UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

## Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera

# EFECTO DE DIETAS CON TRES MICROALGAS BENTÓNICAS EN EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA POST LARVAL DEL *Loxechinus albus*, ERIZO VERDE

## TESIS

## PRESENTADA POR:

**CARMEN ROSA MARGARITA LIZA SAL Y ROSAS**

## Para optar el Título Profesional de:

**INGENIERO PESQUERO**

**MOQUEGUA-PERÚ**

**2015**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

# ACTA DE SUSTENTACIÓN

EL jurado suscribiente, ha calificado el trabajo de Tesis:

TITULADO EFECTO DE DIETAS CON TRES MICROALGAS BENTÓNICAS EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA POST LARVAL DEL Loxechinos albus ERIZO VERDE

PRESIDENTE M.Sc. Sheela Méndez Ancca

MIEMBROS Ing. Ehrlich Yam Llasaca Calizaya

Ing. Carlos Roberto Collao flores

ASESOR Ing. Alejandro Marcelo Gonzáles Vargas

PRESENTADO POR EL (LA) BACHILLER

CARMEN ROSA MARGARITA LIZA SAL Y ROSAS

Después de las preguntas respectivas y habiendo el jurado tomado el tiempo para la deliberación de la misma.

SE DECLARA: APROBADO (APROBADO/DESAPROBADO)

por UNANIMIDAD (UNANIMIDAD/MAYORÍA), con el calificativo de SOBRESALIENTE (EXCELENTE/MUY BUENO/BUENO/REGULAR/DEFICIENTE), equivalente a DIECISIETE (17), quedando expedito para que se le confiera el Título Profesional de:

**INGENIERO PESQUERO**

En fe de ello, queda asentada la presente acta.

Ilo, a los 17 días de DICIEMBRE del 2015

Presidente de Jurado

1er Miembro

2do Miembro

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
INGENIERÍA PESQUERA
SEDE ILO

ING. EHRLICH Y. LLASACA CALIZAYA
C.I.P. 92994

## DEDICATORIA

*A Dios, que me llenó de empeño y fortaleza,*

*a mis padres Rosa y José, que con su cariño y amor*

*son el motivo de mi superación.*

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto del Mar del Perú Sede Ilo y al Ing. Ygor Sanz por las facilidades brindadas para realizar esta tesis.

A la Blga. Sheyla Zevallos Feria por su asesoramiento, disponibilidad para compartir desinteresadamente sus amplios conocimientos e innumerables revisiones de esta tesis.

Al Ing. Alejandro Gonzáles Vargas por las constantes sugerencias y asesoramiento durante la ejecución del informe de tesis.

Al personal del Laboratorio de Investigación de Moluscos: el Ing. Roger Ayerbe, los técnicos Julio Choque y Rusbel Mamani, y a mis compañeros Fernando Lope y Kattyahna Vega, por su apoyo durante la ejecución de esta tesis.

A mis compañeros del Área de Investigación de Recursos Bentónicos, por su comprensión, tolerancia y constantes bromas para culminar esta tesis.

Al Dr. Alberto Cáceres Huambo por su apoyo estadístico en la realización de este informe.

A todos los profesores de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, que con sus enseñanzas contribuyeron en mi formación profesional.

## RESUMEN

El presente trabajo desarrolló dietas monoespecíficas con microalgas bentónicas que permitan mejorar la tasa de crecimiento y supervivencia en la etapa post larval del *Loxechinus albus,* erizo verde*.* El experimento realizado evaluó el efecto del crecimiento y supervivencia de post larvas de *L. albus,* utilizando dietas monoespecíficas de microalgas bentónicas: *Tetraselmis striata, Phaeodactylum tricornutum, Navicula salinicola* y *Chlorella ellipsoidea.*

Los resultados se analizaron mediante un ANDEVA, demostrando que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), y con la Prueba de Tukey se mostró que el mejor crecimiento se obtuvo con *Navicula salinicola* (917.33 µm), y los mejores resultados de supervivencia se obtuvieron con *Phaeodactylum tricornutum* (37.16%), al culminar los 30 días del experimento. Estos resultados evidencian que una dieta mixta de diatomeas bentónicas mejora el crecimiento y supervivencia post larval del *Loxechinus albus.*



**Palabras Claves:** *Loxechinus albus*, acuicultura, microalgas, post larvas, crecimiento, supervivencia.

## ABSTRACT

The present study developed monoespecific diets with benthic microalgae to improve the growth and survival in the post larvae stage of *Loxechinus albus,* green sea urchin. The experiment evaluated the effect of post larvae growth and survival of *L. albus* obtained with monoespecific diets benthic microalgae: *Testraselmis striata*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Navicula salinicola* and *Chlorella ellipsoidea*.

The results were analyzed by ANOVA , showing that there are significant differences between treatments ($p < 0.05$), and the Tukey test showed the best growth was obtained with *Navicula salinicola* (917.33 µm) , with and the best survival results were obtained with *Phaeodactylum tricornutum* (37.16%), on completion of 30 days of the experiment. These results show that a mixed diet improves benthic diatoms post larvae growth and survival of *Loxechinus albus.*



**Key words:** *Loxechinus albus,* aquaculture, microalgae, post larvae, growth, survival.

**CONTENIDO**

**Pág**

PÁGINA DEL JURADO ..... ii

DEDICATORIA ..... iii

AGRADECIMIENTOS..... iv

RESUMEN..... v

ABSTRACT ..... vi

ÍNDICE ..... vii

ÍNDICE DE FIGURAS..... xiii

ÍNDICE DE TABLAS..... xv

INTRODUCCIÓN..... 1

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA ..... 2

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA ..... 2

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA ..... 2

1.2.1 Interrogante General ..... 2
1.2.2 Interrogantes Secundarias ..... 3
1.3 JUSTIFICACIÓN..... 3
1.4 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS ..... 4
1.4.1 Objetivo General ..... 4
1.4.2 Objetivos Específicos ..... 4
1.5 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS ..... 5
1.5.1 Hipótesis General ..... 5
1.5.2 Hipótesis Específicas ..... 5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO ..... 7
2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO ..... 7
2.1.1 Descripción de *Loxechinus albus* ..... 7
2.1.2 Sistemática ..... 9
2.1.3 Distribución Geográfica ..... 9
2.1.4 Ciclo de Vida ..... 10
2.1.5 Desembarques de *Loxechinus albus* ..... 11
2.2 BASES TEÓRICAS ..... 12
2.2.1 Trabajos realizados en cultivo de erizo ..... 13
2.2.2 Trabajos realizados con *Loxechinus albus*..... 13
2.2.3 Trabajos realizados con microalgas bentónicas ..... 14

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO ..... 15

3.1 TIPO Y DISEÑO ..... 15

3.1.1 Tipo de Investigación ..... 15

3.1.2 Diseño de Investigación ..... 15

3.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN ..... 15

3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES ..... 15

3.3.1 Variable Independiente ..... 15

3.3.2 Variable Dependiente ..... 15

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA ..... 16

3.4.1 Población ..... 16

3.4.2 Muestra ..... 16

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS ..... 16

3.5.1 Diseño Experimental ..... 16

3.6 MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS ..... 18

3.6.1 Caracterización de microalgas bentónicas suministradas en la dieta post larvaria de *Loxechinus albus* ..... 18

3.6.1.1 Identificación de microalgas bentónicas ..... 18

3.6.1.2 Perfil bioquímico de microalgas bentónicas ..... 19

3.6.2 Desarrollo del cultivo de microalgas bentónicas ..... 19

3.6.2.1 Cultivo inicial ..... 19

3.6.2.2 Cultivo intermedio ..... 21

3.6.2.3 Determinación de la curva de crecimientos de microalgas ..... 22

3.6.3 Implementación de cultivo post larvario de *Loxechinus albus* ..... 25

3.6.3.1 Set de fijación post larval ..... 25

3.6.3.2 Cultivo post larvario de *Loxechinus albus* ..... 25

3.6.3.3 Manejo del cultivo post larvario de *Loxechinus albus* ..... 26

3.6.4 Determinación de crecimiento post larval de *Loxechinus albus* ..... 28

3.6.5 Determinación de supervivencia post larval de *Loxechinus albus* .. 29

3.6.6 Análisis estadístico de datos ..... 30

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... 31

4.1 RESULTADOS ..... 31

4.1.1 Caracterización de microalgas bentónicas suministradas en la dieta post larvaria de *Loxechinus albus* ..... 31

4.1.1.1 Descripción de microalgas bentónicas ..... 31

a. Control: *Phaeodactylum tricornutum* ..... 31

b. Especie 1: *Tetraselmis striata* ..... 32

c. Especie 2: *Chlorella ellipsoidea* ..... 34

d. Especie 3: *Navicula salinicola* ..... 35

4.1.1.2 Perfil bioquímico ..... 36

4.1.2 Desarrollo de cultivo de microalgas bentónicas ..... 37

4.1.2.1 Crecimiento de microalgas bentónicas ..... 37

4.1.2.2 Microorganismos asociados ..... 38

4.1.3 Cultivo post larvario de *Loxechinus albus* ..... 39

4.1.3.1 Parámetros físico-químicos ..... 39

a. Temperatura ..... 39

b. Oxígeno disuelto ..... 40

c. Salinidad ..... 41

4.1.4 Crecimiento post larval de *Loxechinus albus* ..... 43

4.1.4.1 Tasa de crecimiento diaria ..... 43

4.1.4.2 Crecimiento post larval de *L. albus* ..... 44

4.1.5 Supervivencia post larval de *Loxechinus albus* ..... 45

4.2 DISCUSIÓN ..... 46

4.2.1 Caracterización de microalgas bentónicas ..... 46

4.2.2 Desarrollo de técnicas de cultivo de microalgas bentónicas ..... 47

4.2.3 Implementación del cultivo post larvario de *Loxechinus albus* ..... 48

4.2.4 Crecimiento de post larvas de *Loxechinus albus* ..... 49

4.2.5 Supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus* ..... 49

CONCLUSIONES ..... 51

RECOMENDACIONES ..... 53

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 54

ANEXOS ..... 62

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Pág.**


Figura 1 Fotografía de *Loxechinus albus* ……. 8

Figura 2 Ciclo de vida de *Loxechinus albus* …….. 11

Figura 3 Desembarques nacionales de *Loxechinus albus* ..... 12

Figura 4 Diseño experimental…….. 17

Figura 5 Equipo NIR con muestra de microalga ……..…. 20

Figura 6 Cultivo inicial de biopelícula microalgal……..…. 21

Figura 7 Bandejas de cultivo intermedio ……..... 22

Figura 8 Recuento de microalgas en cámara Neubauer …… 23

Figura 9 Set de fijación post larval …….. 25

Figura 10 Muestreo de cultivo ……... 27

Figura 11 Medición de post larva de *L. albus* ……..... 28

Figura 12 Fotografía de *Phaeodactylum tricornutum* …… 32

Figura 13 Fotografía de *Tetraselmis striata* …… 33

Figura 14 Fotografía de *Chlorella ellipsoidea*…….. 35

Figura 15 Fotografía de *Navicula salinicola* ……. 36

Figura 16 Comparación de curvas de crecimiento de microalgas bentónicas …… 38

Figura 17 Microorganismos presentes en cultivo (Euplotes y Copépodo)…… 39

Figura 18 Tasa de crecimiento diario de post larvas de *Loxechinus albus*…….. 43

## ÍNDICE DE TABLAS

**Pág.**


Tabla 1 Valor nutricional de microalgas bentónicas…… 37

Tabla 2 Prueba de Tukey de valores de temperatura……. 40

Tabla 3 Valores promedios de oxígeno disuelto……... 41

Tabla 4 Valores promedios de salinidad……. 42

Tabla 5 Prueba de Tukey de Valores de Salinidad……... 42

Tabla 6 ANDEVA de crecimiento postlarval con microalgas bentónicas……. 44

Tabla 7 Prueba de Tukey de crecimiento postlarval……. 45

Tabla 8 Supervivencia post larval entre dietas suministradas…. 45

# INTRODUCCIÓN

La acuicultura actualmente es considerada como fuente de producción de peces, moluscos y equinodermos en el mundo, debido fundamentalmente al agotamiento de los bancos naturales por sobrepesca y/o cambios climáticos. Por otro lado, la demanda insatisfecha del mercado internacional convierte al cultivo de invertebrados en una actividad económica innovadora, de alta rentabilidad, capaz de generar empleo y riqueza en las comunidades costeras.

En el presente trabajo se desarrollaron dietas con microalgas bentónicas monoespecíficas para ser suministradas en la etapa post larval del *Loxechinus albus,* erizo verde; también se analizó el valor nutricional de éstas microalgas, su comportamiento hasta la fase exponencial y finalmente se detectó el efecto causado en el crecimiento y supervivencia de las post larvas.

La información obtenida, es una importante contribución a la tecnología del cultivo de erizo verde, que permitirá optimizar costos y tiempo, al conocer el alimento más adecuado en la etapa post larval.

# CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

*Loxechinus albus* es un recurso económicamente atractivo para el mercado, lo cual ha llevado a un agotamiento y deterioro de los diferentes bancos naturales, debido a su desmesurada explotación. Frente a la realidad pesquera de este recurso, es que se prioriza la necesidad de investigación en desarrollar técnicas acuícolas en medio controlado.

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.2.1 Interrogante general

¿Qué efecto producen las dietas de diferentes microalgas bentónicas en la tasa de crecimiento y supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus*?

### 1.2.2 Interrogantes secundarias

- ¿Qué efecto producen las dietas de diferentes microalgas bentónicas en la tasa de crecimiento de post larvas del *Loxechinus albus*?

