

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISION DE OCEANOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA



EVALUACIÓN NUTRICIA DE MICROALGAS MARINAS EN
CULTIVOS COMERCIALES DE LARVAS DE CAMARÓN BLANCO
(*Litopenaeus vannamei*).

TESIS

Que para cubrir los requisitos necesarios para obtener el grado de MAESTRO
EN CIENCIAS presenta:

MARIA DEL REFUGIO LOPEZ TAPIA.

Ensenada, Baja California, México. Noviembre del 2002.

**EVALUACIÓN NUTRICIA DE MICROALGAS MARINAS EN CULTIVOS
COMERCIALES DE LARVAS DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei***
(Boone, 1931).

I.- INTRODUCCION

Se han desarrollado numerosas aplicaciones de las microalgas, en diversos campos tecnológicos, en cultivos masivos, vivas o procesadas, destacando su utilización en la acuicultura. En la industria farmacéutica y biotecnológica, la producción masiva de microalgas ha tomado un creciente interés por ser fuentes de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS), tales como los ácidos eicosapentaenoico (EPA, por sus siglas en inglés), 20:5 ω -3 y docosahexaenoico (DHA por sus siglas en inglés), 22:6 ω -3, los cuales participan en diversas actividades biológicas (Kinsella, 1990; Dunstan *et al.*, 1992; Sukenik *et al.*, 1994; Lee, 1997 y Otero *et al.*, 1997). Dentro de la industria química se utilizan para la producción de sustancias como vitaminas, pigmentos, aminoácidos, polisacáridos, ceras, lecitinas, fosfolípidos y ácidos grasos esenciales. En el caso de la agricultura se han utilizado para la producción de fertilizantes (Fábregas *et al.*, 1984; Yamaguchi, 1997).

Las microalgas son de gran interés para la acuicultura (Leger *et al.*, 1987; Benemann, 1992; Abatzopoulos *et al.*, 1997 y Funge-Smith, 1999), debido a que juegan un papel primordial en la nutrición de larvas o adultos de organismos acuáticos en cultivos comerciales. Por ejemplo algunos como los peneidos, requieren microalgas como fuente de alimento durante sus primeros estadíos larvarios (Sato, 1991; Currie, 2000) y los bivalvos necesitan de una gran cantidad de algas unicelulares durante todo su ciclo de vida. Por tal

motivo se han realizado estudios sobre la morfología, la genética, la sistemática y la composición química de las diversas especies y sus variaciones en dependencia de los medios de cultivo (López Elías y Voltolina, 1993).

Hasta el momento se han descrito aproximadamente 30,000 especies de microalgas y cerca del 0.3% han sido estudiadas como posible fuente de alimento en acuicultura (Bonotto, 1988; Currie, 2000; De Silva, 2000).

En particular, la combinación de *Tetraselmis tetrathele* y *Chaetoceros gracilis* o *C. calcitrans* pueden usarse para alimentar estadios desde zoea I a postlarva I de *Metapenaeus ensis*, *Metapenaeopsis barbata*, *Trachypenaeus curvirostris*, *Fenneropenaeus indicus*, *F. merguensis*, *P. latisulcatus* y *Marsupenaeus japonicus*, obteniendo altas tasas de supervivencia. Mientras que en cultivos larvarios de *L. semisulcatus*, *P. monodon* y *F. chinensis* se utilizan sólo hasta el segundo estadio de mysis, ya que posteriormente requieren de zooplancton de mayor tamaño (Pérez y Kensley, 1997; Ronquillo *et al.*, 1997). De igual manera en estudios realizados con alimentación de larvas de bivalvos, han demostrado que las microalgas con mayor contenido de lípidos, especialmente los ácidos grasos eicosapentaenoico y docosahexaenoico, dan como resultado mayores tasas de crecimiento con respecto a larvas alimentadas con microalgas que contengan menores niveles de los mismos. La deficiencia de estos ácidos puede afectar también la fecundidad y reducir la viabilidad de los huevos (Volkman *et al.*, 1992). Se han obtenido tasas de crecimiento más altas utilizando *Chaetoceros calcitrans*, posteriormente le siguen en orden descendente *Isochrysis* aff. *galbana*, *Pavlova lutheri*, *Skeletonema costatum* y *Dunaliella tertiolecta*. Al utilizar una mezcla de las tres primeras especies se han observado las

mayores tasas de crecimiento, siendo superada sólo por *C. calcitrans* (Delaunay *et al.*, 1993; Ibeas *et al.*, 1997).

Una de las mayores dificultades en el desarrollo de sistemas de cultivo comercial de crustáceos y bivalvos, es la dependencia de estos sistemas de su capacidad de producción de microalgas como alimento (Chu *et al.*, 1982). Debido a esto, se ha sugerido reemplazar el uso de alimento vivo con dietas microencapsuladas o naturales, levaduras, así como por microalgas preservadas (secas y congeladas). Sin embargo, después de dos décadas de investigación sobre la formulación de microdietas, los resultados han sido poco alentadores (Robert y Trintignac, 1997), por lo cual las microalgas siguen siendo consideradas como el principal alimento para organismos filtradores (De Paw y Persoone, 1988; Okauchi, 1991; Cordero y Voltolina, 1996; 1997).

Aparte de los problemas técnicos y económicos involucrados en la producción masiva de microalgas, el mayor problema en la acuicultura es el relacionado con el valor dietético de las mismas, ya que sólo se han definido algunos requerimientos nutricios de unas pocas de las varias especies consumidoras de interés comercial. Además, los resultados indican que no se puede seguir un criterio general para los organismos en cultivo, ya que aunque muchas especies microalgales han sido usadas en operaciones acuiculturales, no todas son igualmente satisfactorias para el crecimiento de organismos en particular. Las razones de esto están relacionadas a diferencias en tamaño, digestibilidad y particularmente con el valor nutritivo de las microalgas, valor que depende principalmente de la composición bioquímica de las microalgas y de los requerimientos específicos de los organismos a alimentar (Cordero y Voltolina, 1997).

Las microalgas transmiten la energía y nutrientes esenciales al siguiente nivel trófico en forma de proteínas, carbohidratos y lípidos; por este motivo su producción intensiva es una parte integral de empresas de producción que se dedican al cultivo de organismos filtradores, como son los bivalvos, crustáceos, zooplancton y algunos peces marinos y de agua dulce (Herrero *et al.*, 1985; Kuban *et al.*, 1985; Whyte, 1987; De Pauw y Persoone, 1988; Yúfera y Lubián, 1990).

El valor dietético de las microalgas se relaciona con su composición química, especialmente lípidos y ácidos grasos (Napolitano, 1990 y Shamsudin, 1992), por lo que es necesario mantenerlos en condiciones óptimas para obtener tasas de crecimiento y supervivencia adecuadas para los organismos cultivados. Sin embargo, éste no es un factor constante, sino que puede variar en un amplio intervalo, ya que en la proporción de los diferentes constituyentes en la biomasa microalgal influyen varios factores ambientales (Cid *et al.*, 1992; Dunstan *et al.*, 1994).

En lo que se refiere a proteínas se sabe que son componentes esenciales que se encuentran en las microalgas por su alto valor nutritivo el cual está determinado por el contenido, proporción y disponibilidad de los aminoácidos (Brown *et al.*, 1993). En estudios realizados en torno a la composición de aminoácidos a partir de hidrolizados de células completas, se ha observado que las proporciones individuales de aminoácidos esenciales no varía mucho entre las diferentes especies de microalgas. De igual forma, se ha encontrado que dicha composición de proteínas de microalgas en su perfil de aminoácidos es muy similar a la proteína del huevo. Brown (1991) encontró diferencias menores en los niveles de aminoácidos específicos en la mayoría de las especies algales; observando a su vez grandes concentraciones de aspartato y glutamato (7.6-12.4%) mientras que la

cisteína, metionina, triptófano, histidina, hidroxiprolina y ornitina las encontró en bajas concentraciones (0.04-3.2%).

En el caso de la alimentación de moluscos y crustáceos, las microalgas con un contenido proteínico de entre 30% y 60% en base a peso seco, han sido utilizadas satisfactoriamente (De Paw y Persoone, 1988). Sin embargo, no existe una clara correlación entre el contenido de proteínas y su valor nutritivo. Por ejemplo, *Dunaliella salina* presenta una mayor proporción de proteínas que *Chaetoceros calcitrans*, pero tiene menor valor nutritivo cuando se usa en forma individual (Web y Chu, 1983), por ende se menciona que el valor dietético no depende del contenido proteínico sino de la presencia de aminoácidos esenciales (Abalde *et al.*, 1994).

La importancia de los carbohidratos en la dieta radica en la presencia o ausencia de cierto tipo de ellos. Por ejemplo, los juveniles de *Marsupenaeus japonicus* (Pérez y Kensley, 1997) crecen más rápido cuando la dieta contiene disacáridos y polisacáridos que con monosacáridos (Abalde *et al.*, 1994). La fracción de carbohidratos totales está compuesta por la fracción de polisacáridos (45-97% de la fracción de carbohidratos totales) monosacáridos y oligosacáridos, misma que varía ampliamente entre especies, siendo los principales azúcares la glucosa, manosa, galactosa y ribosa junto con otros, en proporciones variadas. Brown (1991), realizó un estudio con 16 especies de microalgas, encontrando que la glucosa es el azúcar principal en todas las especies estudiadas y que se presenta en un intervalo de 21 a 87.5% de la fracción de polisacáridos, los cuales a su vez constituían del 91 al 96% de los carbohidratos totales en 12 de las especies estudiadas, por ende la composición de éstos en el alga puede ser de gran interés nutricional, debido a que la

eficiencia de digestión de carbohidratos en los animales marinos depende del tipo de azúcares que los componen.

Los lípidos proporcionan la mayor parte de la energía en la nutrición de las larvas de camarón, ya que proveen de 9 kcal/g de energía metabolizable. Además son un vehículo biológico para la absorción de vitaminas liposolubles como la A, D, E y K. La importancia de estos nutrimentos radica en que son la fuente de ácidos grasos esenciales indispensables para el mantenimiento e integración de las membranas celulares (Bringas *et al.*, 1999).

En las microalgas los principales componentes de los lípidos son mono, di y triglicéridos, lecitina, fosfatidil glicerol fosfatidilcolina, y fosfatidilinositol (Becker, 1986 y Bringas *et al.*, 1999).

Los fosfolípidos son de suma importancia para el crecimiento y supervivencia de larvas de peneidos. Sin embargo, las larvas de camarón presentan una capacidad limitada para biosintetizar los fosfolípidos a partir de ácidos grasos y diacilgliceroles, por ende deben incluirse en la dieta (Harrison, 1990; Renaud *et al.*, 1991; Brown, 1993 y Bringas *et al.*, 1999). Cotteau *et al.*, (1997) citan que organismos de 2 mg de peso húmedo de *Litopenaeus vannamei* con una dieta basal de caseína requieren de 1.5 a 6.5% de fosfolípidos

Bautista *et al.* (1990) mencionaron que el contenido de lípidos totales en microalgas varía de acuerdo a la especie, por ejemplo *Chaetoceros calcitrans* contiene en promedio 18.34%, *Nannochloropsis oculata* tiene 10.3-16.1%, *Isochrysis galbana* 9.25% y *Tetraselmis suecica* 8.25%. Mourente *et al.* (1990) estudiaron la composición de lípidos totales y ácidos grasos en 12 especies de microalgas marinas de las clases Eustigmatophyceae, Haptophyceae y Prasinophyceae, cultivadas bajo condiciones

similares, encontrando que *Nannochloropsis* spp. presentaron el contenido más alto de lípidos totales, con un valor de 1.9-3.9% del ácido graso 20:4 ω -6 y de un 12.1-17.8% del ácido 20:5 ω -3. Todas las otras especies analizadas presentaron bajos contenidos de ácidos grasos altamente insaturados, excepto para *I. galbana* (Haptophyceae), en la cual se encontró un alto contenido de 22: ω -3 (6.9%).

Las microalgas de los géneros *Tetraselmis*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Chlorella*, *Thalassiosira* y *Nannochloropsis* son fuentes muy importantes de ácidos grasos poliinsaturados (Liao *et al.*, 1993; Chen, 1996). A excepción de las dos primeras, las microalgas citadas anteriormente son recomendables para alimentar los estadios de zoea de *Penaeus monodon* a nivel comercial (Su *et al.*, 1997) y *Pavlova lutheri* ha sido sugerida como buen alimento para bivalvos (Okauchi, 1991). En Taiwan, la mayoría de los laboratorios de producción de larvas de camarón utilizan *Skeletonema* cuando el abastecimiento de *Chaetoceros* y *Tetraselmis* no es suficiente, debido al contenido similar de ácidos grasos altamente insaturados.

Las especies citadas anteriormente, difieren por lo menos en algunos aspectos relacionados a su composición básica y por ende, aún cuando se cultiven en iguales condiciones, se pueden esperar por lo menos algunas diferencias en los porcentajes de los componentes químicos de cada especie. Adicionalmente, cabe hacer énfasis en que estas diferencias pueden ser todavía más notorias debido a que como en cualquier organismo vegetal o animal, la composición química de las microalgas no es una característica que permanece constante, sino que varía de acuerdo a la respuesta metabólica y fisiológica de cada especie y a las condiciones ambientales en las cuales se lleva a cabo su cultivo (Gutiérrez-Sumuhano, 2002)

La camaronicultura, que hace algunos años se inició en Ecuador en forma accidental, se basó en la engorda de camarón a partir de postlarva silvestre (Lucien-Brun, 1997; Alceste Oliviero y Martínez Espinoza, 2000). Sin embargo ante las perspectivas que ofrecía el mercado mundial, los países que estaban a la vanguardia en este cultivo decidieron acertadamente independizarse del medio natural instalando laboratorios de producción de postlarva. Debido a que el incremento observado a nivel mundial en el cultivo de camarón ha superado las expectativas, éste se ha convertido en una actividad en constante crecimiento por representar una de las más importantes y prometedoras industrias (Garza Aguirre y Aguirre Hinojosa, 1999). En los últimos años, la acuicultura contribuye con más del 25% a la producción total de alimentos de origen acuático a nivel mundial (Rana *et al.*, 1998).

Actualmente la camaronicultura tiende al establecimiento de modelos de producción intensiva. Razón por la cual se buscan estrategias que permitan independizar el proceso productivo de ciertas condiciones naturales, como son las relacionadas con el aporte de “semilla” para el cultivo (Martínez Córdova y Campaña Torres, 1999) y el controlar las variables ambientales de los cultivos larvarios, entre los cuales se destacan la cantidad y calidad del alimento proporcionado a las larvas, que son críticos para su crecimiento y supervivencia (Alfonso, 1993)

No obstante que gran parte de las granjas camaronícolas de los hemisferios oriental y occidental emplean en sus engordas postlarvas silvestres; el uso de postlarvas producidas en laboratorio presenta una tendencia a incrementarse día a día, asimismo es una herramienta muy útil que significa el único abastecimiento de semilla certificada. Esta acuicultura puede considerarse como una estrategia de desarrollo social y económico en

diferentes países del mundo (New, 1999; Tacon 2000), la cual no se está promoviendo para sustituir sino para complementar la captura de organismos marinos y de aguas continentales. Además, según las estadísticas más recientes, ha permitido sostener prácticamente constante el consumo individual medio de proteínas animales, a pesar del continuo incremento de la población humana (De Silva, 2000).

