



UNIVERSIDADE DA CORUÑA



**CICA**  
CENTRO DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS AVANZADAS



**CULTIVO DE *Ulva ohnoi*  
(ULVALES, CHLOROPHYTA):  
INFLUENCIA DE DIFERENTES  
TIPOS DE LUZ LED.**

**María Santos Solé**

*Tutor académico: Javier Cremades Ugarte*

**Trabajo final del Master en Acuicultura  
2022/2023**

## **AGRADECIMIENTOS:**

Me gustaría transmitir mi agradecimiento a todas aquellas personas que directa o indirectamente me han apoyado y ayudado a lo largo de esta etapa.

A mi tutor, Javier Cremades Ugarte, por su esfuerzo, apoyo, confianza y, sobre todo, por darme la oportunidad de realizar este trabajo junto a él y transmitir todos sus conocimientos y pasión por la investigación. A mis compañeros de laboratorio, Diego y Erika, por su paciencia, gran compañerismo, risas y por los buenos y no tan buenos momentos compartidos en el laboratorio. Gracias Fran, porque, aunque yo perdiese la esperanza, tu siempre has confiado en mí y animado para seguir adelante. Y quiero agradecer a mis padres y hermana, ya que gracias a ellos estoy viviendo esta gran experiencia que me permitió crecer a nivel profesional y cumplir una de mis metas, gracias por su cariño y apoyo.

Llevar a cabo este curso no ha sido tarea fácil, ha tenido una gran repercusión sobre mí y es por eso que, agradezco a todas aquellas personas que han estado durante este proceso.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	3
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	4
<b>OBJETIVO</b> .....	6
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	7
Especie estudiada.....	7
Cultivo stock .....	9
Medios de cultivo .....	9
Diseño experimental.....	9
Determinación de nitrógeno y fósforo .....	11
Determinación de la tasa de crecimiento y biofiltración. ....	12
Determinación de clorofilas .....	13
Análisis estadístico.....	14
<b>RESULTADOS</b> .....	15
<b>Tasa de Crecimiento:</b> .....	15
<b>Tasa de asimilación</b> .....	17
<b>Eficiencia de la biofiltración.</b> .....	21
<b>Clorofilas</b> .....	25
<b>DISCUSIÓN</b> .....	26
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	29
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	30

## RESUMEN

Las algas son organismos fotosintéticos y, es por ello, que la fuente de iluminación, entre otros, es una de las variables más importantes a la hora de realizar un cultivo, ya que puede afectar al crecimiento, composición, así como a sus propiedades nutritivas. De esta manera, la productividad de los sistemas de cultivo dependerá de los diferentes tipos de luz utilizados, no solo por la calidad de la fuente de iluminación sino también por el consumo energético que esta supone para la planta de cultivo, de tal manera que, se está incentivado el empleo de nuevos sistemas de iluminación como los LED. Por ello, este trabajo tiene como objetivo estudiar los efectos ocasionados por diferentes tipos de luces LED sobre *Ulva ohnoi* en la tasa de crecimiento, capacidad de biofiltración y la cantidad de clorofilas que presenta la biomasa obtenida. Con la finalidad de encontrar una fuente de iluminación que permita obtener la mayor productividad, calidad del cultivo y capacidad de biofiltración con el menor coste energético posible. Para ello se realizaron dos experimentos, uno a igual intensidad ( $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ) y otro a igual distancia (28 cm) donde se enfrentaron dos a dos los distintos tipos de luces: luz azul con luz roja, luz azul con luz magenta y, finalmente, luz azul con luz blanca.

Los resultados revelaron diferencias significativas para el crecimiento, así como para la biofiltración, siendo más efectivas las luces LED azules y blancas que la luz LED roja pura. Los dispositivos de luz LED rojos por si solos produjeron tasas de crecimiento mucho más bajas que otros tipos de LEDs. El consumo de cada tipo de luz jugó un papel importante cuando se comparan los diferentes tipos de luces más efectivas, oscilando desde valores de 28,3 W/h para la luz blanca hasta 11,9 W/h para la luz roja. Por otro lado, los resultados de la acumulación de pigmentos fotosintéticos no mostraron muchas diferencias significativas, pero si podemos ver que la concentración de *clorofila a* fue significativamente mayor bajo la influencia de luz LED roja y LED azul en comparación con otros tipos de luz.

**PALABRAS CLAVE:** *Ulva ohnoi*, intensidad, distancia, tasa de crecimiento, eficiencia biofiltración, clorofila.

## INTRODUCCIÓN

La acuicultura ha ido en aumento a lo largo del siglo XXI debido a su importante papel en la seguridad alimentaria y la nutrición. En 2020 se alcanzó un récord histórico en la producción pesquera y acuícola total con 214 millones de toneladas. Este crecimiento se debe al descenso de la pesca de captura de especies pelágicas que, a su vez, se ha compensado con el crecimiento continuado de la acuicultura. Aproximadamente el 89% de la producción mundial va destinada al consumo humano directo y se prevé para 2030 un aumento de la producción de alimentos acuáticos del 13% más (FAO, 2022).

A pesar de que la acuicultura presenta un impacto ambiental más bajo que otras actividades humanas destinadas a la producción de alimentos, uno de los problemas que conlleva la actividad acuícola junto a otras actividades, son los efectos negativos causados sobre la calidad del agua y los sedimentos. Esto se debe a que los efluentes acuícolas incrementan la concentración de distintos nutrientes disueltos (principalmente fósforo y nitrógeno) y materia orgánica particulada en forma de sólidos en suspensión en las zonas costeras, ocasionando un aumento de la eutrofización de los ecosistemas, así como la aparición de mareas verdes o *blooms* de fitoplancton, dañinos para el ecosistema (Bartoli et al., 2005; Liu et al., 2013; Lüning & Pang 2003; Macchiavello & Bulboa 2014; Marinho et al., 2013; Troell et al., 1999). Para mitigar estos efectos negativos sobre el medio ambiente y asegurar el futuro de la industria, en las últimas décadas ha aumentado el interés en desarrollar mejoras biotecnológicas o adoptar nuevas estrategias que sean beneficiosas tanto ambiental como socioeconómicamente sostenibles para los ecosistemas acuáticos, destacando entre otros, los sistemas de acuicultura multitrófica integrada (AMTI) (Guerrero & Cremades 2012; Hernández et al., 2005; Neori et al., 2004; Nobre et al., 2010).

Los sistemas de acuicultura multitrófica integrada son una de las líneas más prometedoras de investigación y desarrollo hacia la sostenibilidad de la acuicultura. En ellos, se combina la acuicultura extractiva de las algas con la acuicultura animal, creando sistemas balanceados en los que los desechos de una especie son reciclados, convirtiéndose en recursos para otras. (Chopin et al., 2001).

En los ecosistemas marinos y dulceacuícolas las algas son organismos biofiltradores por excelencia de nutrientes inorgánicos como son los nitratos y fosfatos, causantes principales de la eutrofización de las aguas. Es por ello que las algas son un elemento muy importante en los sistemas AMTI, no solo por la reducción de la carga de nutrientes proveniente de los efluentes de organismos animales (Del Río et al., 1996), sino porque también producen mejoras en otros aspectos como es el caso del oxígeno disuelto, el pH y los niveles de CO<sub>2</sub> en el agua, así como reducir los riesgos de enfermedades debido a la aparición de bacterias patógenas y oportunistas en sistemas de recirculación. (Hernández et al., 2008; Pintado et al., 2017).

Gracias a estudios previos (Lüning & Pang, 2003; Neori et al., 1991; Neori, 1996; Schuenhoff et al., 2003; Wang et al., 2007) se ha visto que las especies del género *Ulva* Linnaeus son potencialmente ideales para la biofiltración de los efluentes acuícolas e inclusión en los sistemas AMTI, debido a una serie de características: soportan salinidades variables, toleran altas concentraciones de nutrientes, muestran una alta tasa de crecimiento y eficiencia biofiltradora y son fácilmente cultivables mediante técnicas sencillas como la propagación vegetativa.

Además, estas especies son interesantes por su valor y potencialidad de uso: presentan un alto contenido en proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas, minerales, compuestos bioactivos y bajo contenido en lípidos, que las hace interesantes tanto en alimentación humana como en la propia alimentación de los cultivos, permitiendo la elaboración de piensos bajos en grasas y con tasas de aceptación más altas. (Plaza et al., 2008). También son utilizadas para la creación de materiales como biocauchos o la generación de biocombustibles entre otras aplicaciones. (Carrasco, 2008; Montingelli et al., 2015).

Las algas son organismos fotosintéticos y es por ello que la luz, entre otros, es una de las variables más importantes en su cultivo. Dependiendo de la intensidad y longitud de onda de la luz, pueden verse afectadas sus tasas de crecimiento, su composición química, así como sus propiedades nutritivas. (Sánchez-Saavedra et al., 2016).

De esta manera, la productividad de los sistemas dependerá de los diferentes tipos de luz utilizados, no solo por la calidad de la fuente de iluminación sino también por el consumo energético que esta supone para la planta de cultivo. Por ello, se está incentivando el empleo de nuevos sistemas de iluminación de menor consumo energético con alta eficiencia, entre los

que destacamos las luces de tipo LED. En los últimos años, la utilización de luces LEDs ha aumentado notablemente, haciendo que su mercado incremente generando una amplia variedad de marcas y modelos con menor potencia, pero con intensidades lumínicas mayores, ocasionando como resultado una reducción en el coste energético en dichas instalaciones (Laster et al., 2020).