- ¿Qué efecto producen las dietas de diferentes microalgas bentónicas en la tasa supervivencia de post larvas del *Loxechinus albus*?

## 1.3 JUSTIFICACIÓN

Actualmente, el cultivo de erizo verde ha sido muy poco desarrollado en nuestro país, y aunque existe tecnología al respecto en otros países, se ha prestado mayor atención a estudios sobre el ciclo y acondicionamiento reproductivo, dietas en la etapa larval, y dietas artificiales que permitan mejorar la coloración de las gónadas, tratamiento de inducción al desove, cultivos a diferentes temperaturas; siendo escasos los estudios existentes sobre la alimentación en la etapa post larval, lo cual permitiría superar la ausencia de información sobre diversos aspectos de la biología trófica de este recurso y contribuir a mejorar la tecnología de cultivo.

## 1.4 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS

### 1.4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes dietas de microalgas bentónicas en el crecimiento y supervivencia post larval de *Loxechinus albus.*

### 1.4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las microalgas bentónicas suministradas en la dieta post larvaria de *Loxechinus albus.*
- Desarrollar técnicas de cultivo de microalgas bentónicas utilizadas en la dieta post larvaria de *Loxechinus albus.*
- Implementar el cultivo post larvario de *Loxechinus albus.*
- Determinar el crecimiento de post larvas alimentadas con microalgas bentónicas.
- Determinar la supervivencia de post larvas alimentadas con microalgas bentónicas.

## 1.5 FORMULACION DE HIPÓTESIS

### 1.5.1 Hipótesis general

La alimentación con diferentes microalgas bentónicas causa efecto en el crecimiento y supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus.*

### 1.5.2 Hipótesis específicas

**$H_0$:** No existe efecto de la alimentación con diferentes dietas de microalgas bentónicas en la tasa de crecimiento de post larvas de *Loxechinus albus.*

**$H_i$:** Existe efecto de la alimentación con diferentes dietas de microalgas bentónicas en la tasa de crecimiento de post larvas de *Loxechinus albus.*

**$H_0$:** No existe efecto de la alimentación con diferentes dietas de microalgas bentónicas en la tasa de supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus.*

**$H_i$:** Existe efecto de la alimentación con diferentes dietas de microalgas bentónicas en la tasa de supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus*.

# CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

## 2.1 Antecedentes del estudio

### 2.1.1 Descripción de *Loxechinus albus*

*Loxechinus albus* es un equinodermo que se caracteriza por poseer una caparazón mediana a grande, de color verde, ocasionalmente con tonalidades rojizas o moradas en ambulacros e interambulacros, placas ambulacrales entre 6 y 11 geminadas, cada una con un tubérculo primario, sistema apical dicíclico; numerosas placas periproctales más bien grandes, ano central, espinas primarias más bien cortas en adultos, cónicas; espinas secundarias y miliares numerosas, pedicelarios globíferos con un cuello entre cabezuela y pedúnculo o tallo, con valvas grandes, con número variable de dientes laterales, entre uno y cuatro a cada lado (Larraín, 1975; Bustos, 2001).

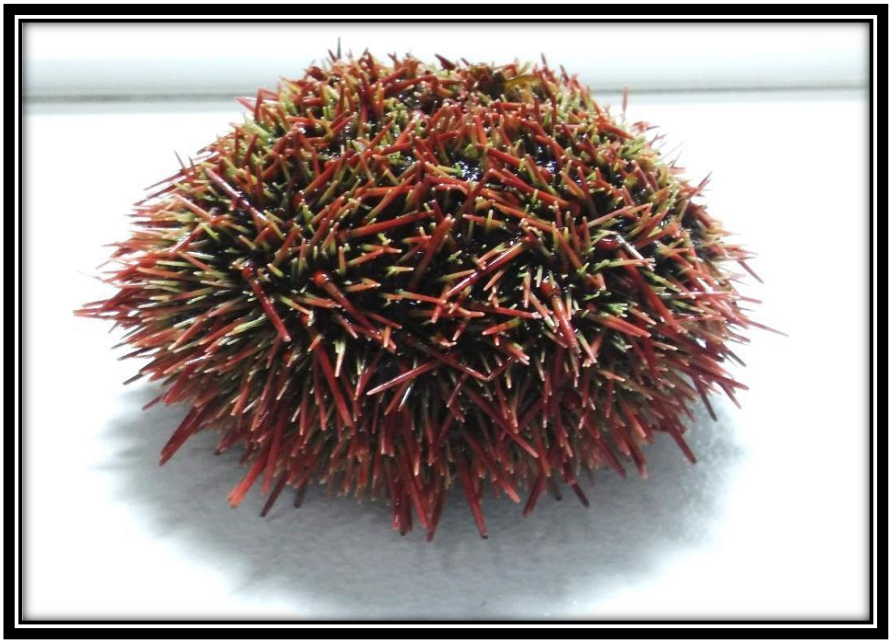


**Figura 1: Fotografía de *Loxechinus albus* (Fuente: Propia)**

Esta especie es también conocida como: erizo verde en Perú, erizo blanco, erizo verde, erizo rojo, erizo comestible en Chile, erizo blanco por la FAO, oursin de mer blanc en francés y White sea urchin en inglés. (Yamashiro C., Benites C., Zeballos J. & Tafur C., 1996). Es una especie sedentaria, de hábitos gregarios que presenta desplazamientos muy reducidos, sobre sustratos rocosos o de fondo mixto (Yamashiro *et al.*, 1996).

### 2.1.2 Sistemática:

**PHYLUM** : Echinodermata

**CLASE** : Echinoidea

**SUBCLASE** : Euechinoidea

**SUPERORDEN** : Echinacea

**ORDEN** : Echinoida

**FAMILIA** : Echinidae

**GÉNERO** : Loxechinus

**ESPECIE** : *Loxechinus albus* (Molina, 1782)

**(Lawrence, 2007)**

### 2.1.3 Distribución Geográfica

*Loxechinus albus* se distribuye desde la Isla Lobos de Afuera hasta el Estrecho de Magallanes al Sur de Chile, con una distribución batimétrica que abarca desde la zona intermareal que se extiende hasta el infralitoral y submareal, a 340 m de profundidad (Larraín,1975). Sin embargo, Moreno & Molinet (2011), indican que hasta ahora el único registro de *L. albus* ha sido hasta 106 m de profundidad. De otro lado, se informó sobre la presencia de *L. albus* en el borde de la plataforma

continental argentina, en latitudes comprendidas entre los 37°35'S y 54°33'O (Fenucci, 1967).

### 2.1.4 Ciclo de vida:

*L. albus* es un organismo con sexos separados que no presenta dimorfismo sexual; durante el período reproductivo liberan los gametos masculinos y femeninos al medio, donde se fecundan después de un minuto; se inicia la etapa embrionaria hasta las 48 horas aproximadamente, instante en que se inicia la etapa larvaria, atravesando por la fase prisma, 4, 6 y 8 brazos durante 25 días aproximadamente; posteriormente se produce la metamorfosis seguido del asentamiento y cambio de vida planctónica a bentónica (Arrau, 1958; Zamora, 1994; Bustos y Olave, 2001; Astudillo *et al.* 2005); éstas dos etapas (embrionaria y larvaria) conforman el cultivo inicial y se desarrolla en condiciones controladas de temperatura, aeración y agua de mar estéril (microfiltrada e irradiada).

La etapa post larvaria conforma el cultivo intermedio, abarcando un período aproximado (37 días) de desarrollo asentadas en superficies colonizadas con diatomeas (Zamora y Stotz, 1994) hasta alcanzar 1 mm. diámetro total, para ser considerados como organismos juveniles. (Figura 2).

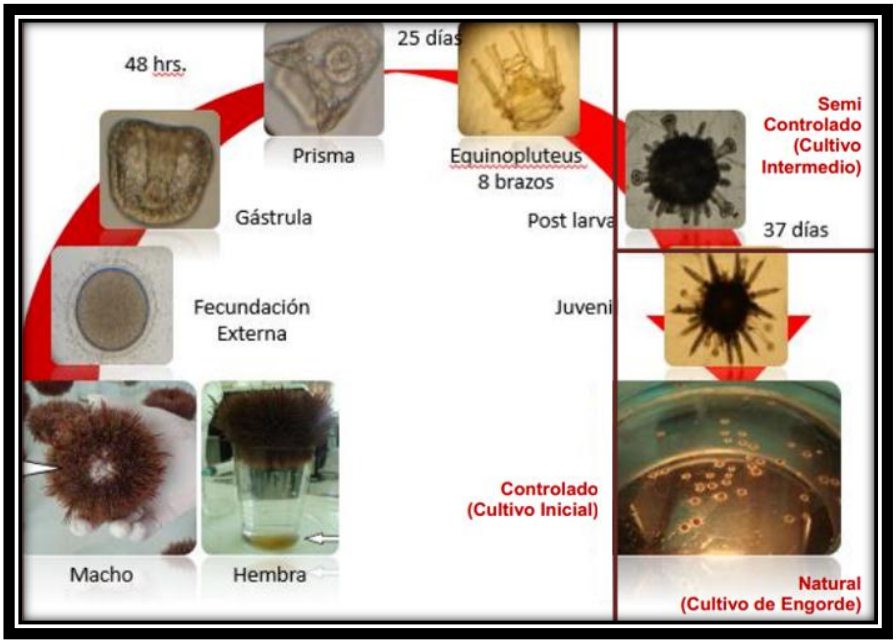



**Figura 2: Ciclo de Vida de *Loxechinus albus*. (Fuente: IMARPE, 2014)**

### 2.1.5. Desembarque de *Loxechinus albus*

Actualmente, el erizo verde *Loxechinus albus* es el equinoideo que presenta los más altos niveles de captura y constituye una de las pesquerías bentónicas más importantes a nivel mundial. Según datos de la FAO (2013), las capturas industriales de este recurso han causado la extinción de muchas poblaciones naturales. En el Perú, esta especie ha sido intensamente explotada, producto de la gran demanda de sus gónadas, especialmente en el mercado japonés, ya que las gónadas de erizo es el producto marino que alcanza el precio más alto (50-100 US$/Kg) en los mercados internacionales y su volumen de producción es de alrededor de 80.000 t anuales. Los desembarques de erizo en el Perú fluctuaron entre 90 y 3 000 TM /año entre 1998 y 2007.

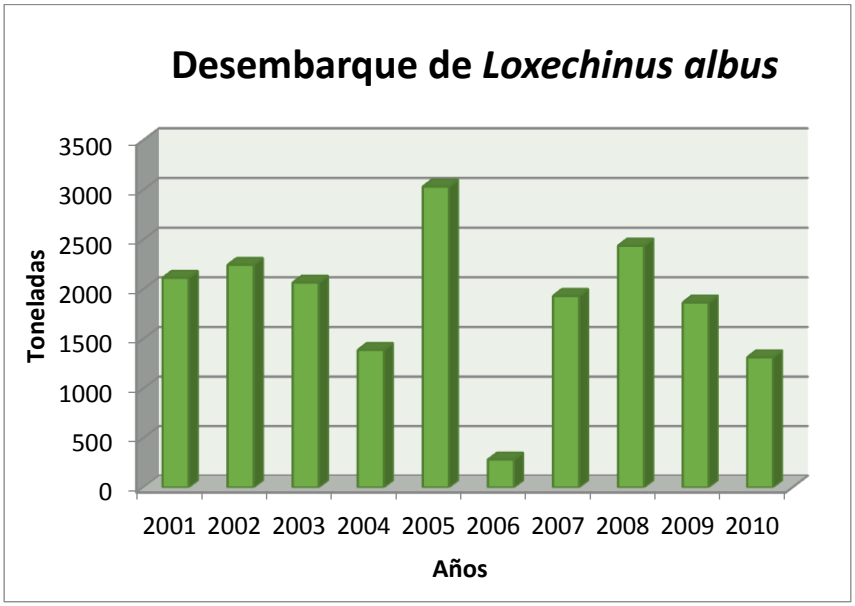



**Figura 3: Desembarques nacionales de *L. albus* (Fuente: Propia)**

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 Trabajos realizados en cultivo de erizo

Hinegardner, (1969) realizó el ciclo de vida *Lytechinus pictus* en laboratorio; Basuyaux y Blin, (1998) probaron 6 dietas para evaluar el crecimiento y mortalidad de ejemplares adultos del erizo *Paracentrotus lividus*, basado en un circuito cerrado con recirculación del agua; James, (2006b) comparó las ventajas y desventajas de la utilización de cajas de cultivo situadas en el medio marino o en tierra, con respecto a la cantidad de ovas y calidad de gónadas del erizo marino *Evechinus chloroticus*.

### 2.2.2 Trabajos realizados con *Loxechinus albus*

Actualmente, el equinodermo de mayor importancia comercial en Perú y Chile es el *Loxechinus albus*; siendo así de vital interés desarrollar su cultivo, es por ello que se han realizado trabajos de investigación, como el de Gonzáles *et al.* (1987), en el que determinaron que el uso de dieta mixta de pequeñas microalgas flageladas en combinación con un aumento de la temperatura es un elemento incidente en un mayor porcentaje de supervivencia larval y fijación de juveniles.

Zamora y Stotz (1994), establecieron que la calidad de las especies de microalgas empleadas como alimento, inciden en el crecimiento y mortalidad larval al no reunir todos los requerimientos nutricionales. Además, realizaron trabajos de asentamiento en diferentes tipos de sustrato, determinando que se da una mejor fijación en placas de policarbonato, siendo su sistema de cultivo en sets de estas placas previamente biologizadas con bacterias, microalgas y diatomeas bentónicas en tanques bajo condiciones controladas.