Definitivamente, contar en todo momento con postlarva procedente de laboratorios, sin depender de las variaciones naturales del medio, representa una gran ventaja, ya que por este sólo hecho la postlarva de laboratorio posee un costo de oportunidad muy superior al de la postlarva silvestre, impactando favorablemente en la rentabilidad de los proyectos de camaricultura (Aguirre-Hinojosa *et al.*, 1999).

La producción de postlarvas de camarón en laboratorio, tiene sus orígenes en Japón aproximadamente en 1933 con *Marsupenaeus japonicus* (SEPESCA, 1991) y se le atribuye al Dr. Hudinaga el haber manipulado por primera vez el desarrollo larvario de camarones peneidos en condiciones de laboratorio (Hudinaga, 1942; Hudinaga y Kitaka, 1967).

Hoy en día existen más de 25 especies de camarones que se están utilizando a nivel comercial, piloto o experimental para su cultivo. Las especies más factibles de cultivo en México son el camarón azul (*Litopenaeus stylirostris* Stimpson, 1974) y el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). Siendo el camarón blanco la especie más cultivada en el Hemisferio Occidental. Es un especie nativa de la costa oeste del Océano Pacífico, con una distribución geográfica desde Sonora, en el Golfo de California, México hasta Perú. Esta especie tiene la ventaja de que por lo general su cultivo larvario no presenta grandes complicaciones y varios laboratorios en América, producen exitosamente semillas para su comercialización (Martínez Córdova y Campaña Torres, 1999). En

México, la camaronicultura es una actividad muy importante, sobre todo en los estados de la región noroeste, donde se localizan más del 94% de las granjas registradas en el país, sobresaliendo el estado de Sinaloa (Ochoa Muñoz, 1994).

Para el mantenimiento y nutrición de larvas de camarón, el alimento vivo es un recurso indispensable que debe cubrir los requerimientos nutricionales larvarios, por lo que el uso de este alimento se basa en el cultivo de diferentes especies de microalgas, mismas que son seleccionadas de acuerdo a algunos criterios como son: facilidad de cultivo, pared celular digerible, tamaño adecuado y sobre todo que contenga los constituyentes químicos esenciales adecuados para promover el crecimiento y reproducción del organismo (Nelson *et al.*, 1992; Brown *et al.*, 1993; Trujillo Valle y Voltolina, 1994; Abalde *et al.*, 1994; De Silva, 2000).

Se debe considerar que la composición proximal y química de las microalgas puede variar ampliamente, a consecuencia del efecto de muchas y diferentes variables inherentes a los cultivos como son la edad de los mismos, el contenido y tipo de nutrientes de los medios de cultivo, el pH, la salinidad, la luz, la temperatura y el manejo de los cultivos (Voltolina y López Elías, 2002).

De acuerdo a estas razones es necesario conocer la composición química de las microalgas y estudiar la relación entre ésta composición y el desarrollo larvario considerando los aspectos de crecimiento, supervivencia, éxito de maduración y composición química, con el fin de sentar las bases para mejorar las dietas microalgales hasta ahora utilizadas (Holland y Spencer, 1973).

Existe gran cantidad de información relacionada con la composición química de la microalgas, sin embargo, es de poca utilidad ya que está bien comprobado que la

composición de las microalgas es altamente variable y susceptible de modificaciones importantes, que dependen de la técnica, de la edad de cultivo y de las condiciones ambientales de cada laboratorio, los cuales pueden variar ampliamente hasta en laboratorios comerciales geográficamente cercanos (Voltolina, Nieves y Piña, 2000).

Actualmente los laboratorios comerciales de camarón utilizan ampliamente, como alimento las microalgas *Isochrysis* sp., *Chaetoceros calcitrans*, *C. muelleri*, *Thalassiosira wesflogii*, *Dunaliella tertiolecta* y *Tetraselmis suecica*, indistintamente de la época del año. Sin embargo, se desconoce la calidad de estas microalgas en las diferentes condiciones estacionales y cuáles son los factores que influyen en estos cambios. Se sabe que entre los factores ambientales que pueden modificar de manera importante la composición química de las microalgas están la temperatura y la intensidad de luz, sobre los cuales la mayoría de los laboratorios comerciales no mantienen un control estricto y en muchos casos no existe ningún control ya que sus cultivos masivos se llevan a cabo al exterior y dependen directamente de la irradiación solar.

La temperatura es un factor muy importante para todos los organismos y procesos influyendo directa o indirectamente sobre ellos. El efecto directo más relevante de esta variable ambiental es que modifica la velocidad de los procesos bioquímicos presentes en las rutas metabólicas, de síntesis o de utilización de sustratos y de reservas (Dring, 1987) Por ejemplo, Sato y Murata (1980) demostraron que la temperatura es uno de los factores que más influye en la síntesis lipídica y la composición de ácidos grasos de *Anabaena variabilis*.

La luz puede influir positivamente en los cultivos de microalgas acelerando el metabolismo y por ende su tasa de crecimiento (Peraza Contreras, 2002). Sin embargo,

existen límites para cada especie. Estos límites pueden ser diversos dependiendo del concepto de la ventana óptima ambiental (Cury y Roy, 1989).

Por tal motivo, en el presente estudio se plantea primeramente, evaluar la importancia de estos cambios en diferentes situaciones estacionales para abarcar un amplio intervalo de valores de estas variables e identificar los efectos de las mismas sobre la composición química de las microalgas, para posteriormente evaluar su valor dietético mediante ensayos de alimentación con larvas de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*).

II.- OBJETIVOS

II.1.- Objetivo general

Evaluar la calidad nutricia de dos microalgas marinas en un laboratorio de cultivo comercial de larvas de camarón e identificar sus relaciones con las características del cultivo.

II.2.- Objetivos específicos

- * Analizar la composición proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) de microalgas marinas ampliamente utilizadas en laboratorios comerciales.

- * Evaluar el efecto de tres dietas de microalgas sobre el crecimiento, supervivencia y metamorfosis de larvas de camarón.

- * Identificar la relación entre la calidad de las microalgas y las características del cultivo

III.-MATERIALES Y METODOS

La parte experimental del presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de producción de postlarvas de camarón “Acualarvas, S.A. de C.V.”, ubicado en la costa sur del Estado de Sonora, en Playa Huatabampito Km 2.2 poniente Huatabampo, Sonora (Fig.1).

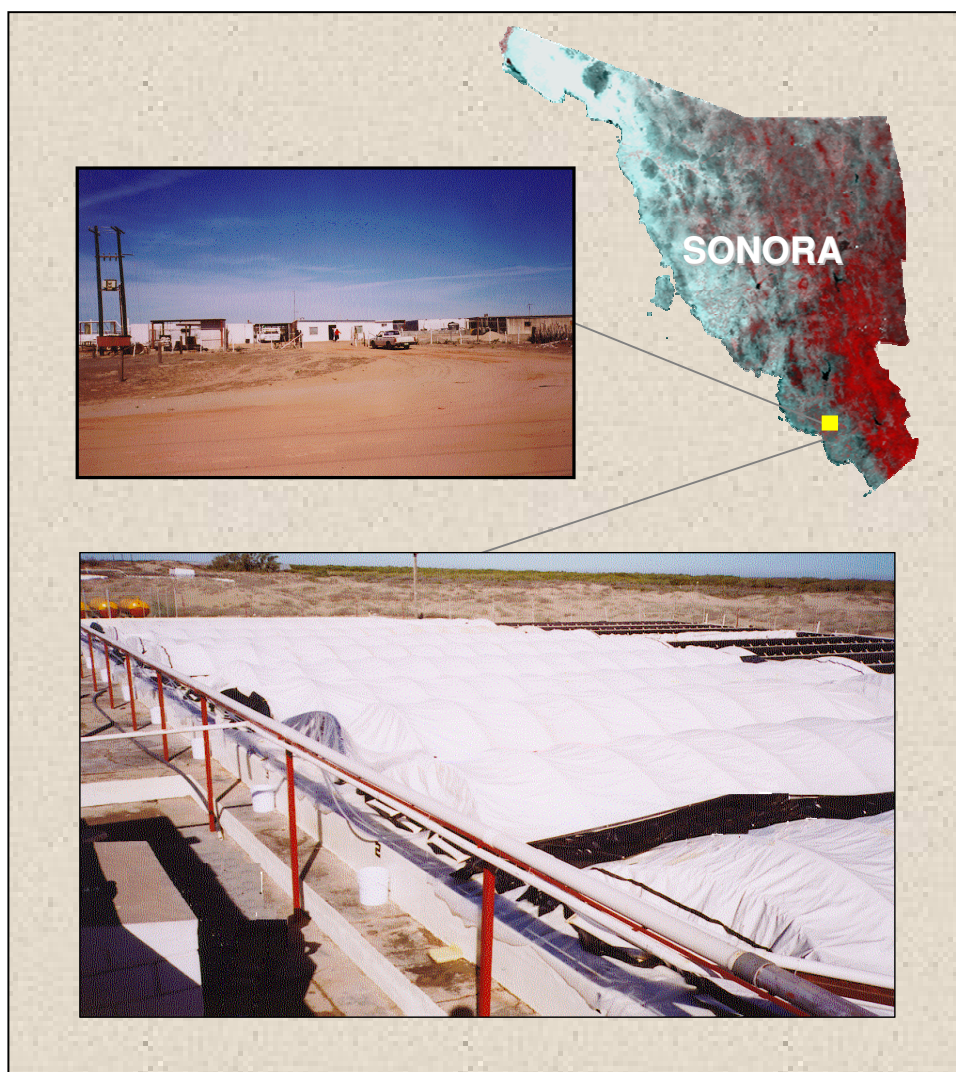


Figura 1. Localización y vista general del Laboratorio de producción de postlarvas de camarón “Acualarvas, S.A. de C.V.”.

Las instalaciones comprenden básicamente las secciones de maduración, desove, cultivo larvario y cultivo de microalgas. La sección de microalgas está formada por un laboratorio y el área de estanquería.

III.1.- Sistema de cultivo de microalgas.

La producción de microalgas consta de dos fases, la primera se lleva a cabo en el interior y se basa en un sistema de cultivo estático, presenta una duración de quince días y se compone a la vez de cinco etapas, desde la cepa mantenida en tubos de 10 ml hasta garrafones de 19 litros, con una duración de tres días por fase (Fig.2).

En este último paso, el volumen de inóculo depende de la especie, en el caso de *Chaetoceros muelleri* se usan de 1.5 a 2 litros y para *Thalassiosira weissflogii* se utilizan de 2 a 3 litros. Cabe mencionar que un garrafón de 19 litros se desdobra en cuatro del mismo volumen para cultivos al exterior. Dentro del laboratorio la temperatura oscila entre los 22 a 24°C, la iluminación se suministra a través de lámparas fluorescentes. La agitación de los cultivos es por medio de flujo continuo de aire filtrado, aplicando CO₂ durante cuatro horas al día.

El cepario cuenta con 6 especies, como son *Isochrysis* sp, *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira pseudonana*, *T. weissflogii*, *Chaetoceros gracilis* y *C. muelleri*. Para la realización del presente estudio se utilizaron *C. muelleri* y *T. weissflogii* por ser las microalgas que utiliza el laboratorio como principal alimento en la fase larvaria del camarón.



Figura 2. Cultivo de microalgas al interior en el laboratorio de producción de postlarvas de camarón “Acualarvas S.A. de C.V”.

En la segunda fase los cultivos se realizan al exterior y cubre desde garrafón de 19 l hasta tinas de 4000 l. Para inocular los cilindros de 400 l se emplean dos garrafones de *C. muelleri* o dos y medio a tres para *T. weissfloggi*. En esta etapa las fases son de dos días, por lo que se requiere de seis días para cumplir el ciclo (Fig. 3).



Figura 3. Sistema de cultivo de microalgas al exterior en el laboratorio de producción de postlarvas de camarón “Acualarvas S.A. de C.V.”

III.2.- Evaluación cuantitativa de las microalgas.

Diariamente, una vez designado el tanque para alimentación se procedía a medir pH, temperatura e irradiación solar. Posteriormente se realizaba el conteo del número de células, para lo cual se tomaba la cantidad necesaria de cada una de las microalgas para alimentación de las larvas. Adicionalmente, cada tercer día se tomó una muestra de los cultivos en mención para las determinaciones de número de células, peso seco total, peso seco orgánico y análisis bioquímicos de las diferentes microalgas, para lo cual se filtraron diferentes volúmenes dependiendo de la densidad celular y del análisis químico a realizar (Fig.4).

La intensidad luminosa se midió cada 6 horas con un irradiómetro TRACEABLE marca Fisher Scientific. El pH se midió con un potenciómetro marca Oakton modelo Testr 2 y la temperatura con un termómetro de escala -20 a 50°C .



Figura 4. Sistema de filtración de microalgas previo al análisis químico

III.2.1.- Número de células.

Para la determinación de la biomasa en la última etapa de cultivo de microalgas (tanques de 4000 l), se realizaron diariamente conteos celulares con ayuda de un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad, mismo que se recomienda para el conteo de algas de 2 a 30 μm y cultivos con densidades de 5.0×10^4 a 1.0×10^7 cel . ml⁻¹.

III.2.2.- Determinación de peso seco.

Durante el bioensayo se determinó el peso seco total y orgánico de las microalgas que se usaron como alimento, por lo que cada tercer día se filtraron volúmenes de 150 a

200 ml de cultivo dependiendo de la densidad celular. Las filtraciones se hicieron por triplicado para cada especie. Se usaron filtros Whatman, GF/C de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro, previamente lavados, incinerados y pesados. Una vez realizado el filtrado, las muestras se lavaron con formiato de amonio al 3% para eliminar las sales presentes y se mantuvieron en congelación hasta su análisis. Una vez en el laboratorio se colocaron en una estufa a 60°C hasta obtener un peso seco constante y posteriormente en una mufla a 450 ó 490°C por un lapso de 6 horas para la determinación de cenizas y, por diferencia, se obtuvo el peso seco orgánico (Sorokin, 1973).

III.3.- Evaluación cualitativa de las microalgas.

La calidad microalgal se estimó de acuerdo al contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos. Para ello fue necesario tomar muestras por triplicado en volúmenes de 10 a 250 ml según el análisis químico a realizar. Los muestreos se llevaron a cabo previos a la alimentación de los subestadios de Nauplio VI, Zoeas I, II, III y Mysis I. Las microalgas suministradas como alimento y las cosechadas para su posterior análisis se obtuvieron de los estanques que abastecieron al laboratorio productor.

