cultivo. La cepa que alcanzó una mayor densidad fue *Nannochloropsis sp* en medio f/2, seguido por *Dunaliella sp* en ambos medio de cultivo. Por otro lado la cepa con menor densidad fue Col 2 en medio MIII alcanzando solamente una densidad de $470,833 \pm 149,129$ cel/ml. El máximo valor en la absorbancia registrada se presentó en *N. oleoabundans* con un valor de 0.68 seguido por *Nannochloropsis sp* en medio F/2. La menor absorbancia se presentó en Col 2 en MIII con un valor de 0.05.

Tabla 1: Densidad y absorbancia máxima adquirida en cultivos *Chaetoceros sp*, *Dunaliella sp1*, *Nannochloropsis sp*, *Neochloris oleoabundans*, *Dunaliella sp2* y Col 2 en dos medios de cultivo.

Cepa	Medio de Cultivo	Densidad Máxima (cel/ml x 10 ³)	Absorbancia	Tiempo (días)
<i>Chaetoceros sp</i>	F/2	2,662 + 409	0.284 + 0.012	5
<i>Chaetoceros sp</i>	MIII	2,475 + 288	0.217 + 0.051	5
<i>Dunaliella sp1</i>	F/2	22,6000 + 848	0.408 + 0.081	7
<i>Dunaliella sp1</i>	MIII	23,500 + 3,889	0.38 + 0.057	16
<i>Nannochloropsis sp</i>	F/2	44,925 + 3,500	0.42 + 0.07	5
<i>Nannochloropsis sp</i>	MIII	12,150 + 1,279	0.127 + 0.007	10
<i>Neochloris oleoabundans</i>	F/2	6,775 + 2,085	0.14 + 0.06	15
<i>Neochloris oleoabundans</i>	MIII	6,670 + 1,177	0.196 + 0.028	17
<i>Dunaliella sp2</i>	F/2	4,550 + 1,051	0.146 + 0.02	3
<i>Dunaliella sp2</i>	MIII	2,197 + 597	0.135 + 0.03	5
Col 2	F/2	456.25 + 97.25	0.054 + 0.005	3
Col 2	MIII	470 + 149	0.05 + 0.005	5

TASAS DE CRECIMIENTO, TIEMPO DE GENERACION Y NUMERO DE GENERACIONES

En la tabla 2 se muestra las tasas de crecimiento, el tiempo de generación y el número de generaciones de las diferentes cepas al cultivarlas en ambos medios de cultivo.

La tasa de crecimiento más elevada se presentó en *Dunaliella sp2* al cultivarla en medio f/2 con un valor de 1.56 cel/ml/día. En medio MIII la tasa de crecimiento fue de 0.57 cel/ml/día. En todas las cepas la tasa de crecimiento fue menor en medio MIII que en medio F/2, con excepción de *Chaetoceros sp*, donde se presentó el comportamiento inverso, en MIII la tasa de crecimiento fue de 0.44 cel/ml/día y en F/2 de 0.42 cel/ml/día.



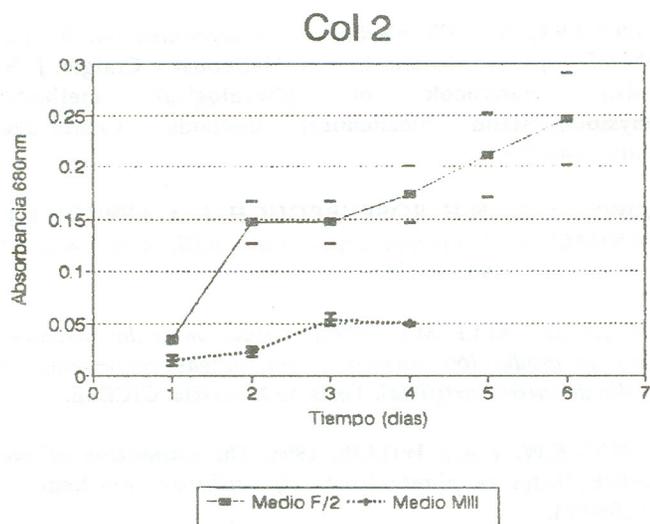


Fig. 12: Cinética de la densidad óptica registrada a 678 nm de Col 2 cultivada en medio f/2 y medio MIII. Valores y desviación estándar.

Tabla 2: Tasa de crecimiento tiempo de generación y número de generaciones de *Chaetoceros sp*, *Dunaliella sp1*, *Nannochloropsis sp*, *Neochloris oleoabundans*, *Dunaliella sp2* y Col 2 en dos medios de cultivo.