Bustos y Olave (2001), indican que en condiciones controladas el mejor inductor para la metamorfosis es la presencia de diatomeas pennadas como sustrato.

Palacios *et al*. (2012), obtuvieron una mejor longitud larval de *Loxechinus albus*, con una dieta mixta de *Chaetoceros calcitrans* e *Isochrysis galbana* y una mayor sobrevivencia con *Chaetoceros caciltrans* y *Tetraselmis suecica*; además, determinaron que la mejor sobrevivencia se da a densidades de 5 larvas.$mL^{-1}$.

### 2.2.3 Trabajos realizados con microalgas bentónicas

Buitrago y Lodeiros (2005), tuvieron una mayor ganancia en peso del 60% en post larvas del erizo *Lytechinus variegatus* alimentadas con *Navicula sp.* en comparación con *Amphora sp.* Además, indicaron que la metamorfosis de *L. variegatus* se puede inducir con películas de diatomeas bentónicas (*Navicula sp.* y *Amphora sp*.) en un 100% a las 96 horas.

Araya *et al.* (2010), utilizaron una mezcla multíespecífica de diatomeas bentónicas como *Amphora capitellata*, *Nitzschia ovalis arnott*, *Cylindrotheca closterium* y *Navicula cryptocephala*; para optimizar la fijación larval y el crecimiento del abalón *Haliotis rufescens.*

# CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

## 3.1 TIPO Y DISEÑO

### 3.1.1 Tipo de investigación

Aplicada.

### 3.1.2 Diseño de investigación

Experimental.

## 3.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Explicativo.

## 3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

### 3.3.1 Variable independiente

Dieta

### 3.3.2 Variables dependientes

- Crecimiento de post larvas de *Loxechinus albus.*
- Supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus.*

## 3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

### 3.4.1 Población

Post larvas de *Loxechinus albus* cultivadas en el Laboratorio de Investigación en Moluscos-IMARPE Sede Ilo.

### 3.4.2 Muestra

Post larvas de *Loxechinus albus* en 3 sets de fijación por tratamiento.

## 3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

El desarrollo de esta tesis fue llevado a cabo en el Laboratorio de Investigación de Moluscos, IMARPE - Sede Ilo. Se utilizaron 4 cepas de microalgas bentónicas, previamente aisladas y puras, las cuales fueron suministradas por el Área de Cultivo de Microalgas; y las larvas pre metamórficas procedentes de los cultivos de erizo *Loxechinus albus* realizados en el Laboratorio de Investigación en Moluscos, ambas áreas de IMARPE-Sede Ilo.

### 3.5.1 Diseño Experimental

Se aplicaron tres tratamientos y un control, cada uno con tres repeticiones, como se muestra en el siguiente esquema:

1. Control : *Phaeodactylum tricornutum*
2. Tratamiento 1: Especie 1
3. Tratamiento 2: Especie 2
4. Tratamiento 3: Especie 3

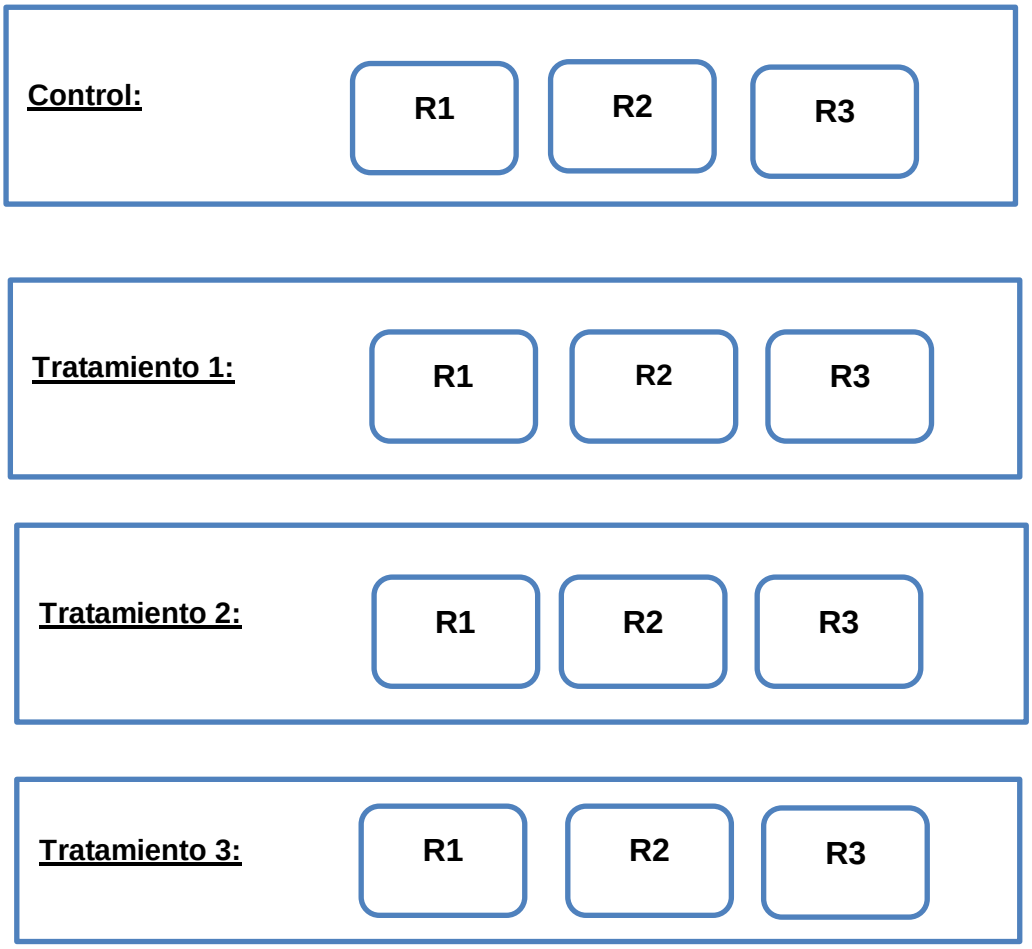



**Figura 4: Diseño experimental. (Fuente: Propia)**

## 3.6 MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

### *3.6.1* Caracterización de microalgas bentónicas suministradas en la dieta post larvaria de *Loxechinus albus*

#### 3.6.1.1 Identificación de microalgas bentónicas

Las microalgas utilizadas en los 3 tratamientos fueron almacenadas en Eppendorf, conteniendo 500 uL. de cada especie con una concentración de $10^8$ cel.$mL^{-1}$ y preservadas en glicerol al 15%, debidamente rotuladas y cubiertas con parafilm; posteriormente se trasladaron a la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (Tacna) con la finalidad de enviar las muestras a MACROGEN Advancing Through Genomics (Korea del Norte) para su identificación molecular; mientras que, para la descripción se seleccionó información bibliográfica, tales como claves, tesis, trabajos de investigación, revistas científicas y otros artículos de fuentes confiables. Las microalgas fueron fotografiadas con una cámara digital SONY 14 megapíxeles y su tamaño fue determinado con ayuda de un micrómetro ocular.

### 3.6.1.2 Perfil bioquímico de microalgas bentónicas

Para la determinación del perfil bioquímico, se acumuló biomasa microalgal proveniente del cultivo inicial con una concentración de $1.5x10^{7}$ cel.$mL^{-1}$, colectada el día de máximo crecimiento durante la fase exponencial, en recipientes de plástico de 150 mL., los cuales fueron refrigerados para evitar la presencia de cuerpos extraños y contaminación. Al sedimentar la microalga, se retiró el volumen de agua mediante pipetas Pasteur desechables; y se refrigeró la muestra hasta que seque. La biomasa seca, se desprendió con ayuda de una espátula y se depositó en un mortero para su posterior homogenización de manera mecánica.

Finalmente, se depositó la biomasa seca (aproximadamente 20 g.) en una placa Petri rotulada con Parafilm y cubierta con papel aluminio, para su posterior entrega al laboratorio químico de la empresa pesquera TASA-Ilo, donde se utilizó el equipo NIR (Near-infrared) para obtener el contenido de proteínas, grasas, cenizas y cloruros (Figura 5).

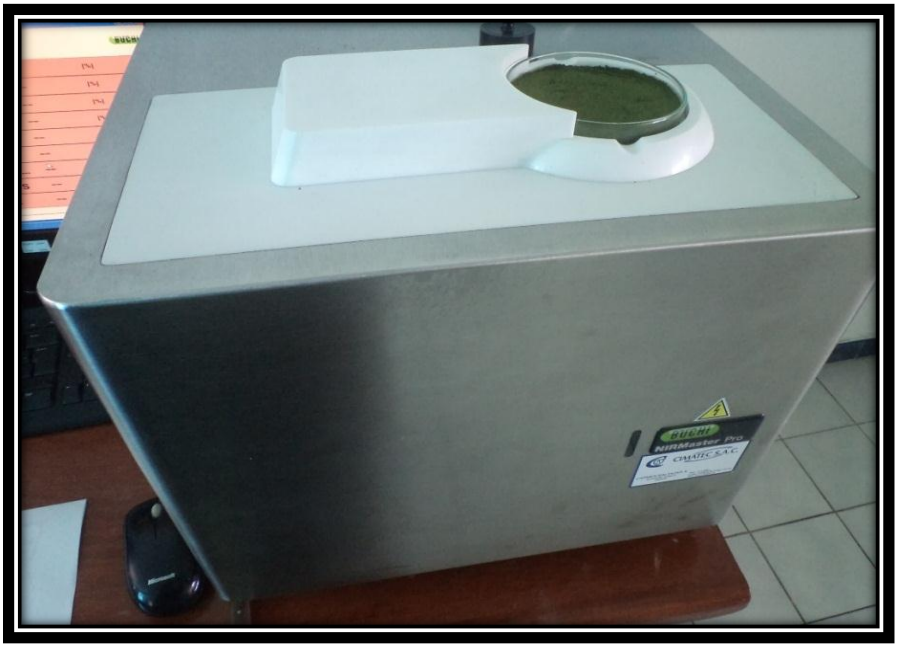



**Figura 5: Equipo NIR con muestra de microalga (Fuente: Propia)**

### 3.6.2 Desarrollo del cultivo de microalgas bentónicas

#### 3.6.2.1 Cultivo inicial

Las microalgas bentónicas fueron cultivadas en 3 envases de plástico transparente, rectangulares de 23 x 7 cm. por cada especie, conteniendo un litro de agua de mar estéril enriquecida con 1 mL. de Solución A y B (Ver Anexo 1), suplementada con 0.013 g. de Metasilicato de sodio, en el caso de las 2 diatomeas utilizadas y el medio de cultivo aplicado fue F/2 Guillard modificado (Ver Anexo 2).

En el interior de cada envase se dispuso una placa de policarbonato con una retícula de 150 cuadrados de 1 cm. y un plomo atado en el medio para mantenerla sumergida; esta etapa se inició con un inóculo de $1.5x10^{7}$ $cel.mL^{-1}$., para favorecer la fijación de la

biopelícula microalgal en la superficie de la placa, y para mantener el intercambio gaseoso se colocó un difusor de aire que proporcionó fuljo moderado, y luz artificial continua (40 watts) en la parte superior, a una temperatura de 19°C ± 1°C (aire acondicionado) (S. Zevallos, comunicación personal, Septiembre 4, 2013).

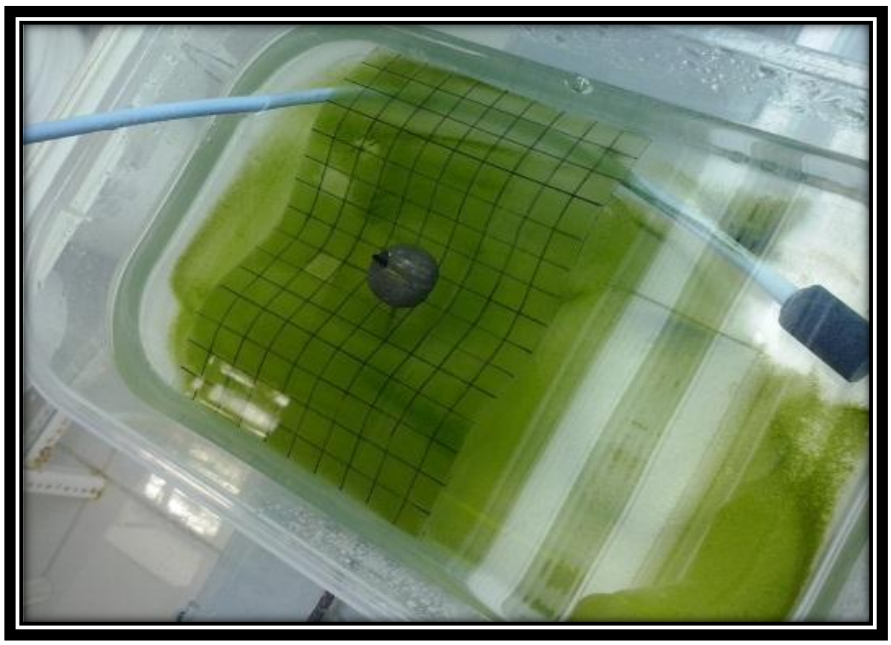


**Figura 6: Cultivo inicial de biopelícula microalgal. (Fuente: Propia)**

### 3.6.2.2 Cultivo intermedio

Las microalgas procedentes de la fase exponencial del nivel anterior fueron cultivadas en 3 tanques de fibra de vidrio rectangulares de 60 x 30 cm. por cada especie, conteniendo aproximadamente 40 L. de agua de mar estéril enriquecida con 5.2 mL. de solución A y B, suplementada con 0.52 g. de Metasilicato de Sodio, en el caso de las diatomeas. En el interior de cada tanque se dispuso un set de fijación

para post larvas de erizo, manteniendo las condiciones ambientales del anterior nivel de cultivo (S. Zevallos, comunicación personal, Septiembre 4, 2013).