En la determinación de cada uno de los componentes químicos se usaron filtros GF/C de 25 mm de diámetro, previamente lavados e incinerados para eliminar la posible materia orgánica que pudiera estar presente. El volumen filtrado para determinar carbohidratos y proteínas fue de 10 a 20 ml según la especie y biomasa celular. Para lípidos se usaron 40 ml. Debido a que el análisis se hizo diferido, las muestras permanecieron en congelación hasta el momento de llevarlo a cabo. Además del porcentaje de supervivencia,

crecimiento y metamorfosis, la calidad de las larvas se estimó de acuerdo a su composición química, por lo que una vez finalizado el experimento, los organismos se colocaron en tubos eppendor y se mantuvieron a -70°C en un ultracongelador Revco Scientific, Inc. Mod. ULT1786-5-014 para su posterior análisis. Previamente a la toma de la muestra se procedió a medir pH, temperatura e irradiación solar.

III.3.1.- Determinación de proteínas.

La extracción de las proteínas se realizó con hidróxido de sodio 0.1 N (Cordero, 1994). La determinación de proteínas se hizo con el método de Lowry *et al.* (1951), el cual es ampliamente utilizado para estimar la calidad microalgal. Este método se basa en la determinación espectrofométrica de la intensidad del color del reactivo de Folin-Ciocalteu, después de un tratamiento con solución alcalina de cobre. A continuación se realizó la lectura de la absorbancia a una densidad óptica de 750 nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer UV/vis, mod. Modelo 25, usando como estándar la albúmina de bovino.

III.3.2.- Determinación de carbohidratos

La extracción de carbohidratos se hizo con ácido sulfúrico 1 M de acuerdo a Whyte (1987) y la determinación por el método de Dubois *et al.* (1956), usando la glucosa anhidra como estándar. Este método implica el uso de H_2SO_4 concentrado y el reactivo del fenol. La adición del H_2SO_4 se hizo de acuerdo a lo establecido por López-Elías *et al.* (1992). La absorbancia se leyó a 490 nm.

III.3.3.- Determinación de lípidos totales

En la extracción de lípidos se aplicó el método de Bligh y Dyer (1959), mismo que consiste en la existencia de un sistema bifásico (cloroformo, metanol y agua destilada). En esta técnica la fracción lipídica reacciona con una solución de dicromato de potasio (Pande *et al.*, 1963) disuelto en ácido sulfúrico concentrado que provoca la oxidación de los lípidos dando como resultado una coloración oscura. Posteriormente, se diluye en agua destilada tornando a color verdoso. La lectura se realizó a 590 nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer UV/vis, mod. Modelo N 25

III.4.- Cultivo larvario de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* .

III.4.1.- Origen y recepción de los nauplios

Antes de recibir los nauplios, las cubetas experimentales se lavaron con ácido muriático diluido al 5%, se enjuagaron perfectamente con agua corriente para luego secarse. Las cubetas se llenaron con agua de mar hasta alcanzar 10 litros, siendo este volumen el 50% de su capacidad. Se les suministró aireación por medio de piedras aireadoras. Para el control de temperatura se utilizó un sistema de calefacción tipo casero marca Whirlpool.

Los nauplios empleados para este trabajo (en los diferentes bioensayos), se obtuvieron de tres laboratorios comerciales, siendo estos “Maricultura del Pacífico, S.A. de C.V.”, “Acuicultores de la Paz, S.A. de C.V.” y “Acualarvas, S.A. de C.V.”

Los lotes de nauplios se transportaron en bolsas de plástico con oxígeno, las cuales se colocaron en hieleras perfectamente selladas y a una temperatura de 24 a 26°C.

Una vez en el laboratorio, los nauplios se colocaron en cubetas de 30 litros con aireación y se procedió a realizar estimaciones poblacionales, mediante la obtención de varias alícuotas con pipetas de 1ml. Posteriormente, se pasaron a cubetas de 20 l con malla de 100 μ y se colocan dentro del estanque cerca de la entrada de agua para su aclimatación. Al alcanzar la temperatura deseada se procedió a su siembra. Del contenido total de la cubeta se extrajo una alícuota de un litro para inocular las 9 cubetas experimentales. La densidad de siembra en las cubetas experimentales fue de 100 Nauplios l⁻¹.

III.4.2.- Alimentación

Para analizar el valor dietético de las microalgas, se realizaron 3 bioensayos de alimentación con larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.



Figura 5. Unidad experimental para el desarrollo larvario de *L. vannamei* mostrando la distribución de las dietas: (C) *Chaetoceros muelleri*, (T) *Thalassiosira weissfloggi* y (M) mezcla.

Los bioensayos se llevaron a cabo en cubetas de plástico que contenían 10 l de agua de mar filtrada a 1µm y esterilizada con lámparas ultra violeta (UV). Se administraron por triplicado tres dietas (Fig. 5), las cuales consistieron en el suministro de *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira weissflogii* y la mezcla de ambas microalgas.

La ración alimenticia diaria, para cada estadio y densidad poblacional, fue suministrada de acuerdo al protocolo de trabajo del laboratorio (Tabla I). El bioensayo se realizó desde nauplio (N₅₋₆) hasta mysis (MI) debido que a partir de este estadio la larva muestra un cambio en sus hábitos alimenticios y se vuelve carnívora. Por ende se requiere suministrar nauplios de Artemia. El desarrollo larvario se llevó a cabo en seis días.

Tabla I. Protocolo de alimentación en cultivo larvario del laboratorio de producción de postlarvas de camarón “Acualarvas, S.A. de C.V”.

Estadio	Densidad celular (1×10^3 cél.ml ⁻¹)	
	<i>C. muelleri</i>	<i>T. weissflogii</i>
Nauplio	50	20
Zoea I	50	20
Zoea II	70	30
Zoea III	70	30
Mysis I *	70	30

- A partir de Mysis I se empieza a suministrar nauplios de Artemia.

Se registró diariamente la temperatura y el pH en los estanques de cultivo de microalgas al exterior, así como en las unidades experimentales. La concentración de oxígeno disuelto sólo se midió en las cubetas del bioensayo. Los parámetros fisicoquímicos registrados durante los bioensayos fueron: temperatura de 28°C ± 4°C, pH 7.8-8.8, salinidad de 36‰ y una concentración de oxígeno disuelto de 3.94 a 5.5 mg.l⁻¹. Para el monitoreo del oxígeno disuelto y temperatura se utilizó un oxímetro YSI modelo 55/12 y para medir el pH se usó un potenciómetro marca pH Testr 1™

Tabla II. Protocolo de alimentación utilizado durante el experimento con larvas de *L. vannamei*. Suministro según la dieta.

Estadio	Densidad celular (1×10^3 cél.ml ⁻¹)		
	<i>C. muelleri</i>	<i>T. weissflogii</i>	Mezcla*
Nauplio	70	70	50:20
ZI	70	70	50:20
ZIa	70	70	50:20
ZII	100	100	70:30
ZIIa	100	100	70:30
Z III	100	100	70:30
ZIIIa	100	100	70:30
Mysis I	100	100	70:30

*Mezcla de *C. muelleri* y *T. weissflogii* respectivamente.

El recambio de agua diario fue de 30-50% según el estadio, temperatura del agua y limpieza de las cubetas. Se usó un sifón con malla de 100 μ m para estadios menores a zoea 3 (Z3), y una malla de 300 μ m para Z3 y MI (Fig. 6).



Figura 6. Sistema de alimentación (izquierda) y recambio de agua (derecha) durante el desarrollo larvario de *Litopenaeus vannamei*

Los organismos se mantuvieron en estas condiciones, hasta llegar al estadio de mysis I. Posteriormente se dejaron en inanición durante 24 hrs y se recolectaron por medio

de un sifón. Por último se tamizaron empleando una malla de 300 μ y se lavaron con agua destilada.

III.4.3.- Características morfométricas .

Las características morfométricas que se consideraron fueron el tiempo en que alcanzaron el estadio de MI, la longitud total, longitud del cefalotórax, ancho de la larva, la velocidad de crecimiento (long total/días), el porcentaje de supervivencia y metamorfosis.

Para evitar deformaciones de los organismos y alteraciones en su tamaño se colocaron 50 organismos en una solución fijadora (Correa y Bückle, 1993), donde permanecieron hasta el momento de la estimación de talla y velocidad de crecimiento. Las larvas se colocaron sobre un portaobjetos en un microscopio estereoscópico marca Wild Herrbrugg y se midió la talla con ayuda de un micrómetro.

III.4.3.1.- Supervivencia y metamorfosis

Diariamente se tomaron al azar tres alícuotas por cubeta de cultivo en un vaso de precipitado de 100 ml y se contó el número de organismos, sacando un promedio de los tres conteos para determinar la supervivencia diaria. De igual forma, al finalizar el experimento se determinó la supervivencia total. Durante todo el experimento se determinó el porcentaje de metamorfosis, tomando una muestra al azar de 100 ml, misma que se observó en un microscopio compuesto para identificar el estadio larvario y contar el número de larvas pertenecientes a cada uno de ellos. Una vez determinada la supervivencia total, se procedió a fijar 50 organismos por cubeta para determinar talla y velocidad de crecimiento. Posteriormente, se colocó el resto de los organismos en tubos eppendor previamente

etiquetados con el número de bioensayo, cubeta y tratamiento suministrado. Después se introdujeron en una bolsa con sellado hermético etiquetada de igual forma; se almacenaron en congelación a -70°C hasta su análisis.

III.4.4.- Composición proximal.

Los análisis proximales de larvas se llevaron a cabo de igual forma que para microalgas, sólo que las muestras de larvas se liofilizaron. Posteriormente, se tomó un peso conocido del peso seco de los organismos para cada uno de los análisis proximales.

III.5.- Diseño Experimental.

Los resultados obtenidos en la composición química de microalgas y larvas de camarón., se analizaron a través de un análisis de varianza de una vía, usando el modelo lineal $y_i = \mu + \tau_i + B_j + E_{ij}$ del diseño de bloques al azar. El crecimiento y el porcentaje de supervivencia y metamorfosis de las larvas se analizaron aplicando un diseño de bloques al azar, por medio de una anova de dos vías. En el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico Statistica 6.0.

IV.- RESULTADOS

IV.1.- Evaluación cuantitativa de las microalgas

En referencia a la biomasa, se tiene que la concentración celular promedio de los cultivos masivos de microalgas fue mayor para *Chaetoceros muelleri* que para *Thalassiosira weissflogii*. Durante el primer bioensayo *Chaetoceros*, alcanzó una biomasa promedio de 1.148×10^6 cél . ml⁻¹ con un valor máximo de 1.5×10^6 y un mínimo de 0.890×10^6 cél . ml⁻¹.

El pH registrado en los cultivos de microalgas en este experimento osciló entre 8.2 y 8.9 unidades. La temperatura se mantuvo constante entre 28.5 a 29.5 °C, observando que las concentraciones celulares más altas se presentaron a 28.5 °C (Tabla III).

Tabla III. Densidad celular y parámetros fisicoquímicos de los cultivos masivos de *Chaetoceros muelleri* utilizados durante el primer bioensayo.

Núm. de cultivo	Densidad (1x10 ⁶ cél . ml ⁻¹)	pH	Temperatura °C
1	1.500	8.5	28.5
2	1.430	8.3	28.5
3	1.150	8.2	28.5
4	1.210	8.5	28.5
5	0.910	8.6	30.5
6	0.950	8.9	29.0
7	0.890	8.5	31.0

En el caso de *Thalassiosira weissflogii*, los cultivos presentaron una biomasa promedio de 0.367×10^6 cél . ml⁻¹, con una densidad celular máxima de 0.497×10^6 cél . ml⁻¹ a 28.5 °C y una mínima de 0.210×10^6 cél . ml⁻¹ a 30.5 °C. La temperatura media registrada fue de 29°C y los valores de pH se mantuvieron entre 8.5 a 9.2 unidades (Tabla IV).

Tabla IV. Densidad celular y parámetros fisicoquímicos de cultivos masivos de *Thalassiosira weissflogii* utilizados durante el primer bioensayo.

Núm. de cultivo	Densidad (1×10^6 cél. ml^{-1})	pH	Temperatura $^{\circ}\text{C}$
1	0.497	8.8	28.5
2	0.450	8.5	28.7
3	0.470	9.2	28.5
4	0.480	8.5	28.5
5	0.210	8.7	30.5
6	0.230	8.6	29.0
7	0.230	8.6	29.0

La intensidad luminosa en los cultivos de microalgas se registró a intervalos de 6 hr, iniciando a las 6:00 y finalizando a las 18:00 hr. Los valores más altos de intensidad luminosa se registraron a las 12:00 hr a excepción del sexto cultivo, donde la intensidad luminosa fue mayor a las 18:00 hr (Tabla V). La irradiación solar siempre fue mayor a los $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, a excepción de los días nublados (1 y 7) y lluviosos (5) a las 06:00hr.

Tabla V. Intensidad luminosa ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) en los cultivos masivos de microalgas utilizadas durante el primer bioensayo.

Núm.de cultivo	Horas		
	06:00	12:00	18:00
1	9.50	916.00	138.80
2	85.20	902.00	143.40
3	90.00	946.00	141.80
4	61.80	890.00	162.00
5	12.90	938.00	140.20
6	101.00	250.80	614.00
7	9.20	182.30	124.90

Los valores de intensidad luminosa fueron muy variables, por ejemplo los valores registrados para el segundo y tercer cultivo de las microalgas utilizadas en el bioensayo no

son representativos de la luz solar natural, ya que se optó por colocar malla sombra sobre los cultivos masivos de microalgas debido a la alta irradiación solar. Es decir, que de no haber colocado dicha malla los valores serían mucho mayores. El valor de $138.8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ corresponde a una tarde nublada de verano y el $12.9 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ a una mañana lluviosa y muy nublada.

Los cultivos masivos de *C. muelleri* durante el segundo bioensayo exhibieron una concentración celular que osciló entre 0.225×10^6 cél. ml^{-1} y 1.156×10^6 cél. ml^{-1} con una temperatura de 29.0 y 28.4 °C respectivamente. El pH se mantuvo entre 8.0 y 8.4 unidades a excepción del cultivo 4, donde se registró un pH de 7.4 unidades. (Tabla VI).

Tabla VI. Densidad celular y parámetros fisicoquímicos de los cultivos masivos de *Chaetoceros muelleri* utilizados en el segundo bioensayo.

Núm. de cultivo	Densidad (1×10^6 cél. ml^{-1})	pH	Temperatura °C
1	0.660	8.4	28.7
2	0.250	8.0	29.4
3	0.225	8.0	29.0
4	0.761	7.4	28.0
5	1.034	8.3	28.5
6	1.156	8.2	28.4

La biomasa máxima alcanzada en los cultivos masivos de *T. weissflogii* en el segundo bioensayo fue de 0.631×10^6 cél. ml^{-1} y una mínima de 0.255×10^6 cél. ml^{-1} , a 28.5 y 29 °C respectivamente. En este experimento la temperatura registrada fue de 28.2 a 29.5 °C. El pH presentó la misma tendencia que en los cultivos de *C. muelleri*, incluso el valor más bajo (7.6) se obtuvo también en el cultivo 4.

