

J. Cremades¹, E. Casais¹, N. Curra¹, C. Lodeiros¹, J. Pintado², J. Oca³, I. Masaló³

***Ulva ohnoi* (Ulvales, Chlorophyta) como potencial biofiltro en sistemas de AMTI-RAS: Influencia del pH, reserva alcalina y concentraciones de N y P en su cultivo**

¹BioCost, Universidad de A Coruña, Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA). 15071 A Coruña, Galicia, Spain.

²Instituto de Investigacións Mariñas (IIM - CSIC), Eduardo Cabello 6, 36208 Vigo, Galicia, Spain.

³Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia. Universitat Politècnica de Catalunya - BarcelonaTECH. Esteve Terrades 8, 08860 Castelldefels, Catalunya, Spain.

E-mail: javier.cremades@udc.es

Abstract

The influence of pH oscillations, alkaline reserve variations and nitrogen and phosphorus concentrations on the growth of *Ulva ohnoi* is studied in order to optimize its integration into AMTI-RAS systems. The obtained results indicate that the growth of this species is not altered by the variations of pH but it is clearly affected by the decrease of the alkaline reserve. On the other hand, the concentrations of N within the wide range studied (2-82 ppm) hardly influence its growth. However, P levels above 0.6 ppm seem to block it. On the other hand, the increase of the nitrogen concentrations can mitigate the negative effects of the high concentrations of phosphorus.

Resumen

En el presente trabajo se estudia la influencia de las variaciones de pH, reserva alcalina, concentraciones de nitrógeno y fósforo en el crecimiento en cultivo de *Ulva ohnoi* con el fin de optimizar su integración en sistemas de AMTI-RAS. Los resultados obtenidos indican que el crecimiento de esta especie no se ve alterado por las variaciones de pH pero sí por la disminución de la reserva alcalina. Por otra parte las concentraciones de N dentro del amplio intervalo estudiado (2-82 ppm) apenas influyen en su crecimiento, sin embargo los niveles de P por encima de 0,6 ppm parecen bloquearlo. Por otro lado, el incremento de las concentraciones de nitrógeno puede mitigar los efectos negativos de las altas concentraciones de fósforo.

Justificación

En los sistemas de acuicultura multitrófica integrada (AMTI) es muy beneficioso emplear macroalgas que funcionan como trampas de nitrógeno y carbono reduciendo la carga de nutrientes proveniente de los efluentes de otros niveles tróficos. Las especies del género *Ulva* Linnaeus por su facilidad de cultivo, plasticidad biológica, capacidad de biofiltración y el valor y potencialidad de uso de la biomasa obtenida son ideales para su inclusión en los sistemas de AMTI, sobre todo en los sistemas de recirculación (RAS), donde pueden tener, además, un importante papel en la reducción de costes operacionales. Los trabajos llevados a cabo dentro del proyecto "IntegRAS": "Optimización del diseño y manejo de sistemas de cultivo multitróficos en recirculación peces-macroalgas (AGL2013-41868-R, MINECO) han concluido que la especie de *Ulva* de elección entre todas las ensayadas es *Ulva ohnoi* Hiraoka & Shimada. En los sistemas de AMTI-RAS peces-macroalgas los niveles de CO₂, N y P varían mucho en función de la masa de agua que consideremos, tanto por su producción por parte de los peces como por su consumo por parte de las algas, y estas variaciones podrían tener su influencia en el desarrollo de *U. ohnoi*. Además, la asimilación de carbono por parte de las algas durante la fotosíntesis modifica el pH del medio y puede ir agotando la reserva alcalina del agua, lo que también podría tener sus repercusiones. Es por ello que en este trabajo se pretende profundizar en la importancia que los niveles de N y P así como las variaciones de pH o alteraciones de la reserva alcalina del agua pueden tener en el crecimiento y composición química de *Ulva ohnoi* con vistas a la optimización del diseño y manejo de su cultivo en sistemas de IMTA-RAS.

Material y Métodos

Para la realización de este trabajo se han diseñado dos tipos de experiencias. Las encaminadas a conocer la influencia de las variaciones de pH y reserva alcalina del agua en el cultivo de *U. ohnoi* fueron llevadas a cabo mediante un sistema de cultivo en dos tanques de 50 l de capacidad en los que se inocularon inicialmente 200 gr de *U. ohnoi* (densidad 4 gr·l⁻¹). Ambos tanques tienen monitorizado el pH y uno de ellos además lo tienen regulado automáticamente a un máximo de 8,4 mediante inyección de CO₂. Esta experiencia se repitió en cuatro semanas consecutivas. Las 3 experiencias consecutivas, de 12 días de duración, relativas a conocer la influencia de los niveles de N y P, así como su posible interacción entre ambos nutrientes fueron llevadas a cabo mediante un diseño bifactorial ortogonal utilizando para ello placas para cultivos celulares en las que se colocan discos obtenidos a partir de la lámina de *U. ohnoi*. Estas placas fueron mantenidas en condiciones controladas de luz y temperatura en una cámara de simulación ambiental. En todas las experiencias se determinaron las biomásas iniciales y finales, tasas de crecimiento, consumo