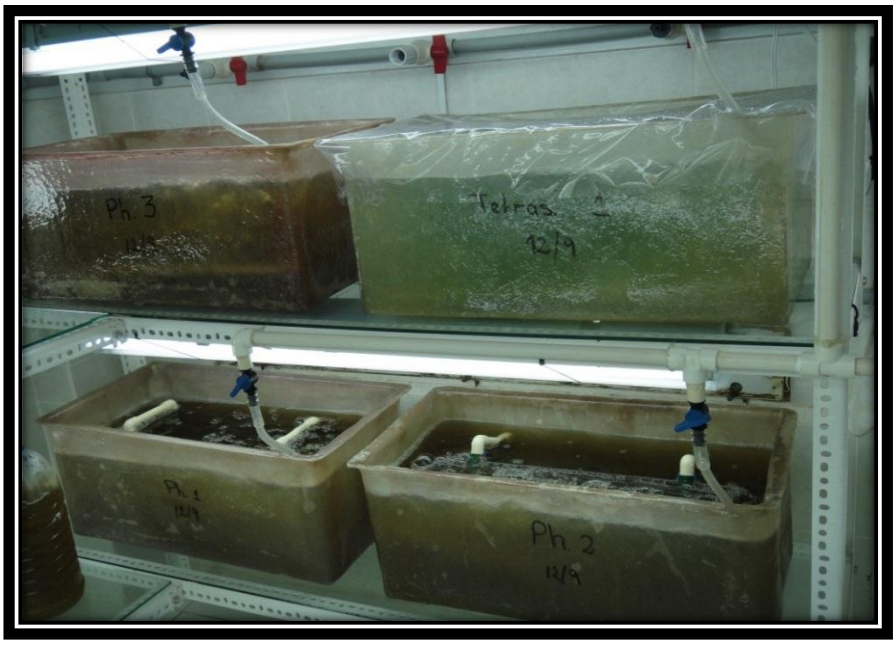



**Figura 7: Bandejas de cultivo intermedio. (Fuente: Propia)**

El cultivo de microalgas bentónicas fue recirculado al 90 % con agua de mar estéril al cabo de una semana, agregándose nuevamente los nutrientes; y se rotó el set de fijación cada 2 días, para lograr que la luz alcance a todas las placas, y así obtener una biopelícula microalgal homogénea.

### 3.6.2.3 Determinación de la curva de crecimiento de microalgas

La densidad celular se cuantificó de forma diaria a partir del tercer día de cultivo, diluyendo la biopelícula microalgal de la superficie de 1 $cm^2$

en 1 mL. de agua de mar estéril y agregándole 5 gotas de sal disódica del ácido etilendiamino tetra-acético ($Na_2EDTA.2H_2O$) para desagregar las colonias de microalgas asentadas en la placa (Leal *et al*. 2012), fijándolas con una gota de lugol y homogenizadas para su posterior observación al microscopio compuesto Axiostar plus (10x) y recuento celular, usando una cámara de Neubauer.

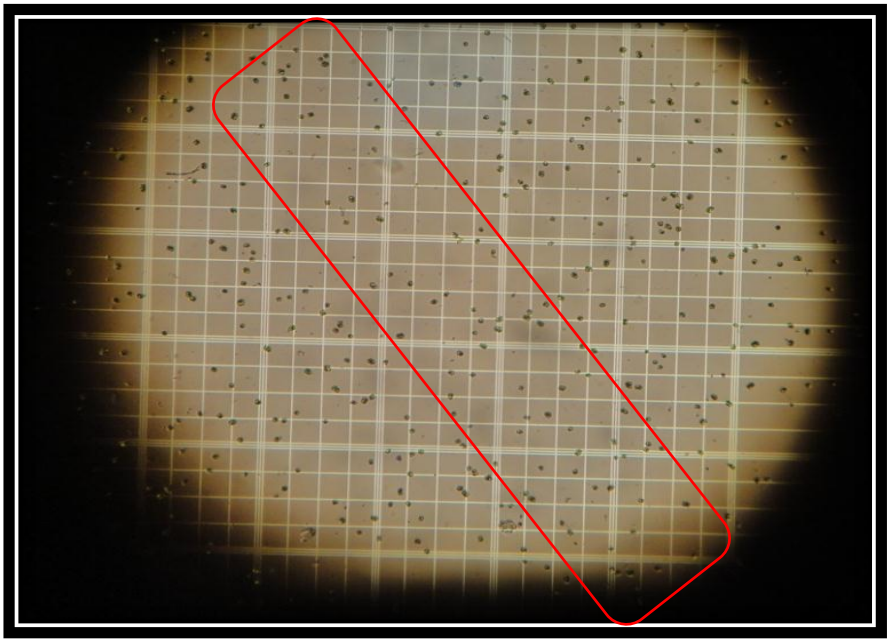


**Figura 8: Recuento de microalgas en Cámara Neubauer (Fuente: Propia)**

Para la determinación de la densidad celular se aplicó la fórmula empleada por Andersen (2005) y Moheimani *et al.* (2013):

**Densidad celular = Promedio x 5 x 10000**

Donde:

Densidad celular : Número de células en un volumen (cel.mL$^{-1}$).

Promedio : Media aritmética del recuento de cuadrantes.

Los datos de crecimiento del cultivo inicial de microalgas fueron ajustados bajo el modelo corregido de Gompertz citado en Casas *et al.* (2010) para graficar la curva de crecimiento hasta su punto máximo durante la fase exponencial, de la cual se obtuvo la biomasa que fue empleada como inóculo para el cultivo intermedio.

$$Y=a*\exp(-\exp(b-c*t)))$$

Donde:

Y: Recuento celular al tiempo T (cel. mL$^{-1}$)

a: Valor máximo de biomasa

b: Diferencia entre la biomasa inicial y final al tiempo “t”

c: Velocidad específica de crecimiento

t: Tiempo de generación

### 3.6.3 Implementación de cultivo post larvario de *Loxechinus albus*

#### 3.6.3.1 Set de fijación post larval

Se elaboró una estructura cúbica de PVC de ½", cuyos vértices estuvieron unidos por codos de 90° a parantes verticales y desmontables, en los que se dispuso 10 placas onduladas de policarbonato de 50 x 22 cm, con una separación de 1 cm entre cada placa (separadores de plástico), tomando como referencia el trabajo realizado por Zamora y Stotz (1994).

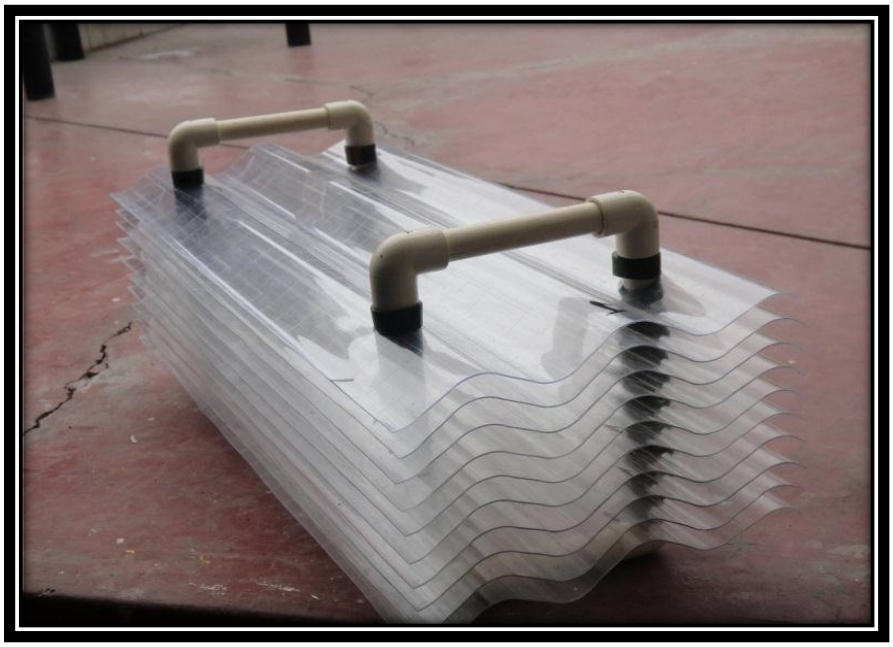


**Figura 9: Set de fijación post larval. (Fuente: Propia)**

#### 3.6.3.2 Cultivo post larvario de *Loxechinus albus*

Los sets de fijación cubiertos por biopelículas asentadas en la superficie de la placa de microalgas bentónicas fueron trasladados a los

tanques rectangulares de fibra de vidrio (250 L. aproximadamente), previa observación microscópica y tamizado de la columna de agua del cultivo microalgal, para la identificación y depuración de otros microorganismos.

Las condiciones de aeración para el mantenimiento del cultivo durante esta etapa fueron moderadas, tratando de suministrar burbujas del menor tamaño posible, y así una excelente mezcla gaseosa; la temperatura ambiental se mantuvo a 18 ± 1 °C, y se agregaron nutrientes de acuerdo al volumen de agua de mar estéril contenido en el tanque de cultivo, para favorecer el mantenimiento de la biopelícula microalgal.

#### 3.6.3.3 Manejo del cultivo post larvario de *Loxechinus albus*

Una vez instalados los sets de cultivo post larvario, se agregaron larvas pre metamórficas procedentes del cultivo experimental del erizo *Loxechinus albus*, realizando un previo muestreo para conocer la densidad a sembrar. Semanalmente se realizó el recambio de agua de mar estéril a un flujo moderado, con tamices de una abertura de malla de 75 µm, para evitar el desprendimiento de la biopelícula microalgal y post larvas. Además, se añadieron nutrientes y se analizaron muestras de agua para poder controlar la presencia de algún otro microorganismo.



**Figura 10: Muestreo de cultivo. (Fuente: Propia)**

El registro de temperatura del agua de cultivo fue diario, a las 08:00 a.m. y 13:00 p.m., utilizando un termómetro digital (-50 a 300) °C. Semanalmente se colectaron muestras de agua provenientes del recambio, para realizar el análisis de salinidad (UPS) por el método de conductividad, utilizando un salinómetro Portasal Guildline 8410 A, y el análisis de oxígeno disuelto ($mL.L^{-1}$.) con el método de Winkler modificado por Carrit y Carpenter (1966), en el área de Oceanografía e Hidroquímica del IMARPE-Sede Ilo.

### 3.6.4 Determinación de crecimiento post larval de *L. albus*

Una semana después de trasladar los sets de fijación a los tanques de cultivo, se midieron 15 postlarvas de cada placa superficial, intermedia y de fondo, siendo depositadas en una placa multipozos con agua de mar estéril, para medir su longitud total, utilizando un microscopio. Este procedimiento se repitió un mes después del asentamiento postlarval.

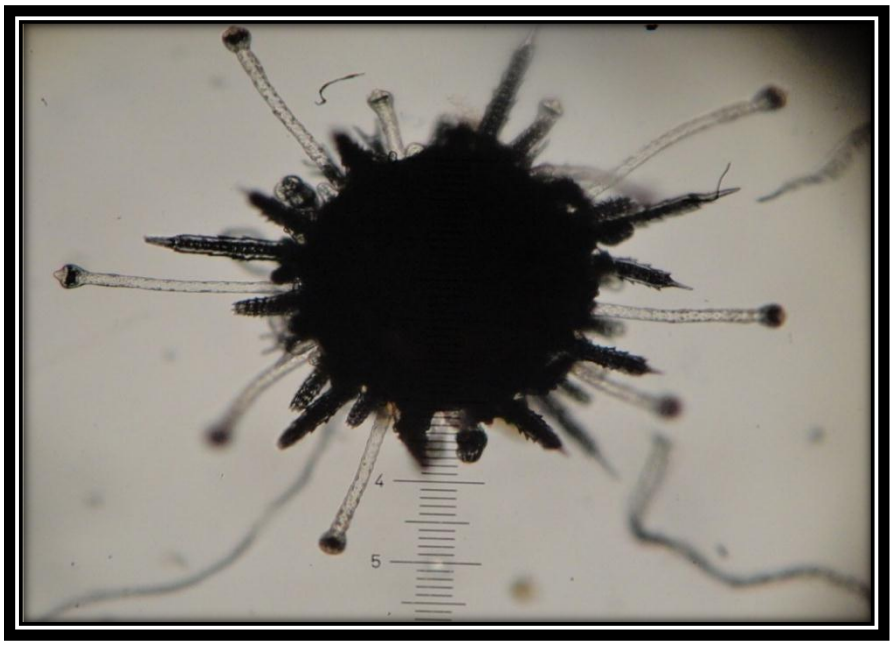



**Figura 11: Medición de post larva de *L. albus.* (Fuente: Propia)**

Con los datos obtenidos se calculó la tasa absoluta de crecimiento en longitud (diferencia aritmética) (Gulland, 1971):

$$TC = (Lt_{i+1} - Lt_i) / (t_i + 1 - t_i)$$

Donde:

TC = Tasa de Crecimiento (µm)

$t_i$ = Tiempo (días) de muestreo cero

$t_{i+1}$ = Tiempo de muestreo subsecuente al $t_i$

$L_{ti}$ = Longitud correspondiente al tiempo $t_i$ (µm)

$L_{ti+1}$ = Longitud correspondiente al tiempo $t_{i+1}$ (µm)

### 3.6.5 Determinación de supervivencia post larval de *L. albus*

Para la determinación del número inicial de organismos fijados, se esperó una semana luego de la inoculación de larvas pre metamórficas y se cuantificó las post larvas asentadas en la placa superior, intermedia y de fondo; ponderando el resultado al resto de placas del set de fijación; acción que se repitió al cabo de un mes para la determinación del número final de organismos, y por diferencia de densidades se calculó la tasa de supervivencia.