Los sistemas de iluminación LED tienen una serie de ventajas con respecto a los sistemas de iluminación tradicional (Álvarez-Gómez et al., 2016): una elevada eficiencia debido a su alta luminosidad por energía consumida, poseen una gran disipación térmica, presentando una mayor durabilidad y vida útil (Glemser et al., 2016; López-Rosales et al., 2016; Montesdeoca et al., 2020) y se puede programar de forma sencilla, así como realizar muy fácilmente distintas combinaciones espectrales.

Numerosos estudios se han centrado en estudiar la intensidad de luz y la manipulación de los nutrientes para optimizar el crecimiento de las algas, pero pocos han sido los que han investigado sobre el efecto producido en las algas bajo la exposición a diferentes espectros de luz.

## **OBJETIVO**

Basándose en todo lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió en estudiar los efectos ocasionados por diferentes tipos de luces LED sobre *Ulva ohnoi* en la tasa de crecimiento, capacidad de biofiltración y la cantidad de clorofilas que presenta la biomasa obtenida. Con la finalidad de encontrar una fuente de iluminación que permita obtener la mayor productividad, calidad del cultivo y capacidad de biofiltración con el menor coste energético posible.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Especie estudiada

En este estudio se ha utilizado la especie *Ulva ohnoi* Hiraoka & Shimada (Figura 1) (Ulvales, Chlorophyta), siendo la especie más adecuada para el desarrollo de cultivos integrados con peces (lenguado senegales)-macroalgas en sistemas de recirculación de agua (AMTI-RAS) (Casais et al., 2017).

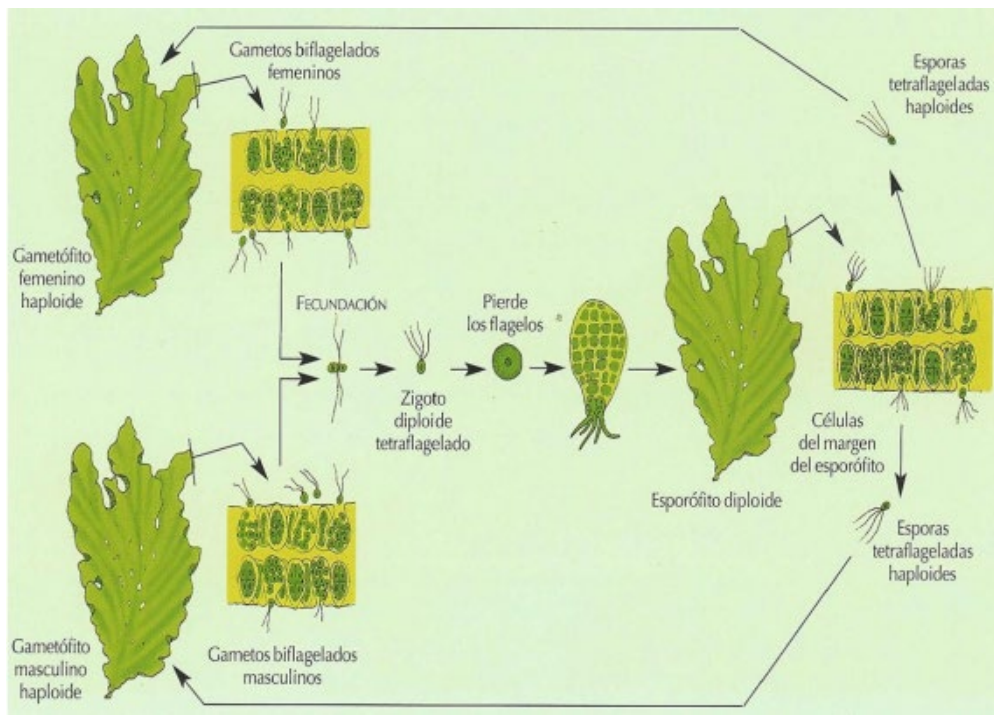
Esta especie fue originalmente descrita en las costas japonesas, aunque se ha visto que tiene una distribución prácticamente cosmopolita en aguas meridionales cálidas y con alta intensidad lumínica (Hiraoka et al., 2003; Miladi et al., 2018). En cuanto a sus características morfológicas destacan sus talos de color verde vivo y brillante, laminares diestromáticos con forma orbicular, ovada u obovada, en ocasiones irregular, los cuales se fijan al sustrato mediante un pequeño disco. Presentan un grosor que oscila entre 30-55  $\mu\text{m}$  en la zona apical y media, y entre 80-90  $\mu\text{m}$  en la zona basal. La lámina suele ser lisa en su margen, pero puede presentar protuberancias pequeñas originadas por células voluminosas o, incluso, suelen tener dientes marginales observables al microscopio. En las regiones apicales se encuentran células de gran tamaño poligonales o cuadrangulares, donde el cloroplasto posee de 1 a 3 pirenoides por célula (Hiraoka et al., 2003).

Al igual que el resto de especies del mismo género, presenta un ciclo de vida digenético, haplo-diplofásico, diplobióntico y con alternancia isomórfica de generaciones (Figura 2). También puede reproducirse por simple fragmentación y ser capaz de vivir en suspensión, por lo que es una especie capaz de formar mareas verdes si las condiciones del medio lo favorecen.





**Figura 1:** Ejemplar silvestre de *Ulva onhoi* Hiraoka & Shimada



**Figura 2:** Ciclo biológico de *Ulva* (Cremades Ugarte et al., 2002)

### Cultivo stock

Los ejemplares empleados en los distintos ensayos proceden del cultivo en suspensión en tanques de 160L con aireación, temperatura de  $18 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ , fotoperiodo de 12:12 horas (luz: oscuridad) y salinidad 34‰, compensando las pérdidas por evaporación añadiendo agua dulce, de una población silvestre recolectada en octubre de 2015 en la isla de Santa Cristina Huelva).

La identificación de la especie se realizó en base a sus características morfológicas y moleculares mediante la secuenciación del gen *rbcl*.

### Medios de cultivo

El medio de cultivo del stock consistió en agua de mar enriquecida con  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de nitrógeno a partir de  $\text{NaNO}_3$ ,  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de fósforo a partir de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y  $0,5 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1}$  de solución de oligoelementos (Tabla 1).

**Tabla 1:** Composición química de la solución de oligoelementos.

Oligoelementos	g para 1L
<b><math>\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math></b>	14
<b><math>\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	14
<b><math>\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}</math></b>	1,6
<b><math>\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	0,5
<b><math>\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></b>	0,2
<b><math>\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></b>	0,05

### Diseño experimental

Se llevaron a cabo dos experimentos: uno en el que los diferentes colores de luz (roja, azul, magenta y blanca) incidían sobre el cultivo con una misma intensidad lumínica de radiación PAR ( $350 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) y el otro donde los diferentes tratamientos se encontraban a la misma altura (28 cm) y, por tanto, a diferentes intensidades lumínica. Evidentemente en ambos casos

el gasto energético por color de luz y unidad de superficie es el mismo. En la tabla 2 se muestra de manera global las características de cada luz en cada una de las experiencias.

**Tabla 2:** Resumen de las características de cada una de las experiencias.

Color LED	Luz Azul	Luz Roja	Luz Magenta	Luz Blanca
Consumo	11,9 W/h	15,0 W/h	22,4 W/h	28,3 W/h
Distancia para una Intensidad lumínica de $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$				
Luz Azul-Luz Roja	28 cm	9 cm		
Luz Azul-Luz Magenta	28 cm		28cm	
Luz Azul- Luz Blanca	28 cm			36cm
Intensidad lumínica a una distancia de 28 cm entre los LED y las placas de cultivo				
Luz Azul-Luz Roja	$350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$		
Luz Azul-Luz Magenta	$350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$		$420 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	
Luz Azul- Luz Blanca	$350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$			$550 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Para cada tratamiento de luz, se utilizaron 8 placas para cultivos celulares de seis pocillos de 10 ml de la marca Falcon, mantenidas en una cámara de simulación ambiental Liebherr con unas condiciones de temperatura de  $18 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ , una agitación de 50 rpm mediante un agitador Skyline shaker Dos-20L, iluminación con Led MaxiLED y un fotoperiodo de 12:12 de luz: oscuridad.

En cada pocillo de las placas se cultivó un disco de 2 cm de diámetro obtenido de la zona apical-media de los ejemplares de *Ulva ohnoi* mediante perforación de la lámina con un sacabocados (cilindro de acero inoxidable). De esta manera, para cada tratamiento teníamos un total de 48 discos o réplicas.

En ambos experimentos, uno a igual intensidad y otro a igual distancia se enfrentaron dos a dos los distintos tipos de luces: luz azul con luz roja, luz azul con luz magenta y, finalmente, luz azul con luz blanca.