de nutrientes y reserva alcalina. Todos los cultivos fueron mantenidos a una temperatura de 18 ± 0.2 °C, iluminación de $300 \pm 20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, fotoperiodo luz:oscuridad de 12:12 y una salinidad del 34 ‰. En las experiencias de pH y reserva alcalina el medio de cultivo empleado fue agua marina enriquecida con 20 ppm de N (NO_3Na), 0,5 ppm de P ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y oligoelementos. En el diseño bifactorial se construyó una matriz de combinación de 3 niveles de ambos nutrientes: 2, 42 y 82 ppm de N y 0,2, 0,6 y 1 ppm de P, con las cuatro réplicas de las condiciones medias (0,6P/42N) necesarias para el tratamiento estadístico.

Resultados y discusión

En cuanto a las primeras experiencias los resultados obtenidos muestran diferencias significativas tanto en las tasas de crecimiento como en la productividad de ambos sistemas, siendo estos parámetros significativamente mayores bajo condiciones de regulación de pH. Este efecto positivo parece ser debido más al mantenimiento de la reserva alcalina del medio de cultivo por la inyección de CO_2 que a la mitigación de las oscilaciones de pH, ya que en los primeros días de cultivo, a pesar de existir notorias diferencias en las variaciones del pH en las dos condiciones experimentales no existen, sin embargo, diferencias en productividad. Estas diferencias no se establecen hasta después del quinto día de cultivo (Figura 1).

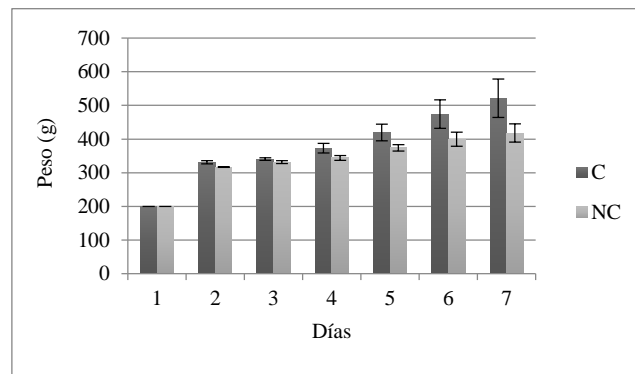


Figura 1. Evolución del peso húmedo en la condición de pH controlado (C) y no controlado (CN).

El modelo obtenido tras el análisis factorial sobre la influencia de las concentraciones de N y P en la tasa de crecimiento muestra que a bajas concentraciones de P los distintos niveles de N apenas influyen en la tasa de crecimiento. Sin embargo, existe una clara relación lineal negativa sobre la tasa de crecimiento con el aumento de la concentración de P. El modelo indica también que este efecto negativo del P se ve mitigado parcialmente con el aumento de la concentración de N, sobre todo en las concentraciones medias de N a altas concentraciones de P (Figura 2).

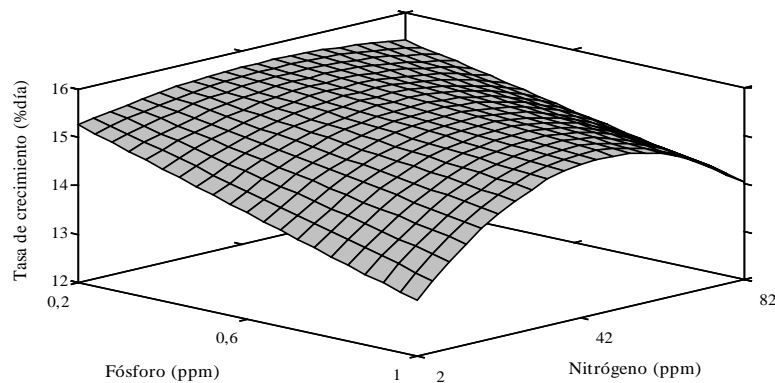


Figura 2. Superficie de respuesta de la tasa de crecimiento de *U. ohnoi* en función de las concentraciones de N y P del medio de cultivo según el modelo teórico obtenido ($r^2 = 0,8573$; p-valor = 0,004).

Estos resultados permiten concluir también que en un sistema AMTI-RAS en el que se integraran de forma balanceada peces y *U. ohnoi* la misión del mantenimiento de la reserva alcalina del agua la harán los peces con su aporte de CO_2 al medio. Por otra parte es muy importante no superar niveles de P de 0,5 ppm si no se quiere provocar un claro bloqueo en el crecimiento de las algas, sobre todo a bajos niveles de N.