Tabla VII. Densidad celular y parámetros fisicoquímicos de los cultivos masivos de *Thalassiosira weissflogii* utilizadas en el segundo bioensayo.

Núm. de cultivo	Densidad (1×10^6 cél. ml^{-1})	pH	Temperatura $^{\circ}\text{C}$
1	0.255	9.1	29.0
2	0.274	8.5	29.5
3	0.298	8.2	28.2
4	0.295	7.6	28.9
5	0.631	8.3	28.5
6	0.463	8.1	28.5

La irradiación solar matutina en el segundo bioensayo varió desde $5.0 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ hasta $95.0 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$. En este bioensayo, los valores más altos se registraron a medio día (12:00), con valores superiores a $700.0 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Tabla VIII. Intensidad luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en los cultivos masivos de microalgas utilizadas durante el segundo bioensayo.

Núm. de cultivo	Horas		
	0600	1200	1800
1	63.00	4000.000	1074.00
2	85.40	2842.00	1120.00
3	95.00	1038.00	614.00
4	88.40	862.00	406.00
5	5.00	794.00	850.00
6	7.40	730.00	226.00

Al igual que en los bioensayos anteriores, en el tercer bioensayo *Chaetoceros* alcanzó concentraciones celulares superiores a *Thalassiosira*, las biomásas promedio en los cultivos fueron de $1\,020,000 \text{ cél. ml}^{-1}$ para *C. muelleri* y de $601,333 \text{ cél. ml}^{-1}$ para *T. weissflogii*, con temperaturas que se mantuvieron en un intervalo de 24 a 30°C y un pH promedio de 8.5 unidades (Tablas IX y X).

Tabla IX .- Densidad celular y parámetros fisicoquímicos de los cultivos masivos de *Chaetoceros muelleri* utilizados en el tercer bioensayo.

Núm. de cultivo	Densidad (1 x 10 ⁶ cél . ml ⁻¹)	pH	Temperatura °C
1	0.873	7.8	28.0
2	0.940	7.8	29.5
3	1.030	8.9	28.5
4	1.100	8.7	28.5
5	1.120	8.9	26.5
6	1.060	8.8	24.0

Tabla X .- Densidad celular y parámetros fisicoquímicos de los cultivos masivos de *Thalassiosira weissflogii* utilizados en el tercer bioensayo.

Núm. de cultivo	Densidad (1x10 ⁶ cél . ml ⁻¹)	pH	Temperatura °C
1	0.325	7.8	29.0
2	0.310	7.8	30.0
3	0.250	8.6	29.0
4	0.803	8.4	27.5
5	0.255	8.4	26.7
6	0.265	8.8	29.0

Los valores más elevados de intensidad luminosa se registraron a las 1200 horas y están entre 660.00 y 782.15 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Por la mañana los cultivos recibieron 0.47 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en promedio y por la tarde hasta diez veces menos luz que a medio día, incluso fue necesario encender la luz artificial antes de las 6 pm para los cultivos 5 y 6 (Tabla XI).

En este bioensayo los niveles de luz solar son menores debido que se llevó a cabo en condiciones invernales, mientras que los dos anteriores se realizaron en agosto y septiembre. Meses en los cuales en el estado de Sonora se alcanzan temperaturas hasta de 50 °C e irradiaciones solares muy altas.

Tabla XI. Intensidad luminosa ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) registrada en los cultivos masivos de microalgas utilizados en el tercer bioensayo.

Núm. de cultivo	Horas		
	0600	1200	1800
1	0.58	660.00	0.00
2	0.40	662.00	63.60
3	0.54	700.00	45.00
4	0.63	696.00	44.00
5	0.36	664.00	3.60
6	0.22	748.00	61.80
7	0.58	782.15	67.40

IV.1.1.- Determinación de peso seco

Los promedios diarios de peso seco total (PST) de *C. muelleri* obtenidos durante el primer bioensayo fueron de 45.2 a 84.8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. En el segundo se obtiene un PST mínimo de 18.7 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y un máximo de 55.8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Mientras tanto, en el tercer bioensayo el valor mínimo estimado es de 27.2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y el máximo asciende a 105.1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Tabla XII).

Tabla XII. Promedios diarios y desviación estandar del peso seco total (PST) y de la composición proximal de *Chaetoceros muelleri*.

Bioensayo	PST $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	Cenizas %	Proteínas %	Carbohidratos %	Lípidos %
1	84.8 \pm 3.2	51.7 \pm 1.7	15.0 \pm 11	8.0 \pm 0.1	14.1 \pm 0.8
	72.7 \pm 8.6	44.1 \pm 1.1	12.3 \pm 1.3	4.3 \pm 0.9	10.4 \pm 0.7
	45.2 \pm 4.7	37.2 \pm 1.3	29.0 \pm 2.1	10.1 \pm 0.7	12.8 \pm 0.1
2	22.5 \pm 1.0	41.5 \pm 1.3	25.9 \pm 0.7	12.0 \pm 0.1	12.2 \pm 0.4
	18.7 \pm 1.2	42.9 \pm 1.4	16.4 \pm 0.4	13.0 \pm 0.5	11.7 \pm 0.5
	41.2 \pm 1.4	49.8 \pm 0.9	14.4 \pm 0.3	7.4 \pm 0.2	16.1 \pm 0.4
	55.8 \pm 6.0	37.3 \pm 0.7	21.9 \pm 0.5	6.3 \pm 0.4	22.0 \pm 0.4
3	48.5 \pm 6.2	44.4 \pm 0.8	25.3 \pm 0.6	7.9 \pm 0.8	19.1 \pm 0.7
	105.1 \pm 4.1	47.0 \pm 0.3	18.2 \pm 0.6	5.8 \pm 0.2	22.0 \pm 0.4
	27.2 \pm 2.5	31.8 \pm 1.3	23.9 \pm 0.8	12.9 \pm 0.7	20.5 \pm 0.9
	36.8 \pm 0.6	34.4 \pm 1.2	16.9 \pm 1.0	12.6 \pm 1.7	23.3 \pm 0.2

El promedio diario de cenizas se mantuvo constante en los tres bioensayos, alcanzando contenidos de 31.8 a 51.7% (Tabla XII).

Los promedios diarios de proteínas para el primer bioensayo fueron de 12.3 a 29.0%, para el segundo bioensayo de 14.4 a 25.9% y para el tercer bioensayo comprendieron valores de 16.9 a 25.3% (Tabla XII).

En cuanto a carbohidratos los valores oscilaron entre 4.3 y 13.0% en los tres bioensayos. Por último, los promedios diarios de lípidos variaron entre 10.4 y 23.3% (Tabla XII).

Para *Thalassiosira weissflogii* los promedios diarios de PST durante el primer bioensayo comprendieron de 31.8 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ a 68.7 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, para el segundo bioensayo el PST máximo alcanzado fue de 78.2 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ y el mínimo de 34.3 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. En el tercer bioensayo el promedio diario de PST fluctuó de 32.2 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ a 70.5 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Tabla XIII).

Tabla XIII. Promedios diarios y desviación estandar de peso seco total (PST) y de la composición proximal de *Thalassiosira weissflogii*.

Bioensayo	PST $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	Cenizas %	Proteínas %	Carbohidratos %	Lípidos %
1	68.7 \pm 3.4	43.9 \pm 0.7	11.3 \pm 0.5	14.6 \pm 2.3	12.6 \pm 0.7
	33.0 \pm 2.8	42.8 \pm 2.5	20.5 \pm 3.1	9.9 \pm 1.5	15.2 \pm 0.2
	31.8 \pm 15.9	46.0 \pm 2.6	24.0 \pm 3.0	7.3 \pm 1.3	9.1 \pm 0.2
2	34.3 \pm 1.8	49.0 \pm 0.4	24.9 \pm 1.8	16.5 \pm 1.0	10.8 \pm 0.7
	38.7 \pm 1.2	36.7 \pm 10.9	8.5 \pm 0.8	2.9 \pm 0.7	9.3 \pm 0.8
	78.2 \pm 2.8	43.4 \pm 2.4	10.4 \pm 0.7	13.7 \pm 0.3	15.3 \pm 0.5
3	50.8 \pm 2.4	42.6 \pm 0.7	12.4 \pm 1.8	6.3 \pm 1.8	20.0 \pm 1.3
	32.2 \pm 4.6	42.1 \pm 8.3	18.2 \pm 1.9	14.3 \pm 0.7	22.4 \pm 6.0
	64.7 \pm 2.9	43.3 \pm 0.8	16.9 \pm 0.1	8.3 \pm 0.2	13.5 \pm 0.4
	70.5 \pm 1.8	48.0 \pm 0.8	15.4 \pm 0.1	6.8 \pm 0.4	12.4 \pm 0.9
	68.7 \pm 11.4	55.6 \pm 0.6	8.0 \pm 0.9	4.1 \pm 0.8	12.3 \pm 0.3

El contenido de cenizas durante los tres bioensayos estuvo en un intervalo de 36.7 a 55.6% (Tabla XIII).

Los promedios diarios de proteínas variaron entre 11.3 y 24.0% en el primer bioensayo, de 8.5 a 24.9% en el segundo y de 8.0 a 18.2% en el tercer bioensayo. Los carbohidratos mostraron valores de 7.3 a 14.6% en el primer bioensayo, de 2.9 a 16.5% en el segundo bioensayo y en el tercer bioensayo de 4.1 a 14.3%. Los lípidos exhibieron promedios diarios en un intervalo de 9.1 a 22.4% en los tres bioensayos (Tabla XIII).

IV.2.- Evaluación cualitativa de las microalgas

La composición química de las microalgas suministradas como alimento a larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) durante los tres bioensayos, se conformó de la manera siguiente.

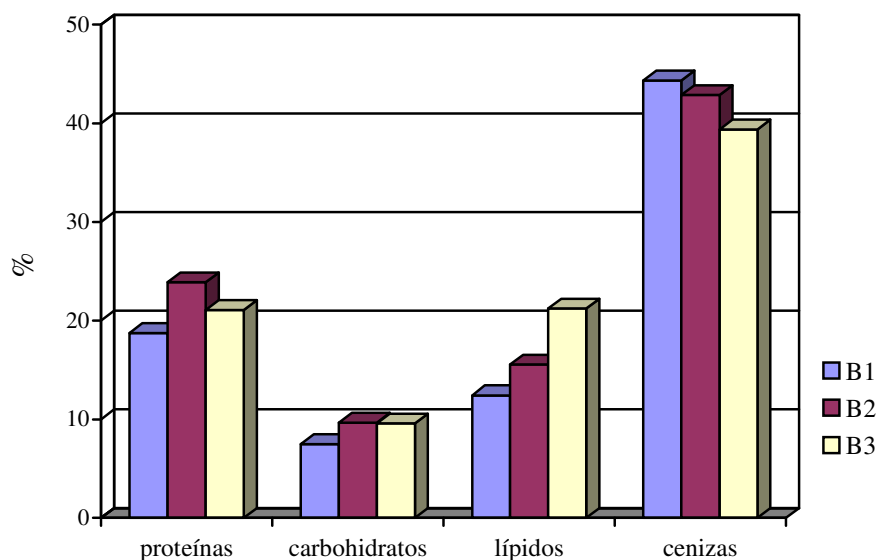


Figura 7. Porcentaje promedio de componentes químicos con base a peso seco total para *Chaetoceros muelleri* durante los tres bioensayos (B1, B2, B3).

En el primer bioensayo, *Chaetoceros muelleri* en base al peso seco total presentó en promedio 18.77% de proteínas, 7.47% de carbohidratos y 12.43% de lípidos (fig.7).

Mientras que en el segundo bioensayo el contenido promedio de proteínas, carbohidratos y lípidos presentaron valores más altos que el primero (23.88%, 9.64% y 15.54% respectivamente). En el tercer bioensayo el contenido promedio de proteínas fue de 21.08%, de carbohidratos 9.57% y de lípidos 21.22%. El contenido promedio de cada uno de los componentes se mantiene relativamente constante en los tres bioensayos. (Fig. 7).

Thalassiosira weissflogii durante el primer bioensayo presentó un promedio de 18.6% de proteínas, 10.6% de carbohidratos y 12.3% de lípidos.

En el segundo bioensayo los valores fueron ligeramente menores excepto para lípidos, obteniendo 14.0%, 9.9% y 13.9% respectivamente.

Por último, en el tercer bioensayo el contenido de proteínas fue de 14.64%, carbohidratos 8.38% y lípidos 15.15% (Fig.8).

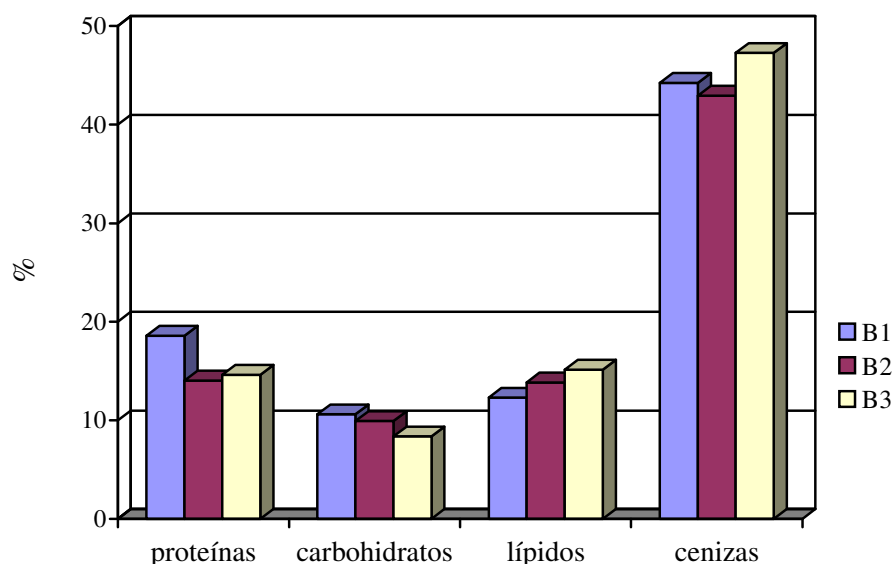


Figura 8. Porcentaje promedio de componentes químicos con base a peso seco total para *Thalassiosira weissflogii* durante los tres bioensayos (B1, B2, B3).

El promedio diario (Tabla XII y XIII) y el promedio por bioensayo de lípidos y proteínas en base a PST en *C. muelleri* tiende a ser mayor que en *T. weissflogii*. En cambio en el porcentaje de carbohidratos no hay diferencia .

El promedio diario de peso seco orgánico (PSO) en *C. muelleri* durante el primer bioensayo, osciló entre 32.7 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y 51.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. En tanto en el segundo bioensayo el PSO de las microalgas fue menor, con un máximo de 35.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y un valor mínimo de 10.7 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. En el tercer bioensayo el máximo PSO estimado fue de 55.8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y el mínimo de 18.5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Tabla XIV).