Cada una de las experiencias se llevó a cabo a lo largo de 11 días, durante los cuales se realizaron las siguientes actividades:

- Los cuatro primeros días fueron de aclimatación, donde la biomasa se acondiciona a las nuevas condiciones lumínicas. Durante estos días el medio utilizado era el del cultivo *stock*.
- El quinto día se tomó el peso húmedo de los discos para obtener el peso inicial, se les añadió el nuevo medio y se cultivaron en estas condiciones durante una semana realizando el cambio de medio cada dos días guardándose muestras de agua para su posterior análisis (consumo de N y P).
- Al final de la experiencia (día 11) se toman los datos de peso húmedo finales para así poder calcular la tasa de crecimiento tras la aclimatación

Las placas se rotaron todos los días en sentido horario para que todas recibieran la misma cantidad de luz. Finalmente, las muestras fueron aclaradas en agua destilada, secadas en estufa de tiro forzado (Memmert UF75) a baja temperatura y guardadas para posteriores análisis de pigmentos y composición química.

#### Determinación de nitrógeno y fósforo

El análisis de nitrógeno y fósforo se realizó con un espectrofotómetro HP 8433 UV-Visible (Figura 3).

El nitrógeno se determinó mediante el método APHA (1992), basado en la lectura de absorbancia del ión nitrato a 220 nm (ultravioleta).

El fósforo se determinó con el método de Grasshoff et al., (1999), siendo un método colorimétrico basado en la reducción y unión del molibdeno y fosfato, y posterior lectura de absorbancia a 880 nm (visible).



**Figura 3:** Espectrofotómetro UV- visible utilizado en los análisis (imagen izquierda), reacción del método de Grasshoff et al., en los análisis de fósforo (imagen derecha).

Determinación de la tasa de crecimiento y biofiltración.

Para calcular la tasa de crecimiento relativo (TCR, %/día) se midió el peso húmedo de cada uno de los discos mediante una báscula de precisión (RadWan Ps600.R2.), retirando previamente el exceso de agua con papel de filtro.

La tasa se calcula según la siguiente ecuación:

$$TCR = (100 * \ln \left( \frac{Pt}{Po} \right)) / t$$

Siendo:

- Pt: Peso final
- Po: Peso inicial
- t= Tiempo transcurrido (días)

La biofiltración se determinó mediante las medidas realizadas de nitrógeno y fósforo mencionadas anteriormente, proporcionando información sobre el consumo de nutrientes por parte del alga a medida que suceden los días y, por tanto, a medida que va aumentando su biomasa.

Para la tasa de asimilación (TA, ppm/día) se utilizó la siguiente ecuación:

$$TA = \frac{Ci - Cf}{t}$$

Siendo:

- Ci: Concentración inicial de nutriente
- Cf: Concentración final de nutriente
- t: Tiempo transcurrido (días)

En cuanto a la eficiencia de biofiltración (EB, % retirado) se utilizó la ecuación:

$$EB = \left( \frac{Ci - Cf}{Ci} \right) * 100$$

Siendo:

- Ci: Concentración inicial de nutriente
- Cf: Concentración final de nutriente

#### Determinación de clorofilas

Las clorofilas a, b y los carotenoides se determinaron cuantitativamente mediante métodos colorimétricos que emplean la acetona y el espectrofotómetro HP 8433 UV-Visible.

Para calcular la concentración de clorofilas a y b, presentes en el extracto se utilizan las fórmulas:

$$\text{Concentración clorofila a } \left( \frac{g}{l} \right) = 0.0127 (\text{Abs } 663) - 0.00269 (\text{Abs } 645)$$

$$\text{Concentración clorofila b } \left( \frac{g}{l} \right) = 0.0229 (\text{Abs } 645) - 0.00468 (\text{Abs } 663)$$

Para calcular la concentración de carotenoides totales (g/l) presentes en el extracto se hará mediante la fórmula:

$$\text{Carotenoides} = (\text{Abs } 460 [(clorofila a) * 3.69] + (clorofila b) * 130.3)] / 200$$

### Análisis estadístico.

Para todos los parámetros analizados se calcularon las medias y sus desviaciones estándar. En el estudio del efecto de los diferentes tipos de luz sobre el crecimiento de *U. ohnoi* la hipótesis de que el crecimiento no es diferente entre los distintos niveles de luz ensayados se analizó mediante un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) a un nivel de significación del 95%.

Cuando la hipótesis nula es rechazada, se utiliza el test de rango múltiple de Tukey para analizar qué tipos de luz tienen distintos efectos sobre el crecimiento de *U. ohnoi*. Dicho test se aplica en todos los casos con un nivel de significación del 95% (p-valor < 0.05)

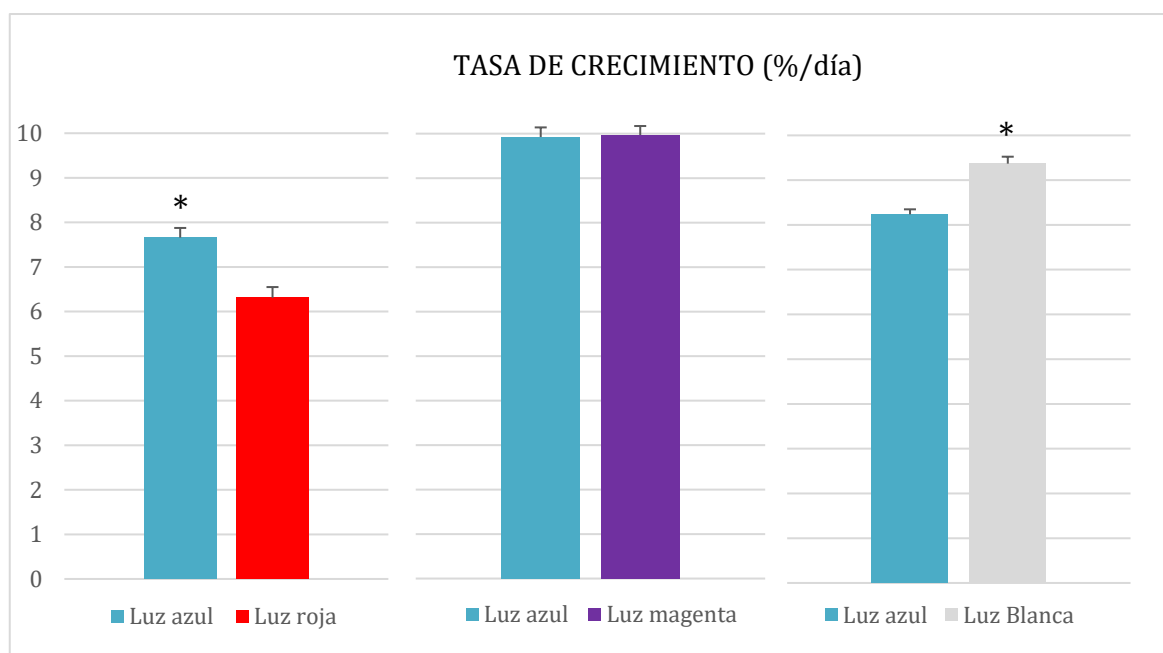
El programa estadístico utilizado para el análisis de los datos fue el Minitab 18 y los gráficos se realizaron con el programa Microsoft Excel 2010.

## RESULTADOS

### Tasa de Crecimiento:

Intensidad Lumínica  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

En el siguiente gráfico (Figura 4), podemos ver las distintas tasas de crecimiento obtenidas con las tres combinaciones de luces realizadas con las mismas intensidades lumínicas. Estas tasas oscilaron entre  $6 \pm 0,24$  y  $9,9 \pm 0,20$  %/día. Se observaron diferencias significativas ( $p\text{-valor} < 0,05$ ) en las experiencias de luz azul-luz roja, presentando una mayor tasa la azul y en luz azul-luz blanca, siendo en este caso mayor para luz blanca. En el caso de luz azul-luz magenta no se encontraron diferencias significativas ( $p\text{-valor} = 0,78$ ).

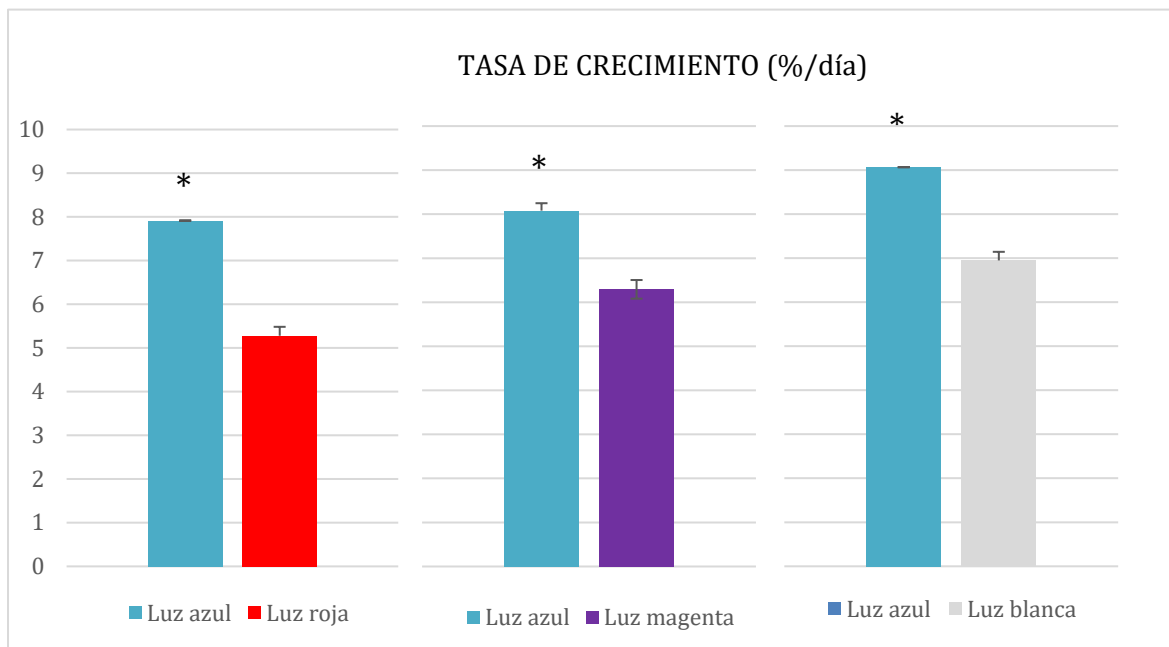


**Figura 4:** Gráficos de la tasa de crecimiento (%/día) para las tres combinaciones de luz realizadas a una intensidad lumínica de  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.