La tasa de supervivencia se calculó con la fórmula citada por Ricker (1975)

$$T_S = (N_{ti} / N_{t0}) \times 100$$

Donde:

$T_s$ = Tasa supervivencia

$N_{t\,i}$ = Número de individuos correspondiente al tiempo final

$N_{t\,0}$ = Número de individuos correspondiente al tiempo cero

Finalmente el valor de supervivencia fue dado en porcentaje.

### 3.6.6 Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos de los muestreos se registraron en hojas de cálculo de Excel, posteriormente se procesó la información con el software estadístico SPSS versión 21.0 donde se aplicó un análisis exploratorio de datos para determinar la normalidad de datos y la homocedasticidad de sus varianzas para aplicar un Análisis de Varianza de una Vía (ANDEVA, p=0,05), y por último se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey, para contrastar las diferencias de crecimiento.

# CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1 RESULTADOS

### 4.1.1 Caracterización de microalgas bentónicas suministradas en la dieta post larvaria de *Loxechinus albus*:

#### 4.1.1.1 Descripción de microalgas bentónicas

**a. Control: *Phaeodactylum tricornutum***

*P. tricornutum* es una diatomea perteneciente a la división Bacillariophyta, Clase Bacillariophycear, Orden Pennales. A esta especie pertenecen organismos unicelulares con un plástido; existiendo en una de 3 formas; triradial, fusiforme y oval; y se considera litoral marina, planctónica y bentónica dependiendo de la forma. Su distribución es muy amplia y se ha logrado aislar en diversos países europeos y americanos (Ledesma, 2000).

Presenta diferentes actividades biológicas como la mayor productividad de ácido eicosopentanoico (EPA) y ácido docosohexanoico

(DHA), razón por la cual es altamente estudiada en diversas investigaciones de carácter científico.

Esta microalga es cosmopolita y se adecúa fácilmente a diversas condiciones de cultivo. Sus dimensiones son de 24-29 µm de largo y 4-5 µm de espesor (Ledesma, 2000) (Figura 12).

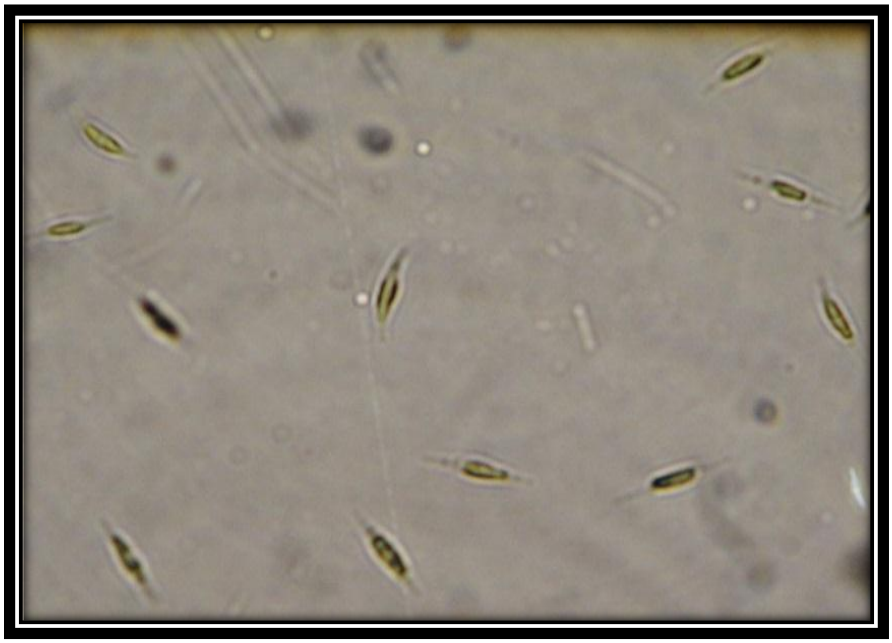


**Figura 12: Fotografía de *Phaeodactylum tricornutum* (Fuente: Propia)**

### b. Especie 1: *Tetraselmis striata*

Las microalgas pertenecientes al género *Tetraselmis,* presentan el color verde, debido a la presencia de clorofila a y b. Su reproducción celular se realiza por división celular binaria, momento en el cual las

células pierden el estado móvil y las dos células hijas ya están completamente flageladas antes de la liberación de la teca (Butcher, 1959). Es ampliamente utilizado en acuicultura como alimento vivo para larvas de moluscos, crustáceos y peces, de ahí parte su importancia comercial; sobre todo porque posee las dimensiones que permiten ser consumida por las fases larvales de los bivalvos filtradores (Padilla, 1975), a esto le sumamos, su alta productividad, rápido crecimiento y altísimo interés económico (Ohse *et al.*, 2008).

*Tetraselmis striata* es una microalga unicelular de color verde que forma pequeñas colonias, cada una cuenta con su propia envoltura y mucílago transparente, agrupándose en 2 células de forma sub esféricas, y su tamaño celular es de alrededor de 10 µm. de diámetro.

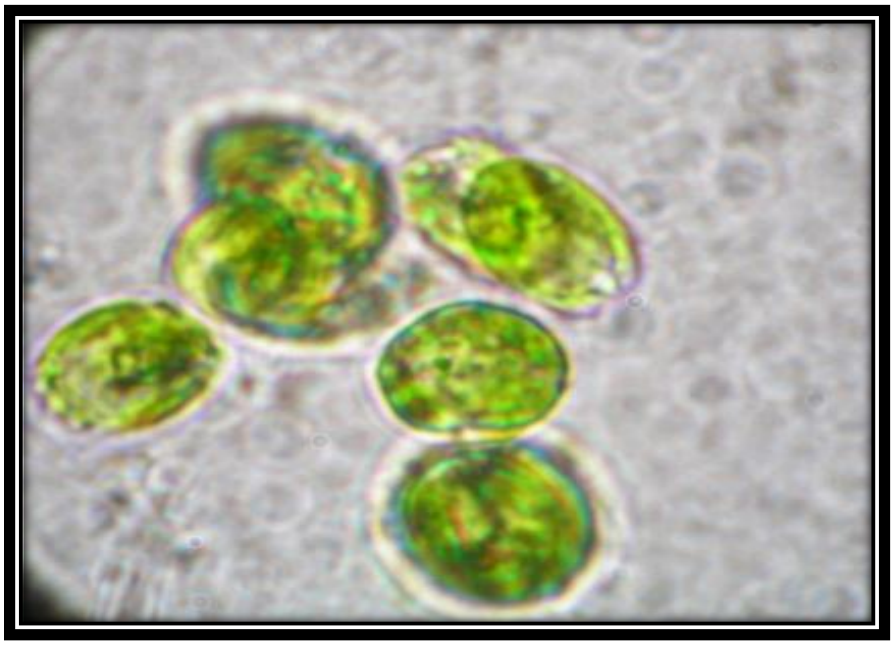


**Figura 13: Fotografía de *Tetraselmis striata* (Fuente: Propia)**

### c. Especie 2: *Chlorella ellipsoidea*

*Chlorella* es un género de las microalgas clorofíceas, que se caracteriza por presentar un rápido crecimiento en cultivo celular y por su capacidad de utilizar como sustrato nutricional compuestos orgánicos e inorgánicos, ya que fácilmente se adapta a diversas condiciones ambientales y nutricionales (Xu *et al.*, 2006).

Este género ha sido aplicado al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo, demanda química de oxígeno y metales (Infante *et al.*, 2012), y en procesos biotecnológicos, que generen productos orientados a las industrias alimenticias, farmacéuticas, de saneamiento ambiental, agropecuarias y energéticas (Chisti, 2007).

La microalga unicelular *Chlorella ellipsoidea,* perteneciente a la división Chlorophyta y a la clase de las Chlorophyceae, presenta un color verde debido a su alto contenido de clorofila, y su tamaño celular alcanza aproximadamente 10 µm de diámetro (Figura 14).

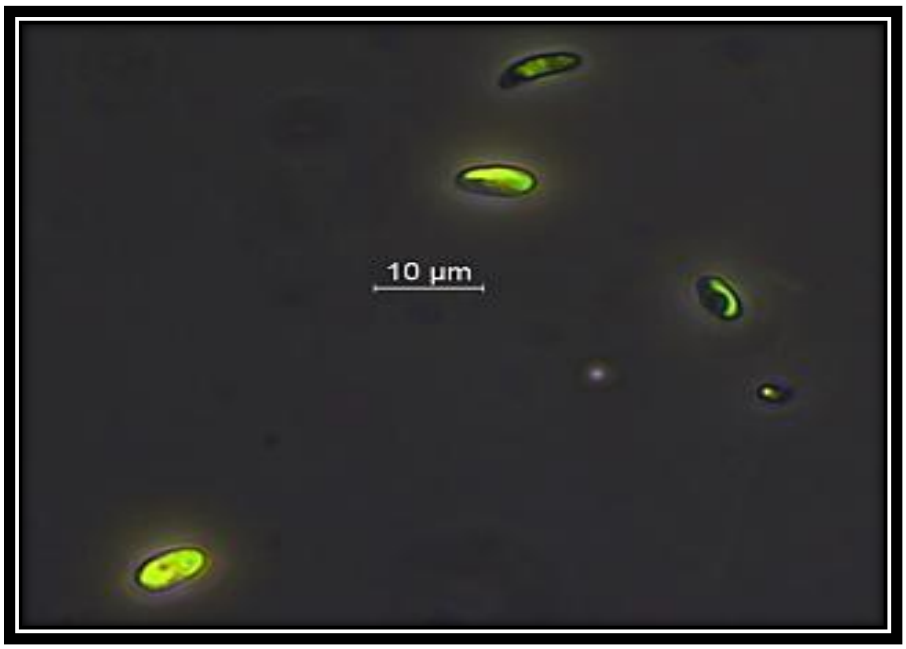



**Figura 14: Fotografía de *Chlorella ellipsoidea* (Fuente: IMARPE)**

### d. Especie 3: *Navicula salinicola*

El género *Navicula,* perteneciente a la división Orchrophyta, la cual presenta frústulos usualmente sin bandas intercalares, algunas taxas tienen placas internas, pero no son septas verdaderas; valvas linares, lanceoladas a elípticas; rafe bien desarrollado en ambas valvas y dispuestas en el área axial; las estrías son típicamente formada de puntuaciones distintas o indistintas. (Patrick, 1959).

Las microalgas del género Navicula poseen un color dorado oliváceo, debido a los pigmentos fotosintéticos como clorofila $c_1$ y $c_2$, así como

carotenoides y pigmentos auxiliares; suele presentarse en colonias y su reproducción generalmente es por división (Bus, 2013).

*Navicula salinicola* es una diatomea que mide aproximadamente 10 µm de longitud y presenta valvas angostas y lanceoladas, con extremos obtusos y redondeados, rafe filiforme con los poros centrales muy próximos y estrías paralelas en el centro, convergentes hacia los extremos (Patrick, 1959).

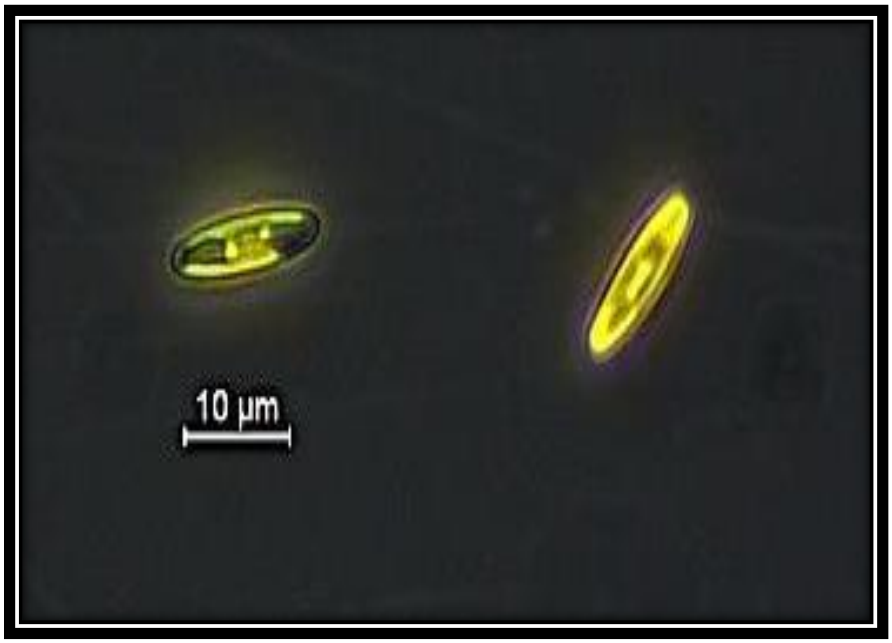



**Figura 15: Fotografía de *Navicula salinicola* (Fuente: IMARPE)**

#### 4.1.1.2 Perfil bioquímico

De las cuatro microalgas suministradas, las diatomeas *Phaeodactylum tricornutum* y *Navicula salinicola*, son las que presentaron

la tasa más alta de proteínas, con 58.79% y 55.10% y un bajo contenido en grasa, alcanzando un valor de 3.62% y 9.27% respectivamente. Mientras que, las chlorofitas *Chlorella ellipsoidea* y *Tetraselmis striata* mostraron porcentajes menores de proteínas, con un 51.32% y 40.78; así como 10.06% y 21.29% de grasa respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1: Perfil bioquímico de microalgas bentónicas**

| | ***Phaeodactylum tricornutum*** | ***Tetraselmis striata*** | ***Chlorella ellipsoidea*** | ***Navicula salinicola*** |
|---|---|---|---|---|
| **Proteína** | 58.79 | 40.78 | 51.32 | 55.10 |
| **Grasa** | 3.62 | 21.29 | 10.06 | 9.27 |
| **Humedad** | 13.70 | 11.19 | 9.19 | 12.48 |
| **Cloruros** | 8.62 | 6.79 | 9.01 | 7.14 |
| **Cenizas** | 15.96 | 20.06 | 20.90 | 16.44 |

### 4.1.2 Desarrollo de cultivo de microalgas bentónicas

#### 4.1.2.1 Crecimiento de microalgas

La microalga con mayor producción fue la diatomea *Phaeodactylum tricornutum* (alcanzando concentraciones de $1{,}68x10^{7}$ $cel.mL^{-1}$ el día 11 del cultivo); seguida de *Chlorella ellipsoidea* (con una densidad celular de $5{,}28x10^{6}$ $cel.mL^{-1}$ el día 9 del cultivo), mostrando el crecimiento en menor tiempo, mientras que *Tetraselmis striata* alcanzó

una concentración celular de 1,21x10$^{6}$ cel.mL$^{-1}$ el día14, y *Navicula salinicola* obtuvo una densidad de 4,99x10$^{5}$ cel.mL$^{-1}$ el día 12 del cultivo.