En cuanto a la composición proximal en base PSO, se observó que en el primer bioensayo el contenido diario promedio de proteínas estuvo entre 21.9 % y 40.1%, para carbohidratos de 7.6% a 13.4% y para lípidos de 17.7% a 23.4%.

Tabla XIV. Promedios diarios y desviación estandar del peso seco orgánico (PSO) y de la composición proximal de *Chaetoceros muelleri*.

Bioensayo	PSO $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	Proteínas %	Carbohidratos %	Lípidos %
1	51.0 \pm 3.0	24.9 \pm 1.9	13.4 \pm 0.1	23.4 \pm 1.3
	40.7 \pm 5.4	21.9 \pm 2.3	7.6 \pm 1.7	18.5 \pm 1.2
	32.7 \pm 2.5	40.1 \pm 2.9	13.9 \pm 0.9	17.7 \pm 0.2
2	13.2 \pm 0.6	44.2 \pm 3.6	20.5 \pm 0.2	20.9 \pm 0.7
	10.7 \pm 0.8	28.7 \pm 0.7	22.7 \pm 0.9	20.5 \pm 0.9
	20.7 \pm 1.0	28.6 \pm 3.5	14.7 \pm 0.5	32.2 \pm 0.7
3	35.0 \pm 4.0	34.9 \pm 3.1	10.0 \pm 0.6	35.2 \pm 0.7
	26.0 \pm 4.7	47.2 \pm 1.0	14.8 \pm 1.6	35.6 \pm 1.3
	55.8 \pm 1.3	34.3 \pm 2.8	11.0 \pm 0.4	35.2 \pm 0.7
	18.5 \pm 2.3	35.2 \pm 1.9	18.9 \pm 1.1	30.1 \pm 1.4
	24.2 \pm 0.8	25.8 \pm 2.3	19.2 \pm 2.6	35.4 \pm 0.3

En el segundo bioensayo las proteínas alcanzaron valores de 28.6% a 44.2%, los carbohidratos de 10.0% a 22.7% y los lípidos de 20.5% a 35.2%. Mientras que en el tercer

bioensayo los valores fueron superiores. El valor mínimo estimado para proteínas fue de 25.8% y el máximo de 47.2%, para carbohidratos el mínimo de 11% y máximo de 19.2%. Los lípidos se mantuvieron entre 30.1% y 35.6% (Tabla XIV).

La composición proximal promedio de *C. muelleri* en el primer bioensayo presentó 28.98% de proteínas, 11.65% de carbohidratos y 19.88 % de lípidos. En lo que concierne al segundo y tercer bioensayo el contenido de estos componentes aumentó considerablemente (Fig.9).

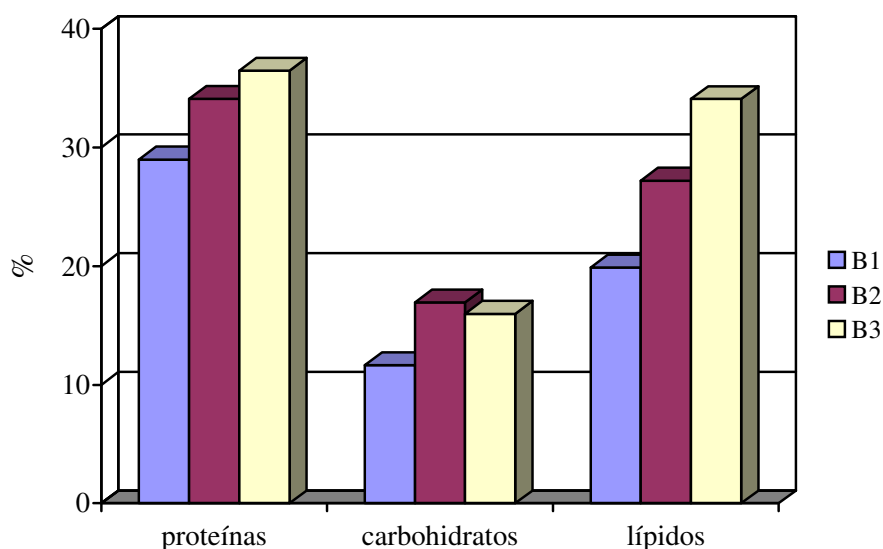


Figura 9. Porcentaje promedio de proteínas, carbohidratos y lípidos con base a peso seco orgánico de *Chaetoceros muelleri* durante los tres bioensayos (B1, B2, B3).

El promedio diario de peso seco orgánico de *T. weissflogii* no varió significativamente entre los bioensayos (Tabla XV). A excepción del primer bioensayo, el peso seco orgánico de *C. muelleri* y *T. weissflogii* resultaron similares.

En el caso de *T. weissflogii*, los promedios diarios de proteínas variaron entre 18.8% y 38.5% en el primer bioensayo. En el segundo bioensayo el valor mínimo fue de 17.5% y el máximo de 44.2% y en el tercer bioensayo los valores oscilaron entre 18.5 y 36.7%.

Tabla XV. Promedios diarios y desviación estándar del peso seco orgánico (PSO) y de la composición proximal de *Thalassiosira weissflogii*.

Bioensayo	PSO $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	Proteínas %	Carbohidratos %	Lípidos %
1	38.5 \pm 1.7	20.2 \pm 0.9	26.1 \pm 4.2	22.6 \pm 1.3
	18.8 \pm 1.0	35.5 \pm 5.3	17.1 \pm 2.6	26.3 \pm 0.3
	29.0 \pm 1.9	44.4 \pm 5.6	13.6 \pm 2.3	16.9 \pm 0.3
2	17.5 \pm 1.0	48.8 \pm 3.5	32.3 \pm 2.0	21.2 \pm 1.4
	22.2 \pm 0.3	14.8 \pm 1.4	5.0 \pm 1.3	16.2 \pm 1.4
	44.2 \pm 0.6	18.3 \pm 1.3	24.2 \pm 0.5	27.2 \pm 0.9
	29.2 \pm 1.2	21.6 \pm 3.2	11.0 \pm 3.2	34.8 \pm 2.2
3	18.5 \pm 2.6	31.7 \pm 3.3	24.9 \pm 1.2	39.0 \pm 9.4
	36.7 \pm 1.8	29.7 \pm 0.1	14.5 \pm 0.3	23.9 \pm 0.7
	36.7 \pm 0.8	29.7 \pm 0.1	13.0 \pm 0.9	23.8 \pm 1.7
	30.5 \pm 1.2	14.3 \pm 1.7	7.4 \pm 1.4	21.9 \pm 0.4

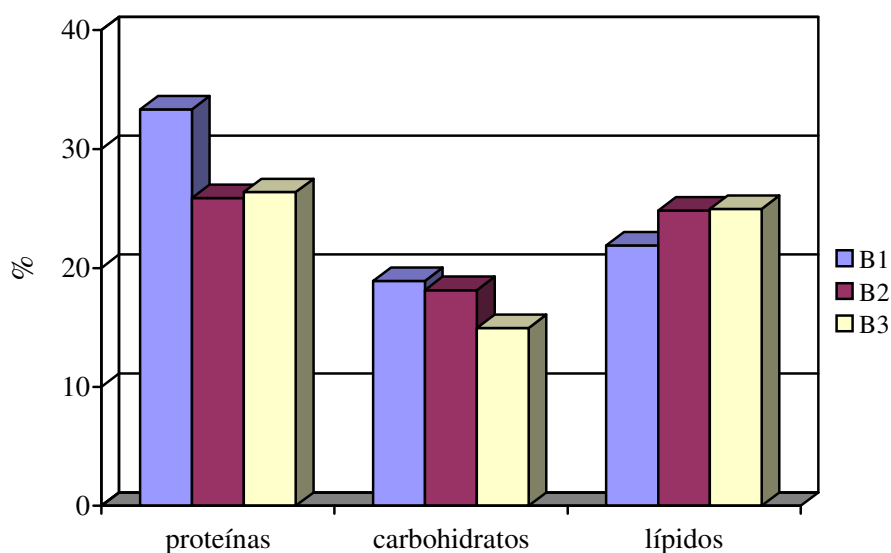


Figura 10. Porcentaje de proteínas, carbohidratos y lípidos en base a peso seco orgánico de *Thalassiosira weissflogii* durante los tres bioensayos (B1, B2, B3).

Al obtener el contenido promedio por bioensayo, *T. weissflogii* mostró valores más altos de proteínas en base a peso seco orgánico en el primer bioensayo (33.35%). En cuanto al contenido de carbohidratos se mantuvo entre 14.95 y 18.91%.

De igual manera, en lípidos no hubo gran diferencia ya que se obtuvieron valores de 21.91 a 24.96%. (Fig.10). A diferencia de *C. muelleri* el contenido de proteínas y carbohidratos en el segundo y tercer bioensayo son menores.

IV.3.- Cultivo larvario de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

IV.3.1.- Parámetros fisicoquímicos de los cultivos.

Se realizaron tres bioensayos de alimentación con larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), llevando a cabo un registro diario de la temperatura y concentración de oxígeno disuelto a la cual estaban expuestos los organismos.

Al realizar el primer bioensayo la temperatura promedio registrada fue de $29.7 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$ y la concentración promedio de oxígeno disuelto de 4.9 mg.l^{-1} , con niveles máximos de 5.5 mg.l^{-1} y mínimos de 4.2 mg.l^{-1} .

En el segundo bioensayo la temperatura máxima fue de 30.3°C y la mínima de 28.5°C . El oxígeno disuelto se mantuvo en concentraciones de 4.3 mg.l^{-1} a 5.5 mg.l^{-1} .

La temperatura máxima registrada durante el tercer bioensayo fue de 28.5°C y la mínima de 24.2°C . La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo entre 4.2 mg.l^{-1} y 4.4 mg.l^{-1} .

IV.3.2.- Características morfométricas

Las larvas alcanzaron el estadio de mysis I en seis días a partir de la siembra, independientemente del estadio en que se sembró. En el primer y tercer bioensayo la siembra se inició con Nauplio 6 y el segundo bioensayo con Nauplio 5.

La longitud total de las larvas alimentadas con *C. muelleri* mostraron valores 3.50 a 3.61 mm, con *T. weissflogii* se obtuvo una longitud máxima de 3.41 mm y una longitud mínima 3.30 mm. Mientras que a los organismos que se les proporcionó una dieta mixta tuvieron valores de 3.19 a 3.72 mm (Tabla XVI). Los valores más bajos de longitud total se obtuvieron con *T. weissflogii* a excepción del primer bioensayo.

En relación a la longitud total de las larvas, en el primer y segundo bioensayo se presentaron diferencias significativas entre las tres dietas con una $p < 0.001$. En cambio en el tercer bioensayo no se observó diferencia en longitud total de larvas alimentadas con *Chaetoceros* y la mezcla. No obstante, a los organismos a que se les suministró *Thalassiosira* sí presentaron diferencia ($p=0.01$ y $p=0.02$ respectivamente) (Tabla XVI).

En base a lo anteriormente descrito, se puede decir que las larvas que tuvieron la mayor longitud total fueron las alimentadas con *C. muelleri* y con la mezcla (*C. muelleri* : *T. weissflogii*).

En cuanto a la longitud del cefalotórax, se mostraron tallas de 1.18 a 1.21 mm en larvas alimentadas con *C. muelleri*, las larvas a las que se les suministró *T. weissflogii* presentaron longitudes de 1.14 a 1.20 mm y con la mezcla se obtuvieron valores máximos de 1.22 mm y mínimos de 1.10 mm (Tabla XVI).

En el primer bioensayo, la longitud del cefalotórax no presentó diferencia significativa entre las larvas alimentadas con *C. muelleri* y *T. weissflogii*, sólo con la

mezcla ($p < 0.001$). En el segundo bioensayo, la longitud del cefalotórax obtenida con la mezcla es significativamente diferente de la alcanzada con *Chaetoceros* ($p = 0.036$) y con *T. weissflogii* ($p = 0.001$). Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre ellas.

En el tercer bioensayo *C. muelleri* y la mezcla no mostraron diferencias significativas con respecto a la longitud del cefalotórax de las larvas, sólo *T. weissflogii* con una $p < 0.001$.

Tabla XVI. Promedios y desviación estandar de tallas obtenidas en el estadio de mysis I de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas durante los tres bioensayos.

TALLAS	DIETAS			
	Bioensayo	<i>C. muelleri</i> (mm)	<i>T. weissflogii</i> (mm)	Mezcla (mm)
Longitud Total	1	3.51 ± 0.19^c	3.30 ± 0.20^b	3.19 ± 0.09^a
	2	3.61 ± 0.17^b	3.41 ± 0.16^a	3.72 ± 0.17^c
	3	3.50 ± 0.13^b	3.41 ± 0.18^a	3.49 ± 0.13^b
Longitud del cefalotórax	1	1.18 ± 0.04^b	1.20 ± 0.04^b	1.10 ± 0.09^a
	2	1.21 ± 0.04^a	1.20 ± 0.02^a	1.22 ± 0.05^b
	3	1.20 ± 0.0^b	1.14 ± 0.1^a	1.20 ± 0.00^b
Ancho	1	0.25 ± 0.02^a	0.25 ± 0.02^a	0.26 ± 0.02^b
	2	0.28 ± 0.02^b	0.25 ± 0.02^a	0.28 ± 0.01^b
	3	0.26 ± 0.02^b	0.25 ± 0.02^a	0.27 ± 0.02^b

En relación al ancho, se tuvo que las larvas alimentadas con *C. muelleri* presentaron un tamaño de 0.25 a 0.28 mm, con *T. weissflogii* exhibieron tallas de 0.25 mm en los tres bioensayos y con la mezcla de 0.26 a 0.28 mm.

En el primer bioensayo sólo la mezcla mostró diferencia significativa en relación con el ancho de las larvas con las otras dietas ($p < 0.001$). En el segundo y tercer bioensayo

los resultados exhibieron un comportamiento muy similar, siendo la dieta de *T. weissflogii* la que muestra larvas de menores dimensiones en relación al ancho y fue estadísticamente diferente de *C. muelleri* ($p < 0.001$) y de la mezcla ($p < 0.001$).

Con base a lo anterior se dedujo que *C. muelleri* y la mezcla son las mejores dietas, ya que con ellas se obtienen larvas de mayor tamaño en relación a la longitud total, longitud del cefalotórax y al ancho.

IV.3.2.1-Velocidad de crecimiento

En referencia a la velocidad de crecimiento, a excepción del primer bioensayo los valores más bajos se obtuvieron en larvas alimentadas con *Thalassiosira weissflogii* (0.568 mm . día⁻¹).

Tabla XVII. Velocidad de crecimiento a partir del estadio de nauplio 6, en larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas.