Distancia de 28 cm entre los LED y las placas de cultivo y diferentes intensidades.

En el siguiente gráfico (Figura 5), podemos ver las tasas de crecimiento obtenidas en las tres combinaciones de luces realizadas con mismas distancias. Estas tasas oscilaron entre  $5,3 \pm 0,20$  y  $9,1 \pm 0$  %/día. En este caso, se observaron diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) para todas ellas. Siendo en los tres casos mayor la tasa de crecimiento al utilizar la luz azul.

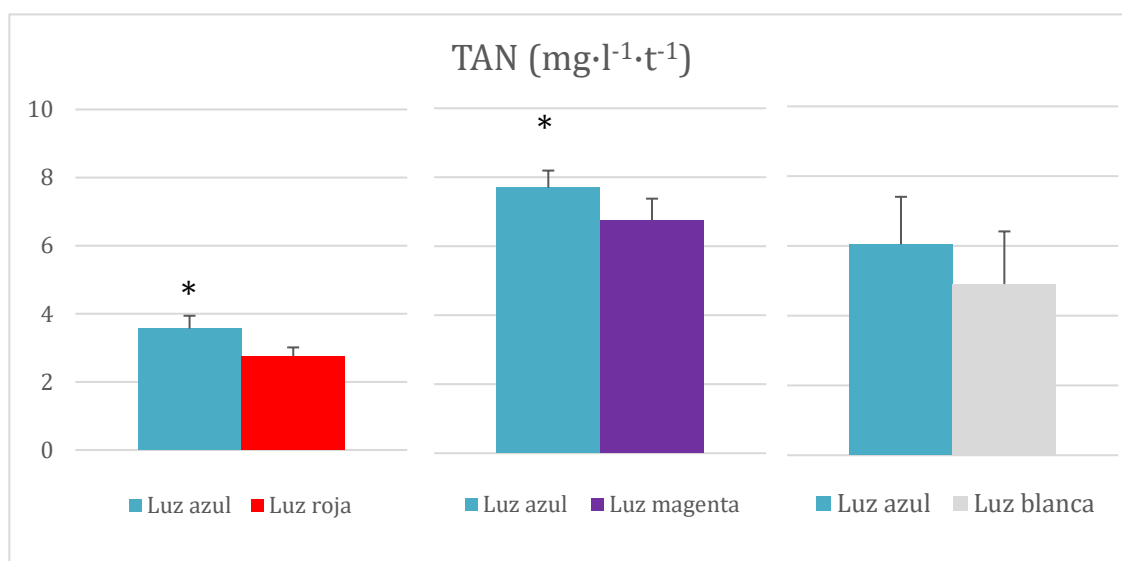


**Figura 5:** Gráficos de la tasa de crecimiento (%/día) para las tres combinaciones de luz realizadas a una distancia de 28 cm entre los LED y las placas. El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

## Tasa de asimilación

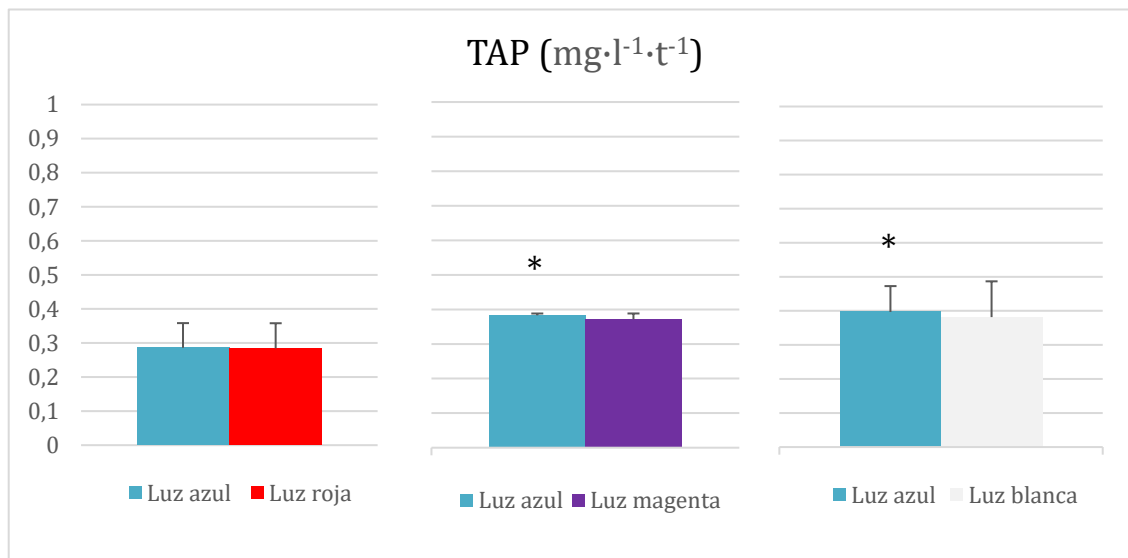
Intensidad Lumínica  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

- Como se puede apreciar en la figura 6 existen diferencias significativas en la tasa de asimilación de nitrógeno entre la luz azul - luz roja (p-valor = 0,000) y luz azul - luz magenta (p-valor = 0,000), teniendo una tasa media mayor para la luz azul: de 4,8 y 8,3 %, respectivamente. En la experiencia de luz azul - luz blanca no se obtuvo una diferencia significativa (p-valor = 0,214), aunque la media es mayor para la luz azul.



**Figura 6:** Gráficos de la tasa de asimilación ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{t}^{-1}$ ) del nitrógeno para las tres combinaciones de luz realizadas a una intensidad lumínica de  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

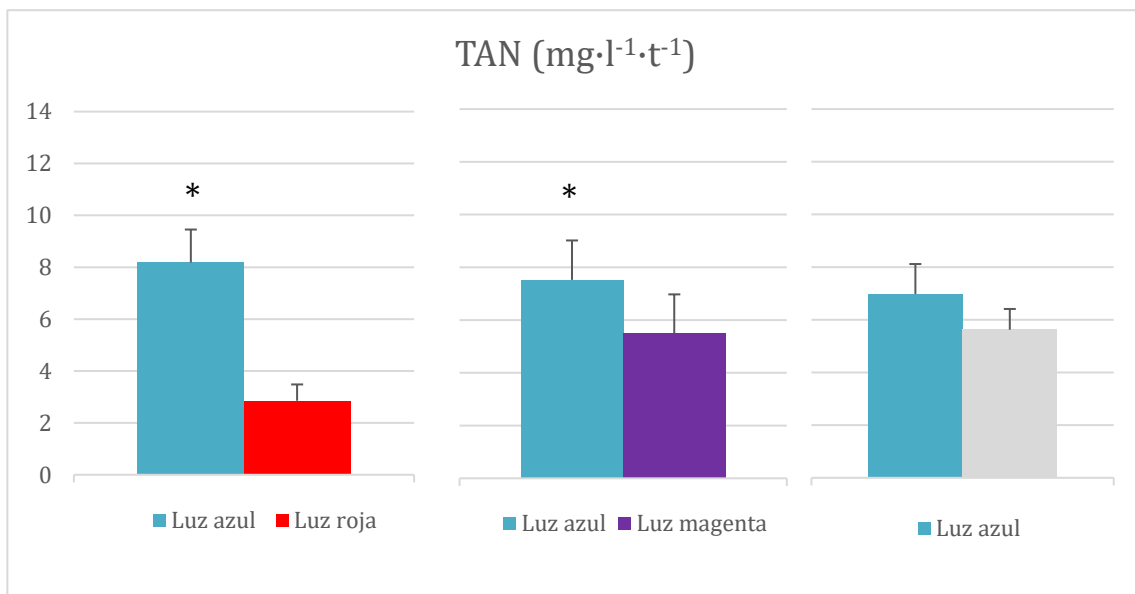
- Como se puede apreciar en la figura 6 para la tasa de asimilación de fósforo existen diferencias significativas entre la luz azul- luz magenta (p-valor = 0,021) y luz azul – luz blanca (p-valor = 0,000). En cambio, al comparar la luz azul con la luz roja no se encontraron diferencias significativas (p-valor = 0,072).