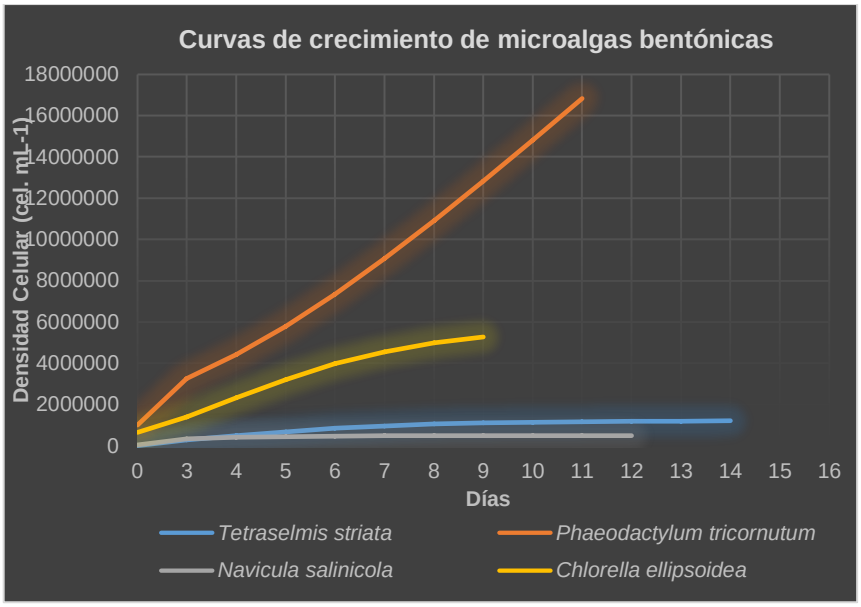



**Figura 16: Comparación de curvas de crecimiento de microalgas bentónicas (Fuente: Propia)**

### 4.1.2.2 Microorganismos asociados

Durante el cultivo inicial de microalgas se observó la presencia de copépodos en el tratamiento con la chlorofita *Tetraselmis striata*; mientras que, en el cultivo con *Phaeodactylum tricornutum*, se encontró microorganismos como Phacus, Euglena y Euplotes, los cuales fueron tamizados para evitar que sean traspasados al siguiente nivel de cultivo y evitar algún tipo de contaminación cruzada.

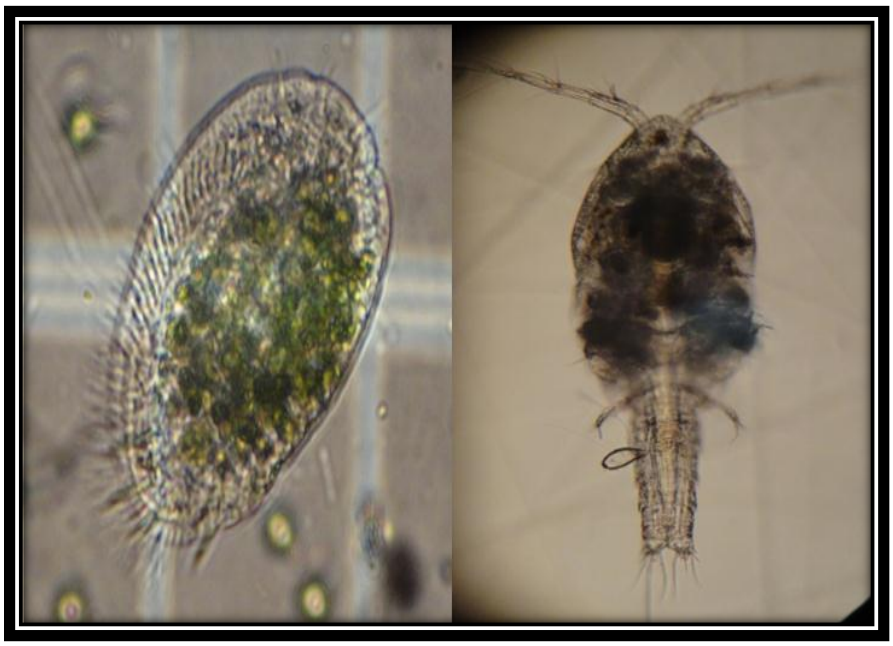


**Figura 17: Microorganismos presentes en cultivo (Euplotes y Copépodo) (Fuente: Propia)**

### 4.1.3 Cultivo post larvario de *Loxechinus albus*

La cohorte post larval alimentada con *Chlorella ellipsoidea* presentó el mayor porcentaje de organismos en etapa larval al realizar el primer muestreo, incluso algunas larvas mostraban deformaciones, mientras que los cultivos con las otras 3 dietas habían logrado la metamorfosis al cabo de la primera semana, por ello no se consideró en el análisis de supervivencia.

#### 4.1.3.1 Parámetros Físico-Químicos

**a. Temperatura**

Se aplicó un ANDEVA (Ver Anexo 3) a los datos de temperatura registrados en los cultivos post larvales, mostrando una diferencia

significativa (F=160.47) entre las diferentes dietas aplicadas, y posteriormente la Prueba de Tukey, demostró que los cultivos con *Tetraselmis striata* y *Phaeodactylum tricornutum,* presentaron valores promedios similares entre sí, mientras que la temperatura más alta se dio con *Chlorella ellipsoidea* (Tabla 2).

**Tabla 2 Prueba de Tukey de Valores de Temperatura**

| Dieta | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| ***T. striata*** | 16.64 | | |
| ***P. tricornutum*** | 16.78 | | |
| ***N. salinicola*** | | 17.42 | |
| ***C. ellipsoidea*** | | | 18.06 |

**b. Oxígeno Disuelto**

Los datos de concentración de oxígeno disuelto (Tabla 3) presentaron un valor promedio de 5.80 ± 0.30 $mL.L^{-1}$, con un valor máximo de 6.43 $mL.L^{-1}$ y mínimo de 5.20 $mL.L^{-1}$ durante el tiempo de cultivo, ambos valores se presentaron con el tratamiento 2: *Chlorella ellipsoidea*.

**Tabla 3: Valores promedio de oxígeno disuelto**

| Semana de Cultivo | *Phaeodactylum tricornutum* | *Tetraselmis striata* | *Chlorella ellipsoidea* | *Navicula salinicola* |
|---|---|---|---|---|
| **1** | 5.55 | 5.88 | 5.20 | 5.66 |
| **2** | 5.66 | 5.55 | 6.20 | 5.91 |
| **3** | 5.91 | 5.66 | 5.42 | 5.86 |
| **4** | 5.86 | 5.91 | 6.15 | 5.59 |
| **5** | 5.59 | 5.91 | 6.43 | 6.18 |

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de un factor ($p<0.05$), demostrándose que no existe una diferencia significativa entre las diferentes dietas (Ver Anexo 4).

**c. Salinidad**

La salinidad que presentó el agua de cultivo tuvo un valor promedio de 34.80 UPS durante las 5 semanas de cultivo, con máximos y mínimos de 35.13 y 34.69 UPS respectivamente (Tabla 4).

**Tabla 4: Valores promedio de salinidad**

| Semana de Cultivo | *Phaeodactylum tricornutum* | *Tetraselmis striata* | *Chlorella ellipsoidea* | *Navicula salinicola* |
|---|---|---|---|---|
| **1** | 34.75 | 34.77 | 34.94 | 34.73 |
| **2** | 34.73 | 34.76 | 34.89 | 34.76 |
| **3** | 34.76 | 34.73 | 34.94 | 34.71 |
| **4** | 34.71 | 34.76 | 35.00 | 34.71 |
| **5** | 34.71 | 34.74 | 35.13 | 34.69 |

Se aplicó un ANDEVA (Ver Anexo 5) a los datos de salinidad, mostrando una diferencia significativa (p=0.00), y posteriormente la Prueba de Tukey, determinó que el tratamiento aplicado con *Chlorella ellipsoidea* mostró un valor mayor de salinidad en comparación a los demás cultivos (Ver Tabla 5).

**Tabla 5: Prueba de Tukey de Valores de Salinidad**

| Dieta | Subconjunto para alfa = 0.05 | |
|---|---|---|
| | **1** | **2** |
| ***N. salinicola*** | 34.72 | |
| ***T. striata*** | 34.75 | |
| ***P. tricornutum*** | 34.73 | |
| ***C. ellipsoidea*** | | 34.98 |

### 4.1.4 Crecimiento post larval de *Loxechinus albus*

#### 4.1.4.1 Tasa de crecimiento diaria

Las postlarvas que obtuvieron la tasa de crecimiento diaria más alta, fueron alimentadas con *Navicula salinicola* y *Phaeodactylum tricornutum,* alcanzando 30.58 ± 4.07 µm.día$^{-1}$ y 14.68 ± 2.06 µm.día$^{-1}$, respectivamente; mientras las que fueron alimentadas con las chlorofitas *Tetraselmis striata* y *Chlorella ellipsoidea,* presentaron un crecimiento de 3.31 ± 1.21 µm.día$^{-1}$ y 2.17 ± 1.44 µm.día$^{-1}$, respectivamente. (Figura 18).

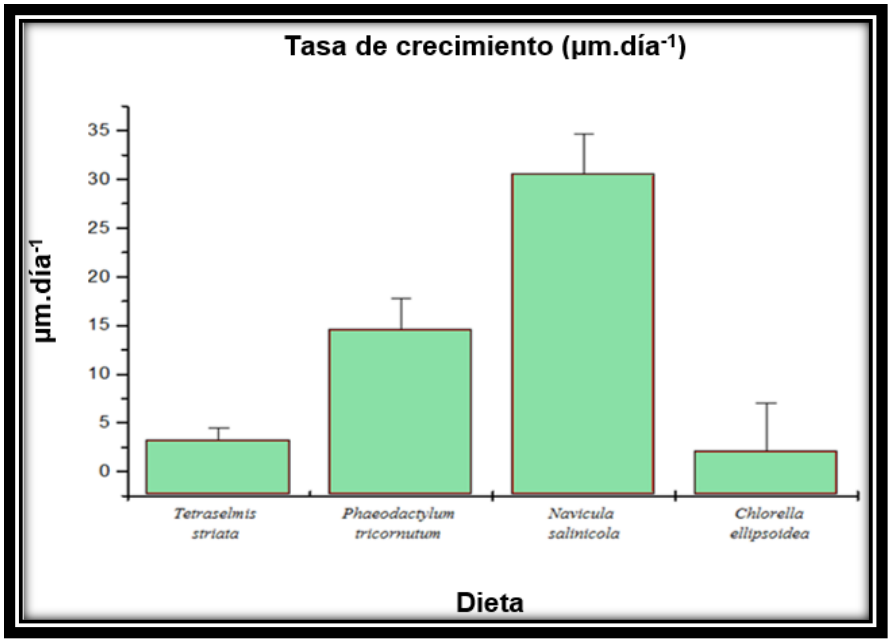



**Figura 18: Tasa de crecimiento diario de post larvas**

#### 4.1.4.2 Crecimiento post larval de *L. albus*

Las mediciones post larvales obtenidas, se analizaron mediante un ANDEVA, obteniendo el estadístico F de Snedecor equivalente a 371.60 y un valor “p” asociado de 0.00 que nos indica que hay diferencias significativas en el crecimiento post larval entre las dietas suministradas (Tabla 6).

Posteriormente, se contrastó los datos mediante la prueba de Tukey, que ratificó las diferencias significativas, mostrando un mayor crecimiento en las post larvas alimentadas con *Navicula salinicola,* que aumentaron en 917.33 µm. al finalizar el experimento, y con *Phaeodactylum tricornutum* en 440.30 µm., mientras que *Chlorella ellispoidea* y *Tetraselmis striata* pertenecen a un mismo subconjunto (Tabla 7).