Dieta	Velocidad de crecimiento (mm . día ⁻¹)		
	Bioensayo 1	Bioensayo 2	Bioensayo 3
<i>C. muelleri</i>	0.585	0.722	0.583
<i>T. weissflogii</i>	0.550	0.682	0.568
Mezcla	0.532	0.744	0.582

Mientras que las larvas a las que se les proporciona *C. muelleri* y la mezcla mostraron las velocidades de 0.722 mm . día⁻¹ y 0.744 mm . día⁻¹ respectivamente. Sin embargo, no se presentó diferencia significativa entre las dietas (Tabla XVII).

IV.3.2.2.- Supervivencia

La supervivencia varió de acuerdo a la dieta suministrada y tendió a decrecer en forma regular y constante conforme se dio el desarrollo larvario (Fig.11).

Las larvas con menor supervivencia al llegar al estadio de mysis I fueron las alimentadas con *Thalassiosira weissflogii* con una supervivencia final promedio de 74.54% (Fig. 11). Las supervivencias finales por bioensayo obtenidas con esta dieta fueron 59.2% a 85.6% (Tabla XVIII).

En las otras dos dietas (*Chaetoceros muelleri* y la mezcla), no se observaron diferencias significativas en la supervivencia y los porcentajes obtenidos variaron de 89.4 a 90.2%.

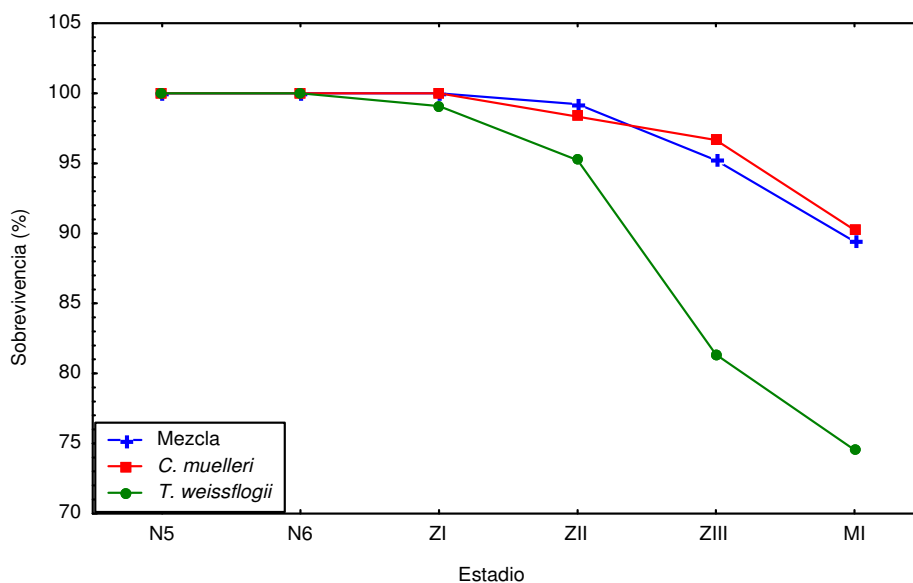


Figura 11. Supervivencia promedio por estadio de larvas de camarón blanco *L. vannamei* alimentadas con tres dietas durante los tres bioensayos.

La supervivencia en el primer bioensayo no mostró diferencia significativa entre *C. muelleri* y la mezcla. En cambio, la supervivencia con *T. weissflogii* mostró una diferencia altamente significativa con respecto a *Chaetoceros* ($p=0.002$) y la mezcla ($p=0.0005$).

En el segundo bioensayo, la supervivencia en larvas alimentadas con *T. weissflogii* mostró ser significativamente diferente de la obtenida con *C. muelleri* ($p= 0.036$). Sin embargo con la mezcla no presentó diferencia. Cabe mencionar que entre la mezcla y *C. muelleri* tampoco hubo diferencia significativa en el porcentaje de supervivencia (Tabla XVIII).

Tabla XVIII. Porcentajes promedio de supervivencia al alcanzar el estadio de mysis I en larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentadas con tres dietas durante los tres bioensayos.

Bioensayo	% Supervivencia final		
	Mezcla	<i>C. muelleri</i>	<i>T. weissflogii</i>
1	98.9 ^b	97.8 ^b	85.6 ^a
2	89.3 ^{ab}	91.0 ^b	78.9 ^a
3	80.0 ^b	81.9 ^b	59.2 ^a
Promedio*	89.4	90.2	74.5

* Porcentaje promedio de supervivencia de los tres bioensayos.

En el tercer bioensayo no se presentaron diferencias significativas en el porcentaje de supervivencia entre larvas alimentadas con *Chaetoceros* y con la mezcla. Sin embargo, las alimentadas con *Thalassiosira* mostraron una diferencia altamente significativa con respecto a *Chaetoceros* y la mezcla ($p=0.002$) (Tabla XVIII).

IV.3.2.3.- Metamorfosis (Desarrollo larvario)

Generalmente las larvas producidas en los laboratorios comerciales tienen origen en varios desoves simultáneos, de un gran número de reproductores. Motivo por el cual el desarrollo larvario puede llegar a presentar un alto grado de asincronismo. Sin embargo, este no sucedió en nuestro trabajo ya que sólo en pocos casos se presentaron más de dos estadios de forma simultánea. *T. weissflogii* presentó más de dos subestadios en el quinto día de cultivo en los dos primeros bioensayos, *C. muelleri* en el segundo bioensayo y la mezcla el cuarto día del primer bioensayo.

El cambio de estadio se llevó a cabo en 24 horas aproximadamente, a excepción de la fase de nauplio el cual se realizó en 12 horas. A partir del primer estadio de zoea, en algunos casos se presentaron subestadios.

El desarrollo larvario obtenido con las tres dietas fue más o menos paralelo. Sin embargo, visualmente se pudo evidenciar cierta diferencia entre ellas. Las larvas alimentadas con *C. muelleri* y con la mezcla alcanzaron primero y en mayor porcentaje el estadio de mysis. Además mostraron menor número de estadios en un día de cultivo (Fig. 12-14).

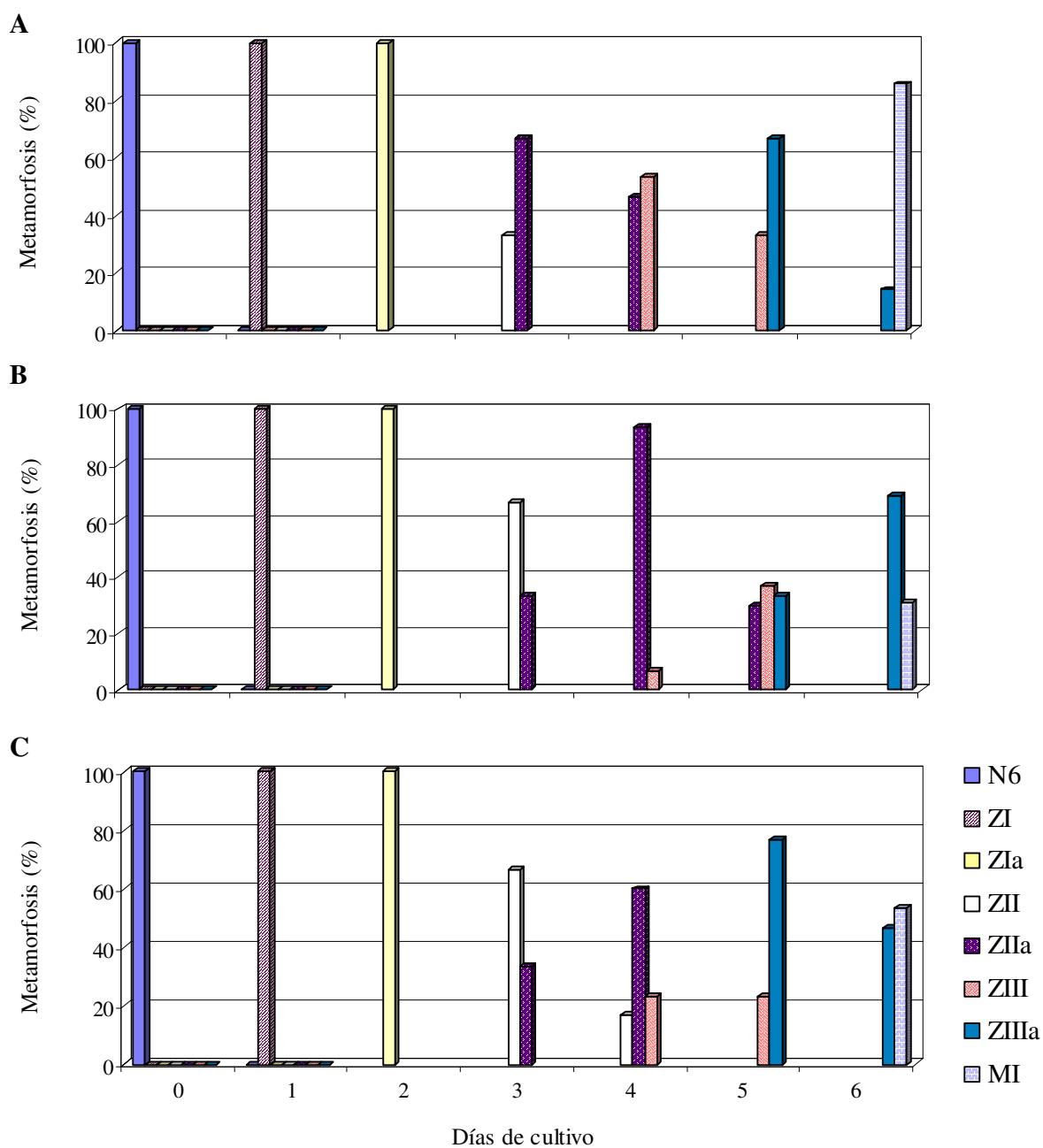


Figura 12. Porcentaje de metamorfosis diaria en larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentadas con tres dietas durante el primer bioensayo: A) *Chaetoceros muelleri*, B) *Thalassiosira weissflogii* y C) Mezcla de ambas microalgas.

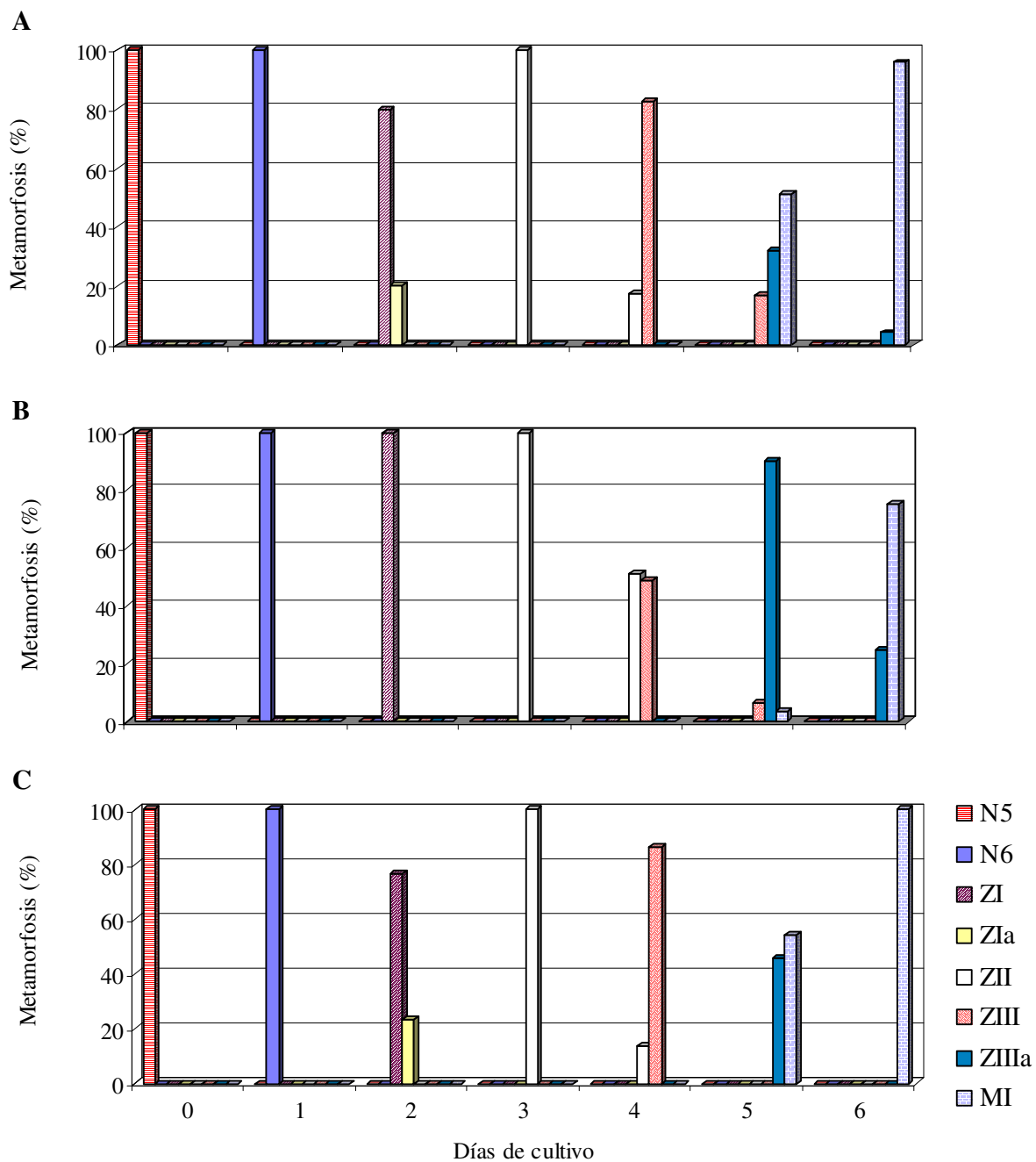


Figura 13. Porcentaje de metamorfosis diaria en larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentadas con tres dietas durante el segundo bioensayo: A) *Chaetoceros muelleri*, B) *Thalassiosira weissflogii* y C) Mezcla de ambas microalgas.