**Figura 7:** Gráficos de la tasa de asimilación ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{t}^{-1}$ ) del fósforo para las tres combinaciones de luz realizadas a una intensidad lumínica de  $350\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

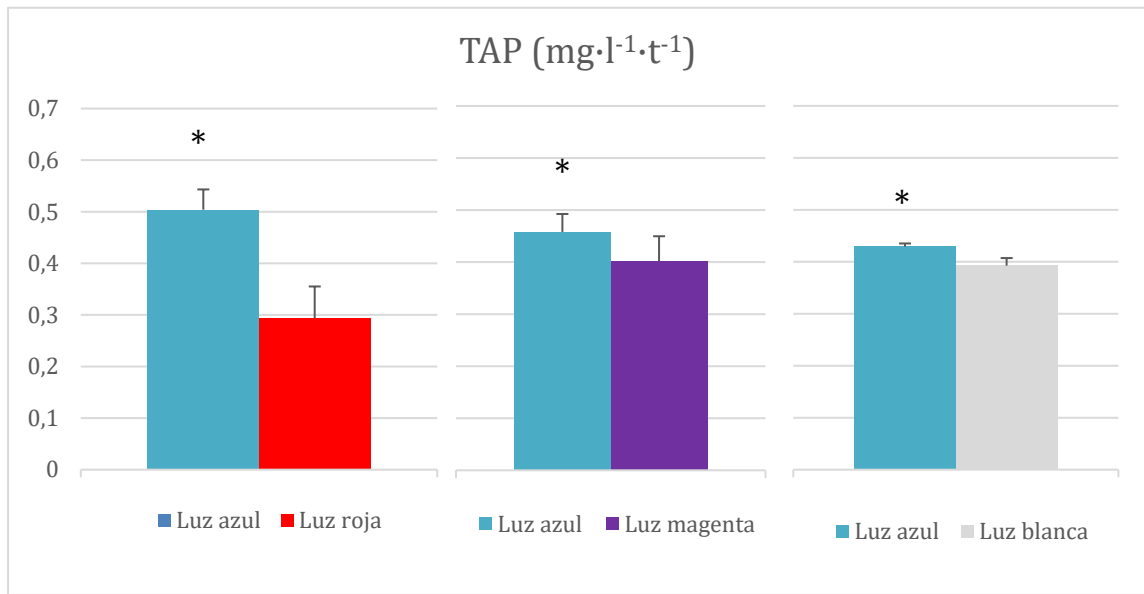
Distancia de 28 cm entre los LED y las placas de cultivo y diferentes intensidades.

- Como se puede apreciar en la figura 8 existen diferencias significativas en la tasa de asimilación del nitrógeno entre la luz azul – luz roja (p-valor = 0,000) y luz azul – luz magenta (p-valor = 0,000), teniendo una tasa media mayor para la luz azul: 5,75 y 7,45 %, respectivamente. En la experiencia de luz azul – luz blanca no se obtuvieron diferencias significativas (p-valor = 0,119), aunque la media es mayor para la luz azul (5,95).



**Figura 8:** Gráficos de la tasa de asimilación ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{t}^{-1}$ ) del nitrógeno para las tres combinaciones de luz realizadas a una distancia de 28 cm entre los LED y las placas. El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

- Como se puede apreciar en la figura 9 se observa que existen diferencias significativas en la tasa de asimilación del fósforo para todas las combinaciones de colores ( $p$ -valor = 0,000); siendo la media superior en todos los casos para la luz azul: 0,44, 0,47 y 0,43 %, respectivamente.

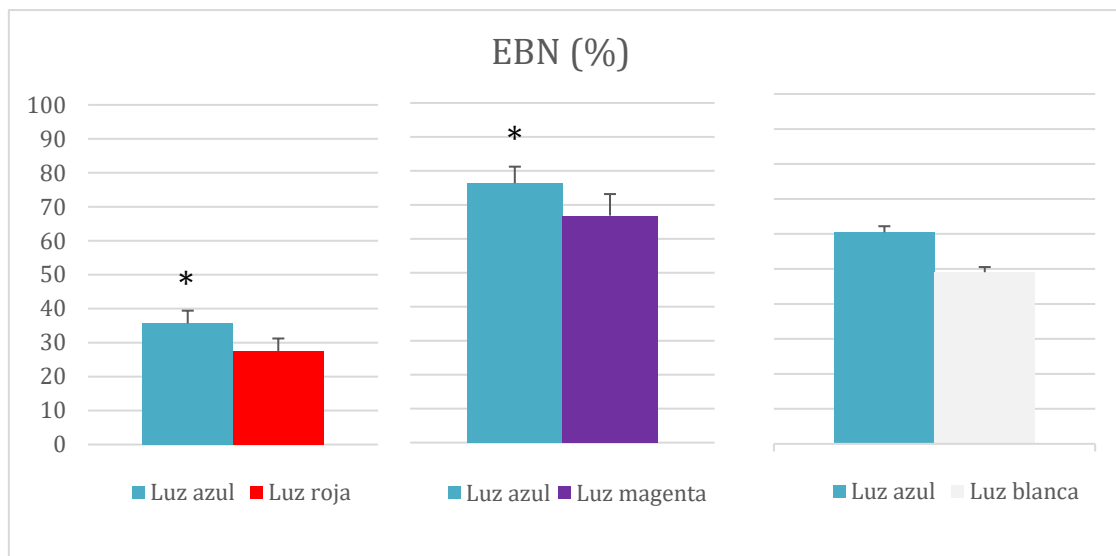


**Figura 9:** Gráficos de la tasa de asimilación ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{t}^{-1}$ ) del fósforo para las tres combinaciones de luz realizadas a una distancia de 28 cm entre los LED y las placas. El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

## Eficiencia de la biofiltración.

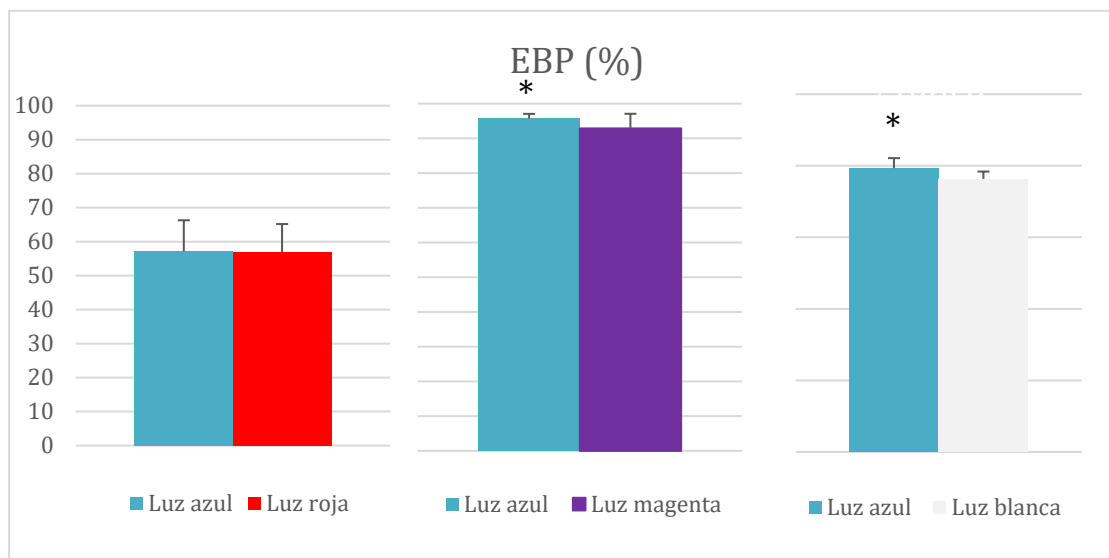
Intensidad Lumínica  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

- Como se puede observar en la figura 10 se observaron diferencias significativas en la eficiencia de biofiltración de nitrato entre luz azul – luz roja (p-valor = 0,000) y luz azul – luz magenta (p-valor = 0,000), siendo mayor en ambos casos para la luz azul, con una media de 24 y 82,2 %, respectivamente. En cambio, al combinar luz azul – luz blanca no se encontraron diferencias significativas a este respecto (p-valor de 0,214).