**Tabla 6: ANDEVA de crecimiento post larval con microalgas bentónicas**

| | Suma de Cuadrado | G.L | Media cuadrática | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| **Inter-grupos** | 6510633.28 | 3 | 2170211.29 | 371.60 | 0.00 |
| **Intra-grupos** | 297842.49 | 51 | 5480.04 | | |
| **Total** | 6808475.78 | 54 | | | |

**Tabla 7: Prueba de Tukey de crecimiento post larval**

| Dieta | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| ***C. ellipsoidea*** | 10 | 65.22 | | |
| ***T. striata*** | 15 | 99.37 | | |
| ***P. tricornutum*** | 15 | | 440.30 | |
| ***N. salinicola*** | 15 | | | 917.33 |

### 4.1.5 Supervivencia postlarval de *Loxechinus albus*

El análisis de las 4 cohortes post larvales después de 1 mes de efectuado el asentamiento, reveló que al suministrar como dieta a *Phaeodactylum tricornutum* se consiguió una supervivencia del 37.16%, seguida por *Tetraselmis striata* y *Navicula salinicola,* con un 30.12% y 28.41% respectivamente (Tabla 8). Cabe resaltar, que no se consideró a la cohorte alimentada con *Chlorella ellipsoidea* porque al realizar el primer recuento se observó una gran cantidad de organismos en etapa larval y algunas de las post larvas asentadas presentaban signos de deformación, lo cual hubiera ocasionado un sesgo en los resultados finales de supervivencia.

**Tabla 8: Supervivencia post larval entre dietas suministradas**

| Tiempo | *Tetraselmis striata* | | *Phaeodactylum tricornutum* | | *Navicula salinicola* | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | % | N | % | N | % |
| **0** | 2590 | 100,00 | 21870 | 100,00 | 9126 | 100,00 |
| **1** | 780 | 30.12 | 8126 | 37.16 | 2593 | 28.41 |

## 4.2 DISCUSIÓN

### 4.2.1 Caracterización de las microalgas bentónicas

Las cuatros microalgas investigadas, en este trabajo, presentaron un tamaño adecuado, en términos de rango de tamaño, para su uso como fuente de alimentación en post larvas de *Loxechinus albus,* ya que fluctuaron entre 10 µm. y 25 µm. Con respecto a su valor proteico se observó que las diatomeas *Phaeodactylum tricornutum* y *Navicula salinicola* presentaron un mayor contenido de proteínas comparadas con las chlorofitas *Tetraselmis striata* y *Chlorella ellipsoidea*, mientras que el contenido de grasa fue mayor en las chlorofitas; esto difiere de lo mencionado por Anemaet *et al*. (2010); Greenwell *et al. (* 2010); Halim *et al.* (2011) en sus trabajos donde indican que las diatomeas presentan un alto contenido de grasa e inversamente proporcional en proteínas, lo que se podría deber a que cada cultivo microalgal difiere según sus condiciones de cultivo, tal y como lo han demostrado Fábregas (1989), que trabajaron con 4 microalgas, dentro de ellas: *Tetraselmis suecica* y *Phaeodactylum tricornutum* en diferentes medios de cultivo, obteniendo diferencias significativas en la biomasa y contenido bioquímico.

### 4.2.2 Desarrollo de técnicas de cultivo de microalgas bentónicas

El desarrollo de este ítem fue sumamente delicado, ya que al ser una técnica nueva presentó complicaciones, puesto que un cultivo

microalgal necesita de una adecuada temperatura, luz y oxígeno. Sin embargo, la biopelícula microalgal no recibía luz en su totalidad por la posición de las placas, siendo necesario rotarlas constantemente; la temperatura era elevada en algunos casos por la cercanía a la luz artificial y el oxígeno debía ser muy moderado para evitar el desprendimiento de la biopelícula; este problema se presentó particulamente con *Navicula salinicola*, mientras que *Phaeodactylum tricornutum* fue la microalga más resistente y con mayor producción, a pesar de encontrarse una mínima presencia de otros microorganismos durante su cultivo.

Con respecto al crecimiento de los cultivos microalgales realizados, el crecimiento más acelerado lo presentó *Phaeodactylum tricornutum*, al igual que en los trabajos de Cardoso N. (2011); Ledesema T. (2000), donde indican que esta microalga inicia su fase exponencial desde el primer día de cultivo; mientras que *Navicula salinicola* presentó una biomasa mucho menor y en mayor tiempo, además de ser un cultivo muy sensible a contaminarse**.**

### 4.2.3 Implementación del cultivo post larvario de *Loxechinus albus*

El desarrollo del cultivo post larval se dio en placas de policarbonato, ya que según Zamora y Stotz (1994) este material presenta mejores resultados de fijación. Además, se ha demostrado que las

biopelículas de diatomeas son determinantes en cultivos de otras especies de cultivo, tales como el abulón *Haliotis sp.* (Roberts, 2001).

En esta parte de la investigación se observó que la microalga *Chlorella ellipsoidea* no es recomendable como inductor a la metamorfosis, puesto que se observó al cabo de la primera semana que los organismos aún permanecían en etapa larval. Esto podría deberse a diversos factores, ya que cada dieta ha sido trabajada con diferentes cohortes y en diferentes fechas; y de acuerdo con lo mencionado por Bustos *et al*. (2001), para que las larvas puedan cumplir con todos los procesos de metamorfosis se requiere que las condiciones de calidad de agua sean óptimos, y analizando los datos de temperatura, oxígeno y salinidad del tratamiento aplicado con *Chlorella ellipsoidea,* se pudo observar que difieren de los demás, pudiendo ser esta la razón por la que se dio el retardo metamórfico.

### 4.2.4 Crecimiento de post larvas de *Loxechinus albus*

La mejor tasa de crecimiento diaria se obtuvo con *Navicula salinicola* (30.58 ± 4.07 µm.día$^{-1}$), al igual que en el resultado obtenido por Viana *et al.* (2007), que reportó crecimientos de 46.60 ± 3.4 µm.día$^{-1}$ con *Navicula* en comparación con *Amphiprora* (39.38 ± 1.1 µm.día$^{-1}$). Un aspecto relevante en este trabajo de investigación ha sido el crecimiento

post larval de *L. albus*, presentando un mejor resultado con la diatomea *Navicula salinicola* (917.33 um.), en comparación las demás microalgas utilizadas como dieta.

Esto ratifica los resultados obtenidos por Buitrago y Lodeiros (2005), donde las post larvas de *Lytechinus variegatus* alimentadas con *Navicula sp.* fueron un 60% más pesadas en comparación con *Amphora,* otro ejemplo es en post larvas de *Penaeus monodon* alimentadas con diatomeas como *Navicula*, *Amphora* y *Cymbella* , que después de 19 días, obtuvieron un aumento en la tasa de crecimiento de 0.27 g. y en la supervivencia de 56.3 % (Khatoon *et al*., 2008).

### 4.2.5 Supervivencia de post larvas de *Loxechinus albus*

En este cultivo postlarval, la mayor supervivencia se obtuvo al suministrar como alimento a *Phaeodactylum tricornutum* (37.16%), y la menor con *Navicula salinicola* con un 28,41%, mientras que los resultados obtenidos por Vera T. (2010) en cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* fueron de una supervivencia superior al 90% con 2 diatomeas bentónicas: *Navicula veneta* y *Amphiprora sp.* Sin embargo, no se puede establecer que la supervivencia dependió directamente del alimento, puesto que cada tratamiento se obtuvo de diferentes reproductores, además de desconocer los requerimientos nutricionales de

*L. albus* en esta etapa de su ciclo de vida, los cual hubiera permitido saber si era necesario utilizar una dieta multiespecífica.

## CONCLUSIONES

- Las cuatro microalgas investigadas en este trabajo presentan un alto contenido de proteína (40-59%), mientras que sus valores de grasa difieren entre ellos (3-22%) en un amplio rango, siendo cultivadas bajo las mismas condiciones.

- La técnica de cultivo en microalgas bentónicas en placas de policarbonato funcionó con las cuatro microalgas estudiadas, obteniendo una mejor producción con *Phaeodactylum tricornutum* ($1{,}68x10^{7}$ cel.$mL^{-1}$.)y la menor producción con *Navicula salinicola* ($4{,}99x10^{5}$ cel.$mL^{-1}$.), que fue la más sensible de cultivar.

- Con respecto al cultivo post larvario, se observó que no funciona con *Chlorella ellipsoidea*, ya que gran parte de los microorganismos aún permanecían en etapa larval al cabo de la primera semana de cultivo.

- La tasa de crecimiento diaria más alta se obtuvo en aquellas post larvas alimentadas con *Navicula salinicola* y *Phaeodactylum tricornutum,* alcanzando 30.58 ± 4.07 µm/día y 14.68 ± 2.06 $\mu m.día^{-1}$; mientras que el mejor crecimiento post larval fue de 917.33 µm y 440.30 µm. con las diatomeas anteriormente mencionadas.

- La mayor supervivencia post larval se logró con *Phaeodactylum tricornutum* (37.16%), seguida por *Tetraselmis striata* y *Navicula salinicola,* con un 30.12% y 28.41% respectivamente.

## RECOMENDACIONES

- Realizar un trabajo de investigación sobre los requerimientos nutricionales del *Loxechinus albus* en la etapa post larval.

- Desarrollar estudios sobre biopelículas con microalgas y bacterias específicas en la etapa post larval del *Loxechinus albus.*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


Andersen R. 2005. Algal Culturing Techinques. Counting Cells in Culture with the Light Microscope.239-252.

Anemaet, I.G., Bekker, M., and Hellingwerf, K.J. 2010. Algal photosynthesis as the primary driver for a sustainable development in energy, feed, and food production. Mar Biotechnol (NY) 12, 619-629.

Araya R., Bahamondes C., Barahona K. y Silva F. 2010. Utilización de una biopelícula microalgal multiespecífica para optimizar la fijación larval y el crecimiento de abalón (*Haliotis rufescens*) en un criadero comercial. Revista de Biología Marina y Oceanográfica 45 (1), 95-96

Arrau L. 1958. Desarrollo del erizo comestible en Chile, *Loxechinus albus* (Molina)

Astudillo D, J Rosas, A Velásquez, T Cabrera & C Maneiro. 2005. Crecimiento y supervivencia de larvas de *Echinometra lucunter* (Echinoidea: Echinometridae) alimentadas con las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana*. Revista de Biología Tropical 53 (3/4): 337-344.

Basuyaux, O. & Blin, J.L. 1998. Use of maize as a food source for sea urchins in a recirculating rearing system. Aquaculture international, 6 (3): 233-247.

Bückle, F., Guisado, Ch., Serrano, C., Córdoba, L., & Vásquez, E. 1977. Estudio del crecimiento en cautiverio del erizo *Loxechinus albus* (Molina) en las costas de Valparaíso y Chiloé, Chile. Centro Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México, 4 (1): 153-160

Buitrago E. y Lodeiros C. 2005. Producción de larvas y postlarvas del erizo verdiblanco del Caribe *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea) en condiciones de cultivo. Revista de Biología Tropical, vol. 53, núm. 3, -diciembre, 2005, pp. 319-328.

Bustos E., Godoy C., Olave S. y Troncoso R. 1991. Desarrollo de técnicas de producción de semilla y repoblamiento de recursos bentónicos. Cultivo masivo de juveniles de *L. albus* (Molina, 1782) (Echinoidea: Echinidae). Investigaciones pesqueras. 21 pp.

Bustos E. y Olave S. 2001. Manual: El Cultivo de Erizo (*Loxechinus albus*).

Butcher R. 1959. An introductory account of the smaller algae of British coastal waters. I. Introduction and Clorophyceae. Fish Invest. London 4:71-74.

Cardoso N. 2011. Photoprotection and Photoinhibition in the diatom *Phaeodactylum tricornutum.*Tesis para obtener el Grado de Magister en Biología Celular y Biotecnología.

Carrit, D. y Carpenter J. 1966. Comparison and evaluation of currently employed modications of the Winkler method for determining dissolved oxygen in seawater. J.Mar. Res., 24:286-318

Casas G., Rodríguez D. y Afanador G. 2010. Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz y su aplicación al crecimiento de los cerdos. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, vol. 23, núm. 3, julio-septiembre, 2010, pp. 349-358.

Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, 25: 294-306.

Fábregas J., Abalde J., Herrero C. 1989. Biochemical composition and growth of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different ammonium nitrogen concentration as chloride, sulphate, nitrate and carbonate. Aquaculture, 83: 289-304.

FAO. s.f Species Fact Sheeps. *Loxechinus albus (*Molina, 1782). Recuperado el 15 de julio del 2013 en http://www.fao.org/fishery/species/3621/en

Fenucci J. (1967). Contribución al conocimiento del crustáceo decápodo Braquiuro *Pinnaxodes chilensis* (M.Edwards), comensal de *Loxechinus albus* (Molina) (Echinodermata, Echinoidea).

Fernandez, C. & Pergent, G. 1998. Effect of different formulated diets and rearing conditions on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Journal of Shellfish Research, 17 (5): 1571-1581.

González L, J.C. Castilla & Ch. Guisado 1987. Effect of larval diet and rearing temperature on metamorphosis and juvenile survival of the sea urchin *Loxechinus albus* (Molina 1782) (Echinoidea, Echinidae). Journal of Shellfish Research 6(2): 109-115.

Greenwell, H.C., Laurens, L.M., Shields, R.J., Lovitt, R.W., and Flynn, K.J. 2010. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. J R Soc Interface 7, 703-726.

Gulland, J. 1971. Manual de métodos para la evaluación de las poblaciones de peces. Editorial Acribia.FAO. 164 pp

Halim, R., Gladman, B., Danquah, M.K., and Webley, P.A. 2011. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. Bioresource Technol 102, 178-185.