Cepa y medio de cultivo	Tasa de crecimiento (cel/ml/día)	Tiempo de generación (día ⁻¹)	Número de generaciones por día	Tiempo (días)
<i>Chaetoceros sp</i> f/2	0.42	1.65	2.42	5
<i>Chaetoceros sp</i> MIII	0.44	1.57	2.54	5
<i>Dunaliella sp</i> f/2	0.74	0.94	6.41	6
<i>Dunaliella sp</i> MIII	0.23	2.97	5.39	17
<i>Nannochloropsis sp</i> f/2	0.44	1.57	2.53	5
<i>Nannochloropsis sp</i> MIII	0.2	3.38	2.66	10
<i>Neochloris oleoabundans</i> f/2	0.33	2.07	6.76	15
<i>Neochloris oleoabundans</i> MIII	0.24	2.84	6.69	20
<i>Isochrysis sp</i> F/2	1.56	0.44	4.55	3
<i>Isochrysis sp</i> MIII	0.57	1.21	3.28	5
Col 2 F/2	0.83	0.84	2.38	3
Col 2 MIII	0.28	2.48	1.61	5

El tiempo de generación fue mayor en medio MIII que en medio f/2, con excepción de *Chaetoceros sp*, ésta cepa presentó un tiempo de generación en medio MIII de 1.57 día⁻¹ y en f/2 de 1.65 día⁻¹. El tiempo de generación mayor se presentó en *Nannochloropsis sp* en MIII con un valor de 3.38 día⁻¹ y el más bajo en *Dunaliella sp2* en medio f/2 con un valor de 0.44 día⁻¹.

Tabla 3: Contenido de carbohidratos, proteínas y lípidos de *Chaetoceros sp*, *Dunaliella sp*, *Nannochloropsis sp*, *Neochloris oleoabundans*, *Isochrysis sp* y Col 2 en dos medios de cultivo.

Cepa	Medio de cultivo	Carbohidratos (mg/l)	Proteínas (mg/l)	Lípidos (mg/l)
<i>Chaetoceros sp</i>	F/2	4.88 ± 0.22	25.49 ± 3.38	48.33 ± 12.58
<i>Chaetoceros sp</i>	MIII	6.2 ± 2.38	65.54 ± 1.53	80 ± 10
<i>Nannochloropsis sp</i>	F/2	27.52	22.89 ± 2.39	42.5 ± 24.75
<i>Nannochloropsis sp</i>	MIII	7.68 ± 1.77	21.45 ± 4.87	40 ± 0
<i>Neochloris oleoabundans</i>	F/2	21.46 ± 6.97	36.08 ± 16.18	40 ± 8.66
<i>Neochloris oleoabundans</i>	MIII	110.02 ± 6.54	50.69 ± 1.46	100 ± 6.67
<i>Dunaliella sp2</i>	F/2	28.48	21.99 ± 3.8	107 ± 3.54
<i>Dunaliella sp2</i>	MIII	23.88 ± 7.52	42.91 ± 9.14	60
Col 2	F/2	12.08 ± 0.33	25.42 ± 2.63	42.5 ± 3.54
Col 2	MIII	33.41 ± 3.7	18.66 ± 6.24	36.67 ± 12.58

El número de generaciones por día fue menor en medio MIII, con excepción de *Chaetoceros sp*. y *Nannochloropsis sp*. El mayor número de generaciones/día se presentó en *N. oleoabundans* en medio f/2 con 6.76 generaciones/día y el más bajo en Col 2 en medio MIII con 1.61 generaciones/día.

COMPOSICION BIOQUIMICA

CARBOHIDRATOS: *N. oleoabundans* en medio MIII presentó el mayor contenido de carbohidratos siendo de 110.02, seguido de Col 2 en MIII con una concentración de 33.41 ± 3.7 mg/l. (Tabla 3).

PROTEINAS: El contenido de proteínas incremento en MIII en *Dunaliella sp2* y en *Chaetoceros sp*. *Nannochloropsis sp*, presentó un contenido similar en ambos medios de cultivo. *Chaetoceros sp.*, fue la cepa con mayor contenido de proteínas con una concentración de 65.54 Las concentraciones más bajas de proteínas se encontraron en *Nannochloropsis sp*, y en *Dunaliella sp2* en medio F/2.



LIPIDOS: El mayor contenido de lípidos se encontró en *Dunaliella sp2*, cultivada en medio F/2 con 167 ± 5.54 mg/l seguido por *N. oleoabundans* en medio MIII con 100 mg/l. El contenido más bajo de lípidos se presentó en Col 2 en medio MIII con una concentración de 36.67 mg/l (Tabla 3).

LITERATURA CITADA

GUILLARD, R.R.L. Y RITHER, U.H. 1962. *Studies on marine Planktonic diatoms Cyclotella nana Hustedt and Detonula confervaceae (Cleve)*. Gran. Can. J. Microb. 8:229-239.

KATES, M. 1982 *Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids*. T.S. Work y E. Work (eds.) North Holland Publishing Company. Holanda.

◆ KOCHERT, G. 1978. *Carbohydrate determination by the phenol-sulphuric method*. In: J.A. Hellebust y Craigie, J. S. (eds.). *Handbook of phycological methods: physiological and biochemical methods*. Cambridge University Press.

LOWRY, O.H., N.H. ROSENBOUGH, F. A. LEWIS Y R.J. RANDALL, 1951. *Protein measurement with phenol reagent* J. Biol. Chem. 193:265-275.

TRUJILLO-VALLE, M.L. (1992) *Evaluación de dos sistemas para la producción masiva de microalgas empleando un medio de cultivo artificial*. Tesis de Maestría. CICESE.

YEMM, E.W. y A.J. WILLIS, 1954. *The estimation of the carbohydrates in plant extracts by Anthrone*. Biochem. J. 57:508-514.