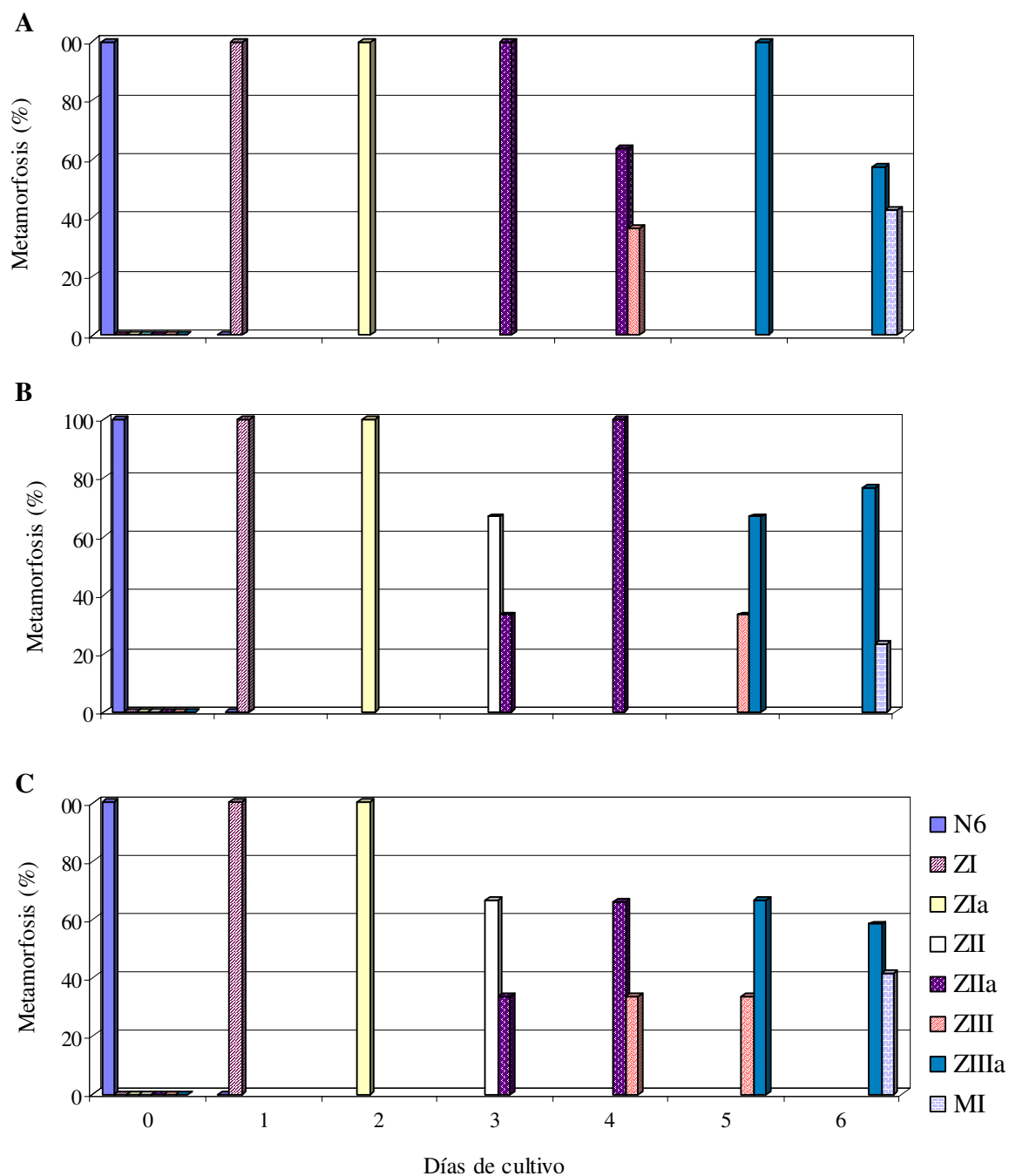


Figura 14. Porcentaje de metamorfosis diaria en larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentadas con tres dietas algales durante el tercer bioensayo: A) *Chaetoceros muelleri*, B) *Thalassiosira weissflogii* y C) Mezcla de ambas microalgas.

IV.3.2.-Peso seco y composición proximal de larvas de camarón.

El promedio de peso seco total unitario en larvas alimentadas con *Chaetoceros* fue de 74.6 μg durante el primer bioensayo y en el segundo disminuyó a 66.7 μg .

En *Thalassiosira* el promedio de peso seco total en el primer bioensayo fue de 45.6 μg y en el segundo bioensayo el PST promedio fue de 48.5 μg .

En el PST de las larvas alimentadas con la mezcla se obtuvieron promedios de un de 75.9 y 54.2 μg en el primero y segundo bioensayo respectivamente (Tabla XIX).

Tabla XIX. Promedios por larva de peso seco total (PST), peso seco orgánico (PSO) y cenizas obtenidas en mysis I de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas durante los bioensayos.

Tratamiento	Bioensayo	<i>Chaetoceros</i>	<i>Thalassiosira</i>	Mezcla
PST (μg)	1	74.6 \pm 6.1 ^b	45.6 \pm 3.4 ^a	75.9 \pm 6.7 ^b
	2	66.7 \pm 0.3 ^c	48.5 \pm 0.9 ^a	54.2 \pm 2.3 ^b
PSO (μg)	1	60.8 \pm 0.9 ^b	37.0 \pm 3.1 ^a	60.0 \pm 0.1 ^b
	2	46.8 \pm 1.2 ^c	30.0 \pm 0.1 ^a	35.1 \pm 1.9 ^b
Cenizas (%)	1	18.5 \pm 2.4 ^a	19.0 \pm 2.0 ^a	20.7 \pm 3.0 ^a
	2	29.9 \pm 2.0 ^a	38.2 \pm 1.1 ^c	35.2 \pm 0.8 ^b

En referencia al peso seco orgánico en larvas alimentadas con *Chaetoceros* se presentaron promedios de 60.8 μg y de 46.8 μg en el primero y segundo bioensayo respectivamente.

Con *Thalassiosira* las larvas tuvieron promedios de PSO de 37.0 μg y 30.0 μg para el primer y segundo bioensayo respectivamente.

Los organismos a los que se les suministró la mezcla mostraron un peso seco orgánico de alrededor de 60.0 μg para el primer bioensayo y de 35.1 μg para el segundo.

Durante el primer bioensayo *Thalassiosira* resultó ser significativamente diferente de *Chaetoceros* ($p=0.007$) y de la mezcla ($p=0.006$) en referencia al peso seco total y peso seco orgánico. En cuanto al PSO para ambas dietas se obtuvo una $p = 0.002$ (Tabla XIX).

Mientras tanto en el segundo bioensayo las tres dietas dieron resultados diferentes tanto en peso seco total como en peso seco orgánico.

En lo que concierne al porcentaje de cenizas se tiene que en el primer bioensayo no hay diferencias entre las dietas. Sin embargo en el segundo todas son diferentes entre sí, registrando *Thalassiosira* el contenido más alto con 38.2% y el más bajo con *Chaetoceros* (29.9%) (Tabla XIX).

La composición proximal de larvas en base a peso seco orgánico es la siguiente: Durante el primer bioensayo el contenido de proteínas fue mayor en larvas alimentadas con *Chaetoceros* (14.38%), siguiéndole en orden descendente *Thalassiosira* (13.61%) y la mezcla (13.31%). Mientras que en el segundo bioensayo las alimentadas con la mezcla denotaron el contenido más alto con 9.63%. Sin embargo, no se presentó diferencia significativa entre las dietas (Fig.15).

En cuanto a carbohidratos, en el primer bioensayo se tiene que las larvas que fueron alimentadas con la mezcla exhibieron 11.21% y presentó una diferencia altamente significativa ($p= 0.002$) con respecto a las otras dietas cuyos contenidos son menores a 1.6% (Fig. 15).

En el segundo bioensayo, fue *C. muelleri* quien proporcionó a las larvas de camarón mayor contenido de carbohidratos (13.91%) y mostró una diferencia altamente significativa hacia *Thalassiosira* y mezcla ($p=0.0002$).

Con respecto a lípidos, en el primer bioensayo se observó que *Thalassiosira* otorgó a las larvas 2.09% y fue el contenido más alto. *Chaetoceros* por su parte fue la que menos aportó y produjo 1.14%. Sin embargo en este caso no se observaron diferencias significativas en el contenidos de lípidos de las larvas alimentadas con las distintas dietas. En el segundo bioensayo los porcentajes de lípidos en los organismos fueron mayores; pero presentaron el mismo comportamiento. No obstante, en este bioensayo el contenido de lípidos en los organismos alimentados con *Chaetoceros*, mostró ser significativamente menor que con la mezcla ($p=0.026$) y la *Thalassiosira* ($p= 0.004$) (Fig. 15).

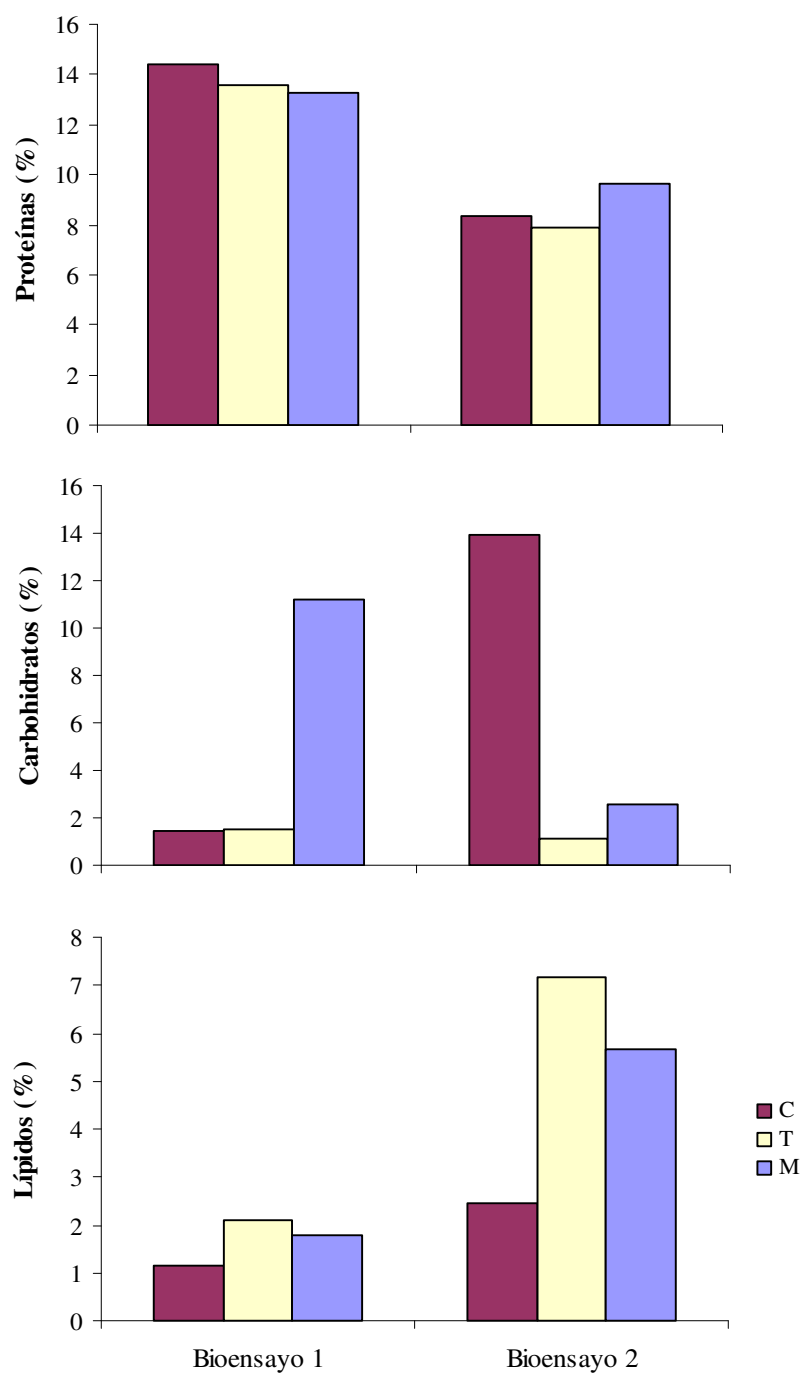


Figura 15. Porcentaje por larva de proteínas, carbohidratos y lípidos con base a peso seco orgánico contenidos en mysis I de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas algales: *Chaetoceros muelleri* (C), *Thalassiosira weissflogii* (T) y una mezcla de ambas microalgas (M).

V.- DISCUSIÓN

V.1.- MICROALGAS

Debido a que en la camaronicultura es importante contar con grandes cantidades de postlarvas de excelente calidad, es evidente que se requiere investigar con detenimiento los diferentes aspectos relacionados con la alimentación larvaria, que es un factor clave para el éxito de los laboratorios de producción comercial de postlarvas (De Silva 2000).

La cantidad y la calidad de alimento suministrado a las larvas de camarón se consideran factores críticos para su supervivencia y crecimiento equilibrado y debido a que la nutrición de las larvas se basa primordialmente en el suministro de dietas algales en los primeros estadios, éstas deben reunir las características dietéticas necesarias para satisfacer los requerimientos fisiológicos de las larvas de peneidos (Kuban *et al*, 1985; Martínez Córdova, 1999). Las especies más utilizadas para estos organismos son las de los géneros *Tetraselmis*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Chlorella* y *Thalassiosira*. A pesar de los esfuerzos por tratar de substituir el uso de las microalgas en los laboratorios comerciales por alimento artificial, éste no ha dado resultados satisfactorios, razón por la cual las microalgas siguen siendo la principal o única dieta de los organismos en los laboratorios de producción comercial (Cotteau y Sorgeloos, 1992).

Se menciona que tanto la temperatura como la intensidad de luz son factores estrechamente relacionados en el crecimiento de microalgas y deben ser considerados en la evaluación de la producción de biomasa, así como para su caracterización general (Knutsen y Skjanes, 1999).

La biomasa registrada en los cultivos masivos de microalgas del laboratorio comercial “Acualarvas”, S.A. de C.V. se vió influida por la especie, la temperatura y la

intensidad luminosa. En referencia a la influencia de la especie, tenemos que los cultivos de *Chaetoceros muelleri* presentaron concentraciones celulares mayores a los cultivos de *Thalassiosira weissflogii*.

En los cultivos de ambas especies las concentraciones celulares más elevadas se presentaron a temperaturas de 28 a 28.5°C y las menores concentraciones a temperaturas de 30 °C, deduciendo así que la temperatura tuvo una relación inversa con la biomasa. En cambio el pH se encuentra relacionado de manera relativamente directa, conforme aumenta la densidad celular se incrementa el pH hasta llegar a un nivel inhibitorio.

De todos los factores que controlan el crecimiento de las microalgas, la luz y la temperatura son los que muestran más variaciones, tanto diarias como estacionales, dependiendo el éxito ecológico de cada especie de su respuesta fisiológica para adaptarse a los cambios del medio. La velocidad de crecimiento en la fase logarítmica, se ve igualmente afectada por estas variables (López Muñoz *et al.*, 1992).

Es evidente que la irradiación solar directa en los cultivos de microalgas es un grave problema para los laboratorios comerciales de producción de larvas de camarón debido a que a niveles superiores a los 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y menores a los 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (promedio diario de intensidad luminosa) tiende a inhibir el crecimiento celular, volviéndose un factor limitante. Dentro del intervalo antes mencionado existe una relación directa entre la intensidad de luz y la concentración celular, la cual depende también de la especie cultivada. Por ejemplo, en cultivos de *C. muelleri* a niveles de 250 a 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ se registraron biomásas de más de 1×10^6 cél. ml^{-1} . En cambio, al ser expuestos a irradiaciones de 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ se obtuvieron concentraciones de 873,000 cél. ml^{-1} , mientras que *Thalassiosira weissflogii* bajo las mismas condiciones de cultivo presentó concentraciones

de 497,000 y 325,000 cél.ml⁻¹ respectivamente. Cabe aclarar que las concentraciones más altas se obtuvieron en condiciones de verano y las más bajas en condiciones de invierno.