**Figura 10:** Gráficos de la eficiencia de la biofiltración (%) del nitrógeno para las tres combinaciones de luz realizadas a una intensidad lumínica de  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

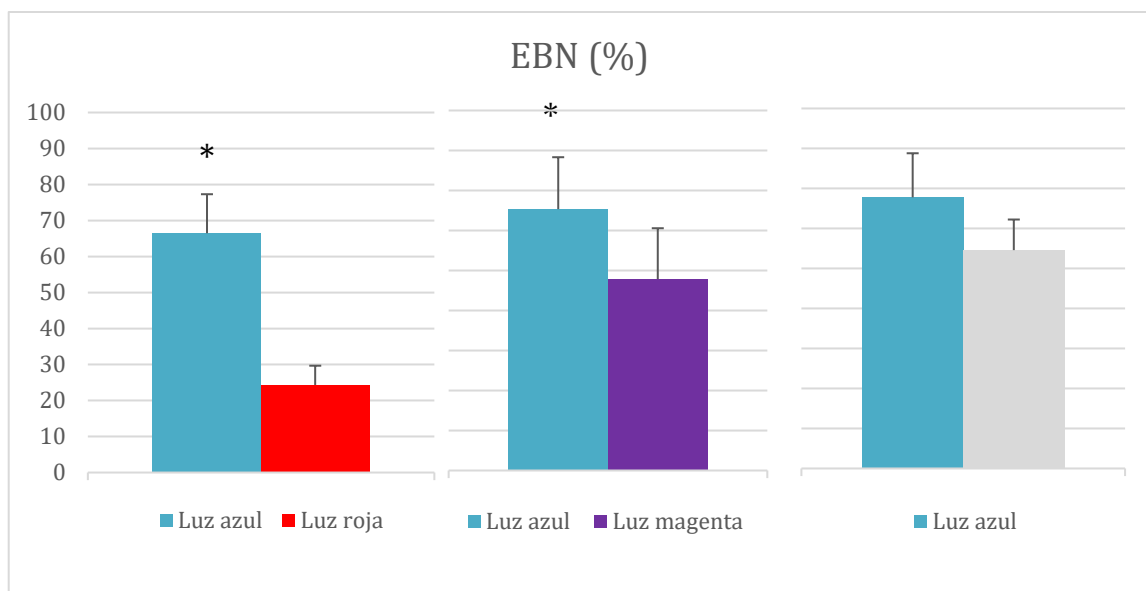
- Como se puede observar en la figura 11, se observaron diferencias significativas en la eficiencia de biofiltración de fósforo en las comparaciones entre luz azul – luz magenta (p-valor = 0,021) y luz azul – luz blanca (p-valor = 0,000). Encontrando una mayor eficiencia media de biofiltración para la luz azul en ambos casos: 97,7 y 80,0 %, respectivamente. Para la combinación de luz azul – luz roja, no se encontraron diferencias significativas (p-valor = 0,057).



**Figura 11:** Gráficos de la eficiencia de la biofiltración (%) del fósforo para las tres combinaciones de luz realizadas a una intensidad lumínica de  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

Distancia de 28 cm entre los LED y las placas de cultivo y diferentes intensidades.

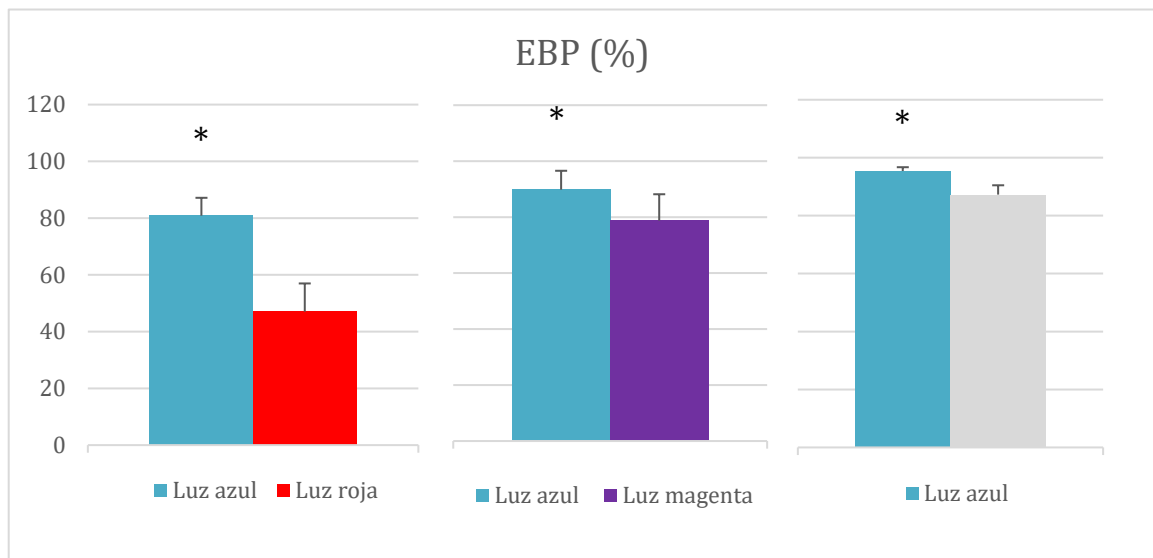
- Como se puede observar en la figura 12 se observaron diferencias significativas en cuanto a la eficiencia de biofiltración de nitrógeno entre luz azul – luz roja (p-valor = 0,000) y luz azul – luz magenta (p-valor = 0,000), siendo mayor en ambos casos para la luz azul, con una media de 48,9 y 64,7 %, respectivamente. En cambio, en la combinación luz azul – luz blanca no se encontraron diferencias significativas (p-valor = 0,119).



**Figura 12:** Gráficos de la eficiencia de la biofiltración (%) del nitrógeno para las tres combinaciones de luz realizadas a una distancia de 28 cm entre los LED y las placas. El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.



- Como se puede observar en la figura 13, en todos los casos se observan diferencias significativas en la eficiencia de biofiltración de fósforo: luz azul – luz roja (p-valor = 0,000); luz azul – luz magenta (p-valor = 0,000) y luz azul – luz blanca (p-valor = 0,000). Para todas ellas era mayor para la luz azul, siendo las medias de 71,2, 93,1 y 96,2 %, respectivamente.



**Figura 13:** Gráficos de la eficiencia de la biofiltración (%) del fósforo para las tres combinaciones de luz realizadas a una distancia de 28 cm entre los LED y las placas. El asterisco (\*) indica aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas.

## Clorofilas

En cuanto al contenido en clorofilas y carotenoides en la experiencia a una misma intensidad lumínica se encontraron diferencias significativas entre la luz azul y la luz roja en el contenido de clorofila a (p-valor = 0,012), así como en las clorofilas totales (p-valor = 0,046). Entre la luz azul y luz blanca se encontraron diferencias significativas (p-valor = 0,000) para la clorofila a, clorofila b, clorofilas totales y carotenoides. Entre la luz azul y magenta no se encontraron diferencias significativas en ningún caso. En cambio, para la experiencia donde la intensidad lumínica era diferente en cada tipo de tratamiento no se encontraron diferencias significativas para la concentración de clorofilas y carotenoides en ninguno de los casos. En la tabla 3 se muestran los diferentes valores obtenidos para los pigmentos fotosintéticos.

**Tabla 3:** Valores de los diferentes pigmentos fotosintéticos para las tres combinaciones de luz tanto para la misma intensidad como distancia. En rojo se muestran los valores que dieron diferencias significativas.

Intensidad lumínica de $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$						
	Luz azul-Luz roja		Luz azul-Luz magenta		Luz azul-Luz blanca	
Clorofila a ( $\mu\text{g/g}$ )	2,08	1,36	1,81	1,84	1,34	2,37
Carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ )	2,15	1,59	1,99	2,09	1,36	2,47
Clorofila b ( $\mu\text{g/g}$ )	3,25	2,41	1,74	1,22	2,06	3,74
Clorofilas totales ( $\mu\text{g/g}$ )	5,28	3,77	2,77	1,97	3,40	6,10
Distancia de 28 cm entre los LED y las placas de cultivo						
	Luz azul-Luz roja		Luz azul-Luz magenta		Luz azul-Luz blanca	
Clorofila a ( $\mu\text{g/g}$ )	0,39	0,38	1,64	1,51	1,19	1,41
Carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ )	0,31	0,44	1,75	1,65	1,39	1,66
Clorofila b ( $\mu\text{g/g}$ )	0,47	0,67	2,65	2,50	2,10	2,51
Clorofilas totales ( $\mu\text{g/g}$ )	0,86	1,05	4,29	4,01	3,28	3,93

## DISCUSIÓN

Las luces LED han revolucionado por completo la iluminación disponible para uso en acuicultura. En comparación, la iluminación fluorescente emite un espectro general y completo que alcanza una banda correcta para todas las macroalgas, pero también tiene mucha luz sobrante que las algas no necesitan para crecer, lo cual se convierte en energía desperdiciada, mientras las luces LED emiten un espectro más específico y su consumo, además, es muy inferior.

La intensidad lumínica es uno de los puntos claves relacionados con la luz, siendo un factor importante para mejorar el crecimiento. En estudios previos del laboratorio se observó que la intensidad óptima para el cultivo de discos de *Ulva ohnoi* en este tipo de pocillo se encontraba en unos  $350 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , de ahí el diseño de la primera experiencia, encontrándose que había grandes diferencias de distancia a las placas con cada tipo de luz para alcanzar dicha intensidad. Es por ello que se hizo la segunda experiencia a la misma distancia para estimar el mejor aprovechamiento energético real. En la mayoría de los casos comparados en ambas experiencias se encontraron diferencias significativas tanto para el crecimiento como para las tasas de asimilación y eficiencia de biofiltración de N y P a favor de la luz azul. En algunos casos no había diferencias entre el uso de luz azul y luz magenta o, incluso, se obtuvieron mejores resultados con luz blanca (Fig. 4). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el consumo de la luz magenta y la luz blanca es 2 y 3 veces superior a la azul (Tabla 2). Es curioso que en el caso de la experiencia a misma distancia el crecimiento con luz azul es significativamente superior que con la luz blanca (Fig. 5); esto puede ser debido a que la alta intensidad de la luz blanca a esa distancia pueda resultar en algún efecto de fotoinhibición. Si comparamos los datos de clorofilas y carotenoides en ambas experiencias con luz blanca se observa que cuando esta es elevada (experiencia de misma distancia) los valores de todos los pigmentos se reducen casi a la mitad (Tabla 3), lo que parece probar que esa fotooxidación está ocurriendo.