Hinegardner R.T. 1969. Growth and development of the laboratory cultured sea urchin. Biol. Bull., 137: 465-475.

Infante, C.; Angulo, E.; Zárate, A.; Florez, J.; Barrios, F.; Zapata, C. 2012. Propagación de la microalga *Chlorella sp*. en cultivo por lote: Cinética del crecimiento celular. Avances en Ciencias e Ingeniería, Abril-Junio, 159-164.

James, P.J. 2006b. A comparison of gonad enhancement of the sea urchin *Evechinus chloroticus* in sea based and land based cages. Aquaculture, 253: 290-300.

Khatoon H., Banerjee S., Yusoff F., y Shariff M. 2008. Evaluation of indigenous marine periphytic *Amphora, Navicula* and *Cymbella* grown on substrate as feed supplement in *Penaeus monodon* postlarval hatchery system. Aquaculture Nutrition In Press.

Larrain A. 1975. Los equinoideos regulares fósiles y recientes de Chile. Gayana (Zool.).

Lawrence J. 2007. Edible Sea Urchins: Biology and Ecology. Second Edition. Edible Sea Urchins: Use and Life-History Strategies. 1-6.

Leal S., Curbelo R., Vega X., Núñez N. y Hernández J. 2012. Método de dispersión de biopelículas en cultivos de la diatomea bentónica *Amphora sp*. para facilitar el conteo directo. Serie Oceanológica. No. 10.

Ledesma T. 2000. Reactivos de alto valor agregado en cultivos alternativos de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*. Tesis para obtener el Grado de Biólogo Marino.

Moheimani N., Borowitzka M., Isdepsky A. y Fon A. 2013. Standard Methods for Measuring Growth of Algae and Their Composition.

Moreno C. & Molinet C. 2011. El paradigma de la distribución batimétrica de *Loxechinus albus* (Molina) en Chile.

Ohse, S.; Derner, R.; Ozório, R.; Braga,M.; Cunha, P.; Lamarca, C.; Santos, M. 2008. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. Revista Biotemas, v. 21, n. 2, p. 7-18.

Padilla, M. 1975. Crecimiento poblacional de *Tetraselmis suecica* (Chlorophyceae) en ambiente controlado. Revista Biología Marina 15(3): 287-296.

Palacios M., Oyarzum S., Ovando F., Hidalgo H., Gonzáles P. y Barría R. 2012. Efecto de la densidad de cultivo sobre la sobrevivencia de larvas *Loxechinus albus*, cultivas en hatchery en la región de Magallanes.

Palacios M., Oyarzum S., Ovando F., Hidalgo H., Gonzáles P. y Barría R. 2012. Efecto de la dieta de microalgas sobre la morfometría y sobrevivencia larval *Loxechinus albus*, cultivado en la región de Magallanes, Chile.

Patrick, R.M. 1959. New subgenera and two new species of the genus Navicula (Bacillariophyceae). Notulae Naturae (Academy of Natural Sciences of Philadelphia) (324): 11 pp.

Ricker W. 1975. Computation and Interpretation of Biological Statistics of Fish Populations.

Roberts R. 2001. A review of settlement cues for larval abalone (*Haliotis sp*.). J. Shellfish Res. 20, 571–586.

Schlosser, S.C., Lupatsch, I., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L. & Shpigel, M. 2005. Protein and energy digestibility and gonad development of the European sea urchin *Paracentrotus lividus* fed algal and prepared diets during spring and fall. Aquaculture Research, 36 (10): 972.

Shpigel, M., McBride, S.C., Marciano, S., Ron, S. & Ben-Amotz, A. 2005. Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. Aquaculture, 245 (1-4): 101-109.

Senaratna, M., Evans, L.H., Southam, L. & Tsvetnenko, E. 2005. Effect of different feed formulations on feed efficiency, gonad yield and gonad quality in the purple sea urchin *Heliocidaris erythrogramma*. Aquaculture Nutrition, 11: 199–207.

Vera Tayron. 2010. Utilización de microalgas (diatomeas bentónicas) asociadas al perifiton sobre sustratos artificiales en el sistema de cultivo

de Camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*) realizado en la estación experimental de la camaronera Marinazul s.a. Tumbes – Perú. Tesis de Grado para la obtención del Título de Biólogo Marino.

Yamashiro C., Benites C., Zeballos J. y Tafur C. 1996. Algunos aspectos biológico-pesqueros del recurso erizo *Loxechinus albus* (Molina, 1782). IMARPE. Informe Progresivo N° 38: 31-46

Xu H., Miao X., Wu Q. 2006. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. Journal of Biotechnology. 126: 499–507.

Zamora S. y Stotz W. 1994. Cultivo masivo en laboratorio de juveniles de erizo *Loxechinus albus* (Molina, 1782), (Echinodermata: Echinoidea).

# ANEXOS

**Anexo 1: Solución A y B**

| Proline F/2 Algae Food ( Part A y Part B) | |
|---|---|
| **Preparación del Medio** | **En 1 litro** |
| Solución A<br>Solución B<br>$Na_2SiO_3$ | 0.13 mL.<br>0.13 mL.<br>0.013 g. |

**Anexo 2: Composición química del medio F/2 modificado (Guillard, 1973).**

| **Reactivo 1 (R1): Nitrato y Fosfato** | |
|---|---|
| **Reactivos** | **En 1 Litro (g.)** |
| $KNO_3$<br>$NaH_2PO_4.2\ H_2O$ | 75.00<br>5.65 |
| **Reactivo 2 (R2): Trazas de metales** | |
| **Reactivos** | **En 1 Litro (g.)** |
| $EDTA.Na_2$<br>$FeCl_3.6\ H_2O$<br>$CuSO_4.5\ H_2O$<br>$ZnSO_4.7\ H_2O$<br>$CoCl_2.6\ H_2O$<br>$MnCl_2.4\ H_2O$<br>$Na_2MoO_4.2\ H_2O$ | 4.360<br>3.150<br>0.010<br>0.022<br>0.010<br>0.180<br>0.006 |
| **Reactivo 3 (R3): Mezcla de vitaminas** | |
| **Reactivos** | **En 1 Litro (g.)** |
| Cyanocobalamina<br>Tamina HCl<br>Biotina | 0.002<br>0.100<br>0.001 |
| **Reactivo 4 (R 4): Solución de metasilicato de sodio por litro** | |
| **Reactivos** | **mL.** |
| $Na_2SiO_3.5\ H_2O$<br>$H_3ClO_4$ | 10.00<br>5.00 |

**Anexo 3: ANDEVA de Temperatura**

| | Suma de Cuadrados | Grados de Libertad | F | Significancia |
|---|---|---|---|---|
| **Inter-grupos** | 39.50 | 3 | 160.47 | 0.00 |
| **Intra-grupos** | 9.85 | 120 | | |
| **Total** | 49.35 | 123 | | |

**Anexo 4: ANDEVA de Oxígeno Disuelto**

| | Suma de Cuadrados | Grados de Libertad | F | Significancia |
|---|---|---|---|---|
| **Inter-grupos** | 0.78 | 3 | 0.26 | 0.85 |
| **Intra-grupos** | 1.58 | 16 | | |
| **Total** | 1.66 | 1 | | |

**Anexo 5: ANDEVA de Salinidad**

| | Suma de Cuadrados | Grados de Libertad | F | Significancia |
|---|---|---|---|---|
| **Inter-grupos** | 0.23 | 3 | 32.82 | 0.00 |
| **Intra-grupos** | 0.04 | 16 | | |
| **Total** | 0.27 | 19 | | |

## Anexo 6: Base de datos de post larvas

| *Tetraselmis striata* | | | *Phaeodactylum tricornutum* | | | *Navicula salinicola* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **PS** | **PI** | **PF** | **PS** | **PI** | **PF** | **PS** | **PI** | **PF** |
| 121.00 | 74.67 | 63.33 | 1574.67 | 453.67 | 158.67 | 519.67 | 214.67 | 178.33 |
| 373.33 | 340.00 | 346.67 | 433.33 | 380.00 | 460.00 | 520.00 | 473.33 | 460.00 |
| 426.67 | 373.33 | 360.00 | 446.67 | 440.00 | 460.00 | 466.67 | 460.00 | 433.33 |
| 406.67 | 380.00 | 366.67 | 380.00 | 466.67 | 433.33 | 553.33 | 446.67 | 426.67 |
| 393.33 | 400.00 | 406.67 | 453.33 | 440.00 | 433.33 | 513.33 | 440.00 | 453.33 |
| 413.33 | 406.67 | 386.67 | 460.00 | 453.33 | 440.00 | 493.33 | 460.00 | 420.00 |
| 420.00 | 393.33 | 326.67 | 413.33 | 466.67 | 400.00 | 440.00 | 446.67 | 473.33 |
| 373.33 | 353.33 | 346.67 | 453.33 | 420.00 | 446.67 | 460.00 | 460.00 | 433.33 |
| 426.67 | 380.00 | 373.33 | 413.33 | 426.67 | 440.00 | 446.67 | 446.67 | 460.00 |
| 380.00 | 413.33 | 373.33 | 473.33 | 453.33 | 426.67 | 486.67 | 453.33 | 446.67 |
| 420.00 | 360.00 | 386.67 | 413.33 | 433.33 | 440.00 | 473.33 | 453.33 | 480.00 |
| 400.00 | 366.67 | 413.33 | 373.33 | 413.33 | 440.00 | 480.00 | 460.00 | 480.00 |
| 420.00 | 366.67 | 360.00 | 433.33 | 460.00 | 440.00 | 426.67 | 453.33 | 453.33 |
| 386.67 | 386.67 | 380.00 | 420.00 | 466.67 | 426.67 | 520.00 | 433.33 | 466.67 |
| 406.67 | 393.33 | 390.00 | 453.33 | 466.67 | 406.67 | 486.67 | 446.67 | 453.33 |
| 380.00 | 400.00 | 400.00 | 426.67 | 413.33 | 420.00 | 473.33 | 493.33 | 486.67 |
| **PS** | **PI** | **PF** | **PS** | **PI** | **PF** | **PS** | **PI** | **PF** |
| 46.00 | 18.67 | 13.33 | 348.00 | 252.67 | 221.00 | 74.67 | 108.33 | 76.33 |
| 496.67 | 446.67 | 566.67 | 886.67 | 833.33 | 826.67 | 1453.33 | 1560.00 | 1460.00 |
| 446.67 | 606.67 | 466.67 | 680.00 | 880.00 | 1073.33 | 1460.00 | 1406.67 | 1466.67 |
| 513.33 | 523.33 | 526.67 | 1013.33 | 740.00 | 866.67 | 1073.33 | 1540.00 | 1720.00 |
| 473.33 | 433.33 | 456.67 | 1000.00 | 780.00 | 733.33 | 1386.67 | 1680.00 | 1466.67 |
| 486.67 | 503.33 | 466.67 | 680.00 | 900.00 | 680.00 | 1206.67 | 1586.67 | 1440.00 |
| 443.33 | 420.00 | 476.67 | 833.33 | 1173.33 | 780.00 | 1666.67 | 1253.33 | 1360.00 |
| 546.67 | 513.33 | 480.00 | 740.00 | 940.00 | 920.00 | 1646.67 | 1453.33 | 1580.00 |
| 430.00 | 543.33 | 410.00 | 1006.67 | 1020.00 | 893.33 | 1260.00 | 946.67 | 1480.00 |
| 480.00 | 520.00 | 410.00 | 906.67 | 1100.00 | 673.33 | 1033.33 | 1273.33 | 1360.00 |
| 446.67 | 740.00 | 425.00 | 1000.00 | 946.67 | 840.00 | 1280.00 | 1520.00 | 1433.33 |
| 456.67 | 465.00 | 515.00 | 946.67 | 986.67 | 813.33 | 1413.33 | 1366.67 | 1593.33 |
| 433.33 | 450.00 | 480.00 | 893.33 | 926.67 | 886.67 | 1226.67 | 1413.33 | 1200.00 |
| 486.67 | 465.00 | 425.00 | 886.67 | 800.00 | 953.33 | 873.33 | 1206.67 | 1333.33 |
| 456.67 | 515.00 | 410.00 | 773.33 | 1033.33 | 820.00 | 1360.00 | 1326.67 | 1566.67 |
| 436.67 | 675.00 | 460.00 | 733.33 | 906.67 | 666.67 | 1020.00 | 1500.00 | 1320.00 |

**PS: Placa superior**
**PI: Placa intermedia**
**PF: Placa de fondo**

**Anexo 7: Prueba de Normalidad de Datos**

| Dieta | | Kolmogorov-Smirnov[a] | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Estadístico | G.L. | Sig. |
| Longitud basal | *Tetraselmis striata* | 0.206 | 15 | 0.085 |
| | *Phaeodactylum tricornutum* | 0.147 | 30 | 0.096 |
| | *Navicula salinicola* | 0.149 | 45 | 0.053 |
| | *Chlorella ellipsoidea* | 0.194 | 40 | 0.051 |
| Longitud final | *Tetraselmis striata* | 0.188 | 15 | 0.162 |
| | *Phaeodactylum tricornutum* | 0.175 | 30 | 0.020 |
| | *Navicula salinicola* | 0.264 | 45 | 0.071 |
| | *Chlorella ellipsoidea* | 0.160 | 40 | 0.062 |

**Anexo 8: Prueba de Homocedasticidad de Varianzas**

| | Estadístico de Levene | $Gl_1$ | $Gl_2$ | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Longitud basal | 25.766 | 3 | 126 | 0.000 |
| Longitud final | 21.766 | 3 | 126 | 0.000 |