Los experimentos de crecimiento de *Ulva ohnoi* realizados con luces LED bajo la intensidad de luz de  $350 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  revelaron que las luces LED azules y blancas eran más efectivas para el crecimiento de algas que la luz LED roja pura, lo mismo que ocurre en otros ensayos realizados con anterioridad (Huang et al., 2021). Los dispositivos de luz LED rojos por si solos produjeron tasas de crecimiento mucho más bajas que otros tipos de LEDs. Estudios similares

con *Ulva lactuca* muestran resultados donde los LED azules contribuyen a las tasas de crecimiento más altas, mientras que los LED rojos condujeron a las tasas de crecimiento más bajas (Gong et al., 2020). Esto podría explicarse debido a que los fotones de una longitud de onda más corta tienen mayor probabilidad de golpear el complejo captador de luz de las células fototróficas y, por tanto, tener mayor eficiencia fotosintética (Das et al., 2011). Además, la luz azul no sólo interviene en la fotosíntesis y en la activación de la energía, sino que también puede controlar la síntesis de clorofilas y enzimas, formación de cloroplastos (Senger & Bauer 1987, Le et al., 2018), así como la activación de enzimas y regulación de la transcripción de genes (Ruyters, 1984).

Además, el aumento de crecimiento para la luz blanca puede explicarse debido a que dicha luz se compone de varias longitudes de onda y, por tanto, abarca todo el rango de actuación de los diferentes pigmentos, a diferencia de las luces monocromáticas que presentan un espectro más reducido. Por otro lado, aunque no se encontraron diferencias en el crecimiento entre la luz azul y la luz magenta, cuando hablamos de tasas de biofiltración de nutrientes, se obtuvieron mejores resultados para la luz azul. En este caso, donde no se encuentra una luz que sobresalga de la otra conviene entonces hablar del consumo de los diferentes tipos de luces. Como se puede observar en la tabla 2, el consumo de cada tipo de luz es diferente, presentando valores mayores para luz blanca (28,3 W) y menores para luz azul (11,9 W). Con esta información, cuando no se encuentran diferencias muy significativas entre los resultados obtenidos con la luz azul frente a la magenta o blanca se debe apostar por el uso de luz azul ya que es mucho más económica: 11,9 w/h frente a los 22,4 w/h y 28,3 w/h de las luz magenta y blanca, respectivamente.

De todo el espectro electromagnético de luz solo una fracción comprendida en el rango de longitudes de onda de 400 a 700 nm se usa en la fotosíntesis. Esta fracción también es conocida como radiación fotosintéticamente activa o PAR. (Korbee et al., 2005; Le et al., 2018). Las longitudes de onda absorbidas por las algas son diferentes según la especie, pero las algas verdes como en este caso *Ulva onhoi* absorben la energía de la luz a través del pigmento principal que son las clorofilas en el rango de 450-475nm y 630-675nm y de los pigmentos accesorios como son los carotenoides a 400-550nm. (Kim et al., 2013). Trabajos anteriores han demostrado que la iluminación con diferentes longitudes de onda de luz específica no sólo mejora el crecimiento del alga, sino también influyen en la acumulación de productos de alto valor económico, como distintos polisacáridos o pigmentos (Chainapong et al., 2012; Ho et al., 2014; Kim et al., 2013,).

Al igual que para el crecimiento, la luz es importante cuando hablamos de síntesis de clorofila, debido a que se encuentra regulada por interacciones entre los fotorreceptores y sus formas fotoconvertibles y el rango de longitudes de onda específicas (Le et al., 2018; Terry 1986). El uso de LEDs suministra rangos de longitud de onda específicos, como se ha podido ver en este ensayo, de los cuales podemos destacar el azul, el rojo y el blanco capaces de ser captados por clorofilas y otros receptores como fitocromos o criptocromos (Schulze et al., 2014). Este efecto de la fuente de luz sobre el metabolismo de las células algales puede explicarse a través de la composición espectral de la luz emitida por los complejos captadores de luz de algas verdes y plantas superiores (Matthijs et al., 1996) como es en nuestro caso *Ulva ohnoi*, filogenéticamente dentro del reino Plantae.

La riqueza en pigmentos fotosintéticos en *Ulva ohnoi* en las distintas experiencias no mostró muchas diferencias significativas, pero sí podemos hacer notar que la concentración de *clorofila a* fue significativamente mayor bajo la influencia de luz roja y luz azul en comparación con los otros tipos de luz. Autores anteriores ya hicieron notar que otras algas verdes como *Ulva prolifera* y *U. lactuca* tenían un mayor contenido en *clorofila a* en el cultivo bajo luz LED roja en comparación con las luces LED blancas y azules (Takada et al., 2011; Gong et al., 2020). Por otro lado, estudios como el de López-Figueroa y Niell (1989) y Le et al. (2018) demostraron que la síntesis de clorofilas se encuentra inducida bajo luz azul para *Ulva rígida* y *U. pertusa*.

## CONCLUSIÓN

Los resultados de nuestros experimentos indican que las luces LED azules y blancas son una mejor fuente de luz que los LED rojos para el cultivo en tanque de *Ulva ohnoi* debido a su mejora en el crecimiento y tasas de biofiltración de N y P, destacando la azul tabto por sus mejores resultados en general como su mucho menor consumo energético. Nuestros resultados enfatizan la importancia de la selección de la adecuada fuente de luz en el cultivo de macroalgas en sistemas *indoor*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Gómez, F., del Rosal, Y., Guzmán, R., Mohamed, S., Merino, S., Hernández-Mariné, M., Korbee, N. & Figueroa, F. L. (2016). Selección de sistemas de iluminación LEDs en cuevas basado en los espectros de acción de la fotosíntesis: reducción del biodeterioro de espeleotemas por biofilms de algas y cianobacterias. En Bartolomé Andreo Navarro y Juan José Durán Valsero (2016) VI Congreso español sobre Cuevas Turísticas. El Karst y el hombre: las cuevas como Patrimonio de la humanidad. *Asociación Española de Cuevas Turísticas (ACTE)*, 71-79
- APHA, (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition, American Public Health Association (APHA), *American Water Works Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF)*, Washington DC.
- Bartoli, M., Nizzoli, D., Naldi, M., Vezzulli, L., Porrello, S., Lenzi, M., Viaroli, P. 2005. Inorganic nitrogen control in wastewater treatment ponds from a fish farm (Orbetello, Italy): Denitrification versus *Ulva* uptake. *Marine Pollution Bulletin*, 50(11), 1386–1397.
- Carrasco F. 2008. Biocauchos que nacen en el mar. *Ambienta*, 83:45-52
- Casais, E., Couce, A., Alamrousi, A. & Cremades, J. (2017). Calidad commercial de distintas especies de *Ulva* (Ulvales, Chrolophyta) potencialmente cultivables en sistemas de acuicultura multitrófica integrada (AMTI) en recirculación (RAS). In: Rey- Méndez, M., Lodeiros, C., Fernández Casal, J. & Guerra A. (Eds.) Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 19, 227-234
- Chainapong, T., Traichaiyaporn, S., & Deming, R. L. (2012). Effect of light quality on biomass and pigment production in photoautotrophic and mixotrophic cultures of *Spirulina platensis*. *J. Agric. Technol*, 8(5), 1593-1604.
- Chopin T, Buschmann AH, Halling C, Troell M, Kautsky N, Neori A, Kraemer GP, Zertuche-González JA, Yarish C and Neefus C. 2001. Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: A Key toward Sustainability. *Journal of Phycology* 37, 975-986
- Cremades Ugarte J., Bárbara, I. & Veiga, A.J. (2002) Algas. En: Proyecto Galicia, Naturaleza, Tomo XLI. Botánica I. Hércules Ediciones, S.A. A Coruña. pp. 384-557.

- Das, P., Lei, W., Aziz, S. A. A., & Obbard, J. P. (2011). Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. *Bioresource Technology*, 102(4), 3883-3887. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.102>
- Del Río M.J., Ramazanov Z., García-Reina G. (1996). *Ulva rigida* (Ulvales.Chlorophyta) tank culture as biofilters for dissolved inorganic nitrogen from fishpond effluents. *Hydrobiologia*, 326, 61-65.
- FAO. (2022). *El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura 2022. Hacia la Transformación Azul*. Roma, FAO.
- Glemser, M., Heining, M., Schmidt, J., Becker, A., Garbe, D., Buchholz, R. & Brück, T. (2016). Application of light-emitting diodes (LEDs) in cultivation of phototrophic microalgae: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100(3), 1077–1088. <https://doi.org/10.1002/bit.25014>
- Gong J, Liu Z, Zou D. 2020. Growth and photosynthetic characteristics of *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) cultured under fluorescent light and different LED light. *Journal of Applied Phycology*. DOI: 10.1007/s10811-020-02151-y.
- Grasshoff, K., Kremling, K. & Ehrhardt, M. (1999). *Methods of seawater analysis*. Weinheim (Federal Republic of Germany): Wiley-vch.
- Guerrero, S. & J. Cremades (eds.) (2012). *Acuicultura Multitrófica Integrada. Una alternativa sostenible y de futuro para los cultivos marinos de Galicia*. Edita: XUNTA DE GALICIA, Consellería do Medio Rural e do Mar, Centro de Investigacións Mariñas. Vilanova de Arousa (Pontevedra),
- Hernández. I., Fernández-Engo, M. A., Pérez-Lloréns, J. L., Vergara, J. J. 2005. Integrated outdoor culture of two estuarine macroalgae as biofilters for dissolved nutrients from *Sparus aurata* waste waters. *Journal of Applied Phycology*, 17(6), 557–567.
- Hernández, I., Pérez-Pastor, A., Mateo, J. J., Megina, C., Vergara, J. J. 2008. Growth dynamics of *Ulva rotundata* (Chlorophyta) in a fish farm: Implications for biomitigation at a large scale. *Journal of Phycology*, 44(4), 1080–1089.



- Hiraoka, M., Shimada, S., Uenosono, M. & Masuda, M. (2003). A new green-tide- forming alga, *Ulva ohnoi* Hiraoka et Shimada sp. nov. (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan. *Phycological Research*, 51, 17-29.
- Ho, S., Chan, K. M., Liu, C., Chen, C., Lee, W., Lee, D., & Chang, J. S. (2014). Enhancing lutein productivity of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* FSP-3 using light-related strategies. *Bioresource Technology*, 152, 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.031>
- Huang, S., Li, K., Pan, Y., Yu, Y., Wernberg, T., De Bettignies, T., Wu, J., Zhou, C., Huang, Z., & Xiao, X. (2021). Artificial light source selection in seaweed production: growth of seaweed and biosynthesis of photosynthetic pigments and soluble protein. *PeerJ*, 9, e11351. <https://doi.org/10.7717/peerj.11351>
- Kim, T., Lee, Y., Han, S., & Hwang, S. (2013). The effects of wavelength and wavelength mixing ratios on microalgae growth and nitrogen, phosphorus removal using *Scenedesmus* sp. for wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 130, 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.134>
- Korbee, N., Figueroa, F. L., & Aguilera, J. M. (2005). Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Photochemistry and Photobiology B-biology*, 80(2), 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.03.002>
- Lastres, M., Da Costa, F., Maeda-Martínez, A. N., Figueira, I., & Casais, E. (2020). Nuevos índices para evaluar distintos tipos de luz LED y fluorescente en el cultivo de fitoplancton utilizados en criaderos de moluscos bivalvos. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura*, 2(3), 182-192.
- Le, B., Shin, J.-A., Kang, M.-G., Sun, S., Yang, S. H., & Chung, G. (2018). Enhanced growth rate and ulvan yield of *Ulva pertusa* using light-emitting diodes (LEDs). *Aquaculture International*, 26(4), 937-946. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0260-4>
- Liu, F., Pang, S., Chopin, T., Gao, S., Shan, T., Zhao, X., Li, J. 2013. Understanding the recurrent large-scale green tide in the Yellow Sea: Temporal and spatial correlations between multiple geographical, aquacultural and biological factors. *Marine Environmental Research*, 83, 38-47.

- López-Figueroa, F., & Niell, F. (1989). Red-light and blue-light photoreceptors controlling chlorophylla synthesis in the red alga *Porphyra umbilicalis* and in the green alga *Ulva rigida*. *Physiologia Plantarum*, 76(3), 391-397. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb06209.x>
- López- Rosales, L., García – Camacho, F., Sánchez – Mirón, A., Martín Beato, E., Chisti, Y. & Molina Grima, E. (2016). Pilot-scale bubble column photobioreactor culture of a marine dinoflagellate microalga illuminated with light emission diodes. *Bioresource Technology*, 216, 845-855. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.027>
- Lüning, K. & Pang, S., 2003. Mass Cultivation of Seaweed: Current Aspects and Approaches. *Journal of Applied Phycology*, 15, 115–119.
- Miladi, R., Manghisi, A., Armeli Minicante, S., Genovese, G., Abdelkafi, S. & Morabito, M. (2018). A DNA barcoding survey of *Ulva* (Chlorophyta) in Tunisia and Italy reveals the presence of the overlooked alien *U. ohnoi*. *Cryptogamie, Algologie*, 39 (1), 85-107.
- Marinho, G., Nunes, C., Sousa-Pinto, I., Pereira, R., Rema, P., Valente, L. M. P. 2013. The IMTA-cultivated Chlorophyta *Ulva* spp. as a sustainable ingredient in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Journal of Applied Phycology*, 25(5), 1359–1367.
- Macchiavello, J. & Bulboa, C., 2014. Nutrient uptake efficiency of *Gracilaria chilensis* and *Ulva lactuca* in an IMTA system with the red abalone *Haliotis rufescens*. *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 42(3), 523–533.
- Matthijs, H.C., Balke, H., van Hes, U.M., Kroon, B.M., Mur, L.R., Binot, R.A., 1996. Application of light-emitting diodes in bioreactors: flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*). *Biotechnol. Bioeng.* 50, 98–107. [doi:10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19960405\)50:1<98::AID-BIT11>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19960405)50:1<98::AID-BIT11>3.0.CO;2-3)
- Montesdeoca, M. G. B., Seijo, C. L., Vivenes, E. Z., & Mingo, J. J. A. (2020). Efecto de luces LED y fluorescentes sobre el crecimiento y la biomasa de *Thalassiosira pseudonana* (Cleve, 1873). *La Técnica: Revista de las Agrociencias*. ISSN 2477-8982, (24), 01-08.
- Montingelli M. E., Tedesco S. & Olabi A. G. (2015) Biogas production from algal biomass: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 43: 961-972.
- Neori, A., Cohen, I. & Gordin, H., 1991. *Ulva lactuca* biofilter for marine fishpond effluents: II. Growth rate, yield and C:N ratio. *Botanica Marina*, 34, pp.389–398.

- Neori, A., 1996. The type of N-supply (ammonia or nitrate) determines the performance of seaweed biofilters integrated with intensive fish culture. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 48(1), 19–27.
- Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A. H., Kraemer, G. P., Halling, C., Shpigel, M., Yarish, C. 2004. Integrated aquaculture: Rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231, 361–391.
- Nobre, A. M., Robertson-Andersson, D., Neori, A., Sankar, K. 2010. Ecological-economic assessment of aquaculture options: Comparison between abalone monoculture and integrated multi-trophic aquaculture of abalone and seaweeds. *Aquaculture*, 306, 116–126.
- Pintado, J., Ruiz, P., Cremades, J., Masaló, I., Jiménez, P. & Oca, J. (2017). Co-culting *Ulva ohnoi* with antagonistic *Phaeobacter* bacteria as a strategy to protect fish- algae IMTA-RAS cultures from vibriosis. En *Aquaculture Europe 2017*, Dubrovnik, Croatia
- Plaza M., Cifuentes A. & Ibáñez E. (2008). In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 31–39.
- Ruyters, G., 1984. Effects of blue light on enzymes. In: Senger, H. (Ed.), *Blue Light Effects in Biological Systems*. Springer Verlag, Berlin, pp. 283–301.
- Sánchez-Saavedra, M.P., Maeda-Martínez, A.N. & Acosta-Galindo, S. (2016). Effect of different light spectra on the growth and biochemical composition of *Tisochrysis lutea*. *J. Applied Phycology*, 28, 839-847. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0656-8>.
- Schuenhoff, A., Shpigel, M., Lupatsch, I., Ashkenazi, A., Msuya, F. E., Neori, A. 2003. A semi-recirculating, integrated system for the culture of fish and seaweed. *Aquaculture*, 221(1–4), pp.167–181.
- Schulze, P.S.C., Barreira, L.A., Pereira, H.G.C., Perales, J.A., Varela, J.C.S., 2014. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends Biotechnol.* 32, 422–30. doi:10.1016 /j.tibtech.2014.06.001
- Senger, H., & Bauer, B. E. (1987). The influence of light quality on adaptation and function of the photosynthetic apparatus. *Photochemistry and Photobiology*, 45:939-946. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1987.tb07905.x>

- Takada J, Murase N, Abe M, Noda M, Suda Y. 2011. Growth and Photosynthesis of *Ulva prolifera* under Different Light Quality from Light Emitting Diodes (LEDs). *Aquaculture Science* 59:101–107. DOI: 10.11233/aquaculturesci.59.101.
- Terry, K.L., 1986. Photosynthesis in modulated light: quantitative dependence of photosynthetic enhancement on flashing rate. *Biotechnol. Bioeng.* 28, 988–995
- Troell, M., Rönnabäck, P., Halling, C., Kautsky, N., Buschmann, A. 1999. Ecological engineering in aquaculture: Use of seaweeds for removing nutrients from intensive mariculture. *Journal of Applied Phycology*, 11(1), 89–97.
- Wang, H., Liu, C., Qin, C., Cao, S., Ding, J. 2007. Using a macroalgae *Ulva pertusa* biofilter in a recirculating system for production of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquacultural Engineering*, 36(3): 217–224.