Al cultivarse en estanques (pilas) al exterior, las microalgas están sujetas a variaciones diurnas, no sólo de intensidad de luz, sino también de temperatura y de oxígeno. Altas intensidades de luz pueden ir en detrimento de los cultivos algales (Pedroni *et al.*, 2001)

López Muñoz *et al.* (1992) cultivaron cuatro especies de microalgas marinas bajo diferentes combinaciones de luz y temperatura y confirmaron que a una temperatura constante, la velocidad de crecimiento aumenta conforme se incrementa la intensidad luminosa en los cultivos.

Borbón Muñoz y Victoria Gallardo (1996) y Tinoco Villa (1996) cultivaron *Chetoceros muelleri* en un mismo laboratorio comercial de Sonora en situaciones de verano y de invierno, con rutinas de diferente duración, encontrando que la producción de un día de verano es mayor a la obtenida en tres días de cultivo de invierno. De forma similar, Peraza Contreras (2002) cultivó *Chetoceros muelleri* en diferentes combinaciones de temperatura e iluminación, confirmando una mayor tasa de crecimiento a 30°C y 350 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A 30°C, los cultivos se encontraban en la parte final de la fase de crecimiento activo o al inicio de la fase estacionaria después de 48 horas, mientras que con las temperaturas menores (20°C) las células se estaban reproduciendo todavía de acuerdo al modelo exponencial.

López Elías (2002) reporta que en los Estados de Sonora y Sinaloa la relación de la concentración celular con los niveles de luz resultó ser diferente, involucrando una mayor concentración celular con las mayores intensidades de luz en Sonora.

En registros con *Chaetoceros gracilis* cultivada en diferentes combinaciones de temperatura e iluminación, se reportaron tasas de crecimiento más elevadas a temperaturas de 25 y 30 °C con intensidades luminosas de 2500 y 5000 lux (50 y 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ respectivamente). En los cultivos a 30°C se obtuvieron tasas de 0.62 y 0.73 divisiones por día, correspondiendo 0.73 a los cultivos con 2500 lux. En cambio a 25°C la tasa más alta se obtuvo con 5000 lux. www.aquatext.com (2002).

López Elías (2002) encontró que en laboratorios comerciales de Sonora existe una correlación negativa entre la temperatura, la densidad celular y los tres constituyentes celulares (proteínas, carbohidratos y lípidos). En laboratorios comerciales de Sinaloa se encontró la misma relación para proteínas y carbohidratos en las microalgas, pero la correlación fue positiva con respecto a la densidad celular (Chavira Ortega, 2000; Rodríguez Rodríguez, 2000; Saenz Gaxiola, 2000). A su vez Guevara Ponce (2002) al cultivar *Chaetoceros muelleri* bajo diferentes combinaciones de iluminación y temperatura encontró una tendencia a menores concentraciones celulares para la temperatura de 30°C.

Lavens y Sorgeloos (1996) mencionan que la temperatura óptima para el cultivo de microalgas generalmente está entre 20 y 24°C, sin embargo la tolerancia a la temperatura puede variar con la composición del medio de cultivo y la especie. Otros autores mencionan que las especies de microalgas más utilizadas toleran temperaturas de 16 a 27°C y que temperaturas menores a 16°C causan crecimientos muy bajos en los cultivos, mientras que temperaturas mayores a 35°C son letales para algunas especies (Gutiérrez Sumuhano, 2002; Pérez Martínez, 2002; Peraza Contreras, 2002).

En estudios para evaluar el efecto interactivo de la temperatura e intensidad de luz se observó que el crecimiento en las microalgas es inhibido por altas intensidades de luz a

bajas temperaturas, mientras que las mismas intensidades de luz a altas temperaturas no son inhibitorias (Healey, 1983).

En este trabajo el contenido de lípidos en ambas microalgas mostró valores más elevados a bajas intensidades de luz. Los carbohidratos fueron el componente minoritario y presentaron diferente respuesta a la intensidad de luz, es decir en *C. muelleri* no presentaron una relación definida con ambas variables, mientras que en *T. weissflogii* el contenido de carbohidratos se incrementó conforme aumentó la temperatura y la intensidad luminosa. Las proteínas presentaron una relación inversa a la intensidad de luz y a la temperatura en el caso de *C. muelleri*. En cambio con *T. weissflogii* sucedió lo contrario. Los contenidos de los constituyentes químicos obtenidos en el presente estudio, son superiores a los citados por Lavens y Sorgeloos (1996), quienes reportaron el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos con valores de 12-35%, 7.2-23% y 4.6-23% respectivamente.

López Elías (2002) reportó que las proteínas producidas por las microalgas cultivadas en laboratorios comerciales de Sonora aumentaron a temperaturas menores, sin relación con el nivel de iluminación, mientras que en Sinaloa esta fracción no varió en paralelo con los cambios de las dos variables consideradas en los ensayos (luz y temperatura). Diferencias del mismo tipo se encontraron en los dos estados (Sonora y Sinaloa), en lo concerniente a la producción de carbohidratos por las microalgas, sin relación con ambas variables en Sonora e inversamente relacionados con la temperatura en Sinaloa. En el caso de la producción de lípidos, el resultado es inverso, en microalgas producidas en Sonora mostraron valores menores en situaciones de alta temperatura, lo cual no corresponde a lo encontrado en los laboratorios de Sinaloa.

McGinnis *et al.* (1997) observaron que en cultivos de *C. muelleri* (pobres en

nitrógeno), el contenido de lípidos se incrementaba de 5 a 7 veces a altas intensidades de luz. Zhu *et al.* (1997), al evaluar el efecto de la temperatura sobre el contenido de lípidos y composición química en *Isochrysis galbana* TK1, encontraron que a mayor temperatura (30°C) el contenido de lípidos fue de 25% del peso seco en la fase exponencial y se incrementó en la fase estacionaria. Conjuntamente, el mayor contenido de carbohidratos tendió a acumularse en la fase estacionaria y a bajas temperaturas. Contrariamente el contenido de proteínas fue más alto en la fase exponencial.

Por todo lo mencionado anteriormente, es evidente que el éxito de una microalga como alimento depende de su calidad nutricional, así como de su tolerancia a la temperatura, salinidad e intensidad de luz, principalmente si es cultivada al exterior (Brown *et al.*, 1997).

Voltolina *et al.* (2000) mencionaron que en el caso de los laboratorios comerciales, la mejor dieta microalgal es la que está disponible constantemente y que puede producirse con regularidad, ya que debido a las cambiantes condiciones de cultivo es inevitable la variación que impide asegurar la composición que se considera deseable, en términos de contenidos de los constituyentes químicos.

Las diatomeas siempre han sido consideradas como una fuente adecuada de energía para el zooplancton, y particularmente para copépodos, para sustentar la producción secundaria en términos de crecimiento y/o reproducción (Carotenuto *et al.*, 2002).

V.2.- LARVAS

Al realizar los bioensayos de alimentación a larvas de camarón blanco (*Litopeneus vannamei*), se confirmó que *Chaetoceros muelleri* y la dieta mixta (*C. muelleri* y *T. weissflogii*) fueron las mejores dietas, ya que con ellas se obtuvieron los porcentajes más altos de supervivencia, las mayores dimensiones de longitud total, longitud del cefalotórax y ancho de la larva, así como un desarrollo larvario más sincrónico. Además que entre ellas no se presentó una diferencia altamente significativa, sucediendo lo contrario con las larvas alimentadas sólo con *T. weissflogii*.

La supervivencia de los organismos estuvo influida por la alimentación, ya que el porcentaje de mortalidad dependió de la calidad de la dieta. Al mismo tiempo, se vio afectada por el estadio larvario y la temperatura. Se observó que la supervivencia disminuyó conforme avanzó el estadio larvario.

La supervivencia de las larvas presentó la misma tendencia en los dos primeros bioensayos y en el tercero los porcentajes de supervivencia en los diferentes estadios fueron menores debido al descenso en la temperatura, ya que el primer bioensayo se realizó en verano y el último en condiciones de invierno.

La diferencia entre las dietas empezó a ser significativa a partir del estadio de zoea II (ZII). Sin embargo, es a partir de zoea III (ZIII) donde la diferencia entre ellas se hizo más evidente; denotando los porcentajes de supervivencia más altos para las larvas alimentadas con *C. muelleri* y la mezcla.

Naranjo *et al.* (1999) al evaluar el efecto de diferentes microalgas (*Chaetoceros gracilis*, *Dunaliella* sp. e *Isochrysis galbana*), en el desarrollo larvario del camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*) encontraron que la supervivencia más alta se obtuvo en

larvas alimentadas con *C. gracilis* y con la combinación de *C. gracilis* y *Dunaliella* sp. Con base en estos resultados recomiendan a *C. gracilis* como una buena fuente nutricional para larvas de *F. californiensis*.

Kuban *et al.* (1985) al evaluar diferentes dietas algales (*Chaetoceros gracilis*, *Skeletonema costatum*, *Isochrysis* sp. y *Tetraselmis chuii*), para la alimentación de larvas de cuatro especies de camarón (*L. vannamei*, *F. aztecus*, *L. setiferus* y *L. stylirostris*) corroboraron que *Chaetoceros gracilis* (sola o en combinación) promovió las mayores supervivencias hasta el estadio de mysis I (95-96% para *L. vannamei*).

Algunos autores al trabajar con una sola microalga (*C. muelleri* o *Isochrysis* “*Tahiti*”), a diferentes concentraciones para alimentar larvas de camarón (*L. vannamei*), no encontraron diferencias en el porcentaje de supervivencia y de desarrollo larvario (Guevara Ponce, 2002; Reyes Zamorano 2002; Burgueño Loaiza, 2002).

Generalmente, las larvas de camarón producidas en laboratorios comerciales provienen de desoves más o menos simultáneos de varios reproductores. Debido a las diferencias existentes entre los reproductores, el desarrollo larvario puede presentar un asincronismo relativamente elevado. No obstante, en este estudio no se presentó ese problema, ya que el desarrollo larvario fue más o menos uniforme. Sólo en las larvas alimentadas con *Thalassiosira weissflogii* se llegaron a presentar tres subestadios en el quinto día en el primer y segundo bioensayo. Cabe mencionar que en dichos experimentos se utilizaron nauplios comprados a otros laboratorios (Maricultura del Pacífico, S.A. de C.V. y Acuicultores de la Paz, S.A. de C.V., respectivamente).

En trabajos realizados en paralelo se confirmó la falta de asincronismo en el desarrollo larvario, a pesar de que los nauplios procedían de desoves simultáneos de

distintos reproductores. La falta de asincronismo es evidente debido al bajo número de casos en que se presentan más de dos estadios larvarios en forma simultánea en los cultivos (Guevara Ponce, 2002; Reyes Zamorano, 2002).

En este estudio la velocidad de metamorfosis de los organismos no presentó diferencia entre las dietas. Sin embargo, los porcentajes aparentemente más altos del estadio de mysis I, se exhibieron en larvas alimentadas con las dietas a base de *C. muelleri*, alcanzando dicho estadio en menos tiempo (aproximadamente 12 horas).

Kuban *et al.* (1985) sugirieron que *C. gracilis* sola o en combinación con nauplios de *Artemia* sp. es superior nutricionalmente a las fitoflageladas para obtener mayor porcentaje de metamorfosis particularmente en *L. vannamei* y *L. stylirostris*. Asimismo, Naranjo *et al.* (1999) citan que al evaluar diferentes microalgas para alimentación de larvas de camarón café (*F. californiensis*), fue evidente un retraso en la velocidad de metamorfosis de las larvas en aquellos tratamientos en los que *C. gracilis* no fue utilizada. El completar en menor tiempo el desarrollo larvario representa un ahorro económico significativo para los laboratorios de producción de postlarvas.

La temperatura influyó directamente en el desarrollo larvario y en la supervivencia ya que cuando se midieron temperaturas menores a los 26°C, se observó que la mortalidad y el tiempo de metamorfosis de las larvas aumentaban. Muy particularmente en el tercer bioensayo, algunas veces se presentaron diferentes temperaturas para una misma dieta dependiendo de la distancia entre la unidad experimental y el sistema de calefacción, observando que el grado de desarrollo fue menor en las unidades experimentales con menor temperatura, sucediendo lo mismo en el caso de la supervivencia.

Con respecto al crecimiento se comprobó que las larvas a las que se les suministró como alimento *Chaetoceros muelleri* y la mezcla, mostraron mayores dimensiones en cuanto a longitud total, longitud del cefalotórax y al ancho.

Naranjo *et al.* (1999) reportaron que en cuanto al tamaño de las larvas, fueron evidentes las diferencias significativas a partir de Zoea II, obteniendo el mayor tamaño cuando se les proporciónó dietas a base de *I. galbana* y *C. gracilis*.

El contenido de peso seco total y peso seco orgánico fue mayor en larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri* y con la mezcla. Kuban *et al.* (1985) en un estudio realizado con larvas de cuatro especies de camarón encontraron que los valores más altos de peso seco se registraron en larvas alimentadas con dietas que incluían a la diatomea *Chaetoceros gracilis* y mencionan que el crecimiento larval, en términos de biomasa más que la supervivencia y/o tasa de metamorfosis, es la mejor medida del valor nutricional de una dieta. No obstante, para un laboratorio comercial tiene mayor valor una larva que presente una mayor velocidad de desarrollo larvario.

Entre los componentes dietéticos a considerar para organismos cultivados, se menciona que el requerimiento de proteínas en camarones peneidos es una consideración nutricional muy importante porque las proteínas son el nutriente limitante para el crecimiento y es uno de los componentes más costosos en dietas artificiales. El requerimiento de proteínas en el camarón cambia de acuerdo a los factores bióticos (por ejemplo: especie, estado fisiológico y talla) (Kureshy y Davis, 2000). Los factores abióticos tales como la temperatura y la salinidad también pueden afectar el requerimiento de proteínas (Guillaume, 1997).

En este trabajo la composición química de las larvas varió de acuerdo a la dieta y a

la temperatura. En relación a la fracción orgánica de las larvas de *L. vannamei*, el contenido de proteínas fue mayor en verano que en invierno. Además, los valores más altos se obtuvieron en larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri*. Los carbohidratos fueron los compuestos orgánicos minoritarios con una alta variabilidad en la mayoría de los casos. En cambio el contenido de lípidos se incrementó conforme decreció la temperatura y los valores más altos se presentaron en larvas alimentadas con *Thalassiosira weissflogii*.

VI.- CONCLUSIONES

- Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye que no se debe generalizar en relación a la calidad nutricia de dietas para organismos filtradores, principalmente camarón.
- En el caso de los cultivos de microalgas se concluye que la cantidad y calidad de la biomasa producida en los dos ciclos de cultivo, varió en función de la especie, rutinas de producción y de las condiciones ambientales.
- La relación de la concentración celular y la temperatura fue inversa y poco significativa. En cambio, la intensidad luminosa presenta una relación directa con la biomasa, sólo que a niveles extremos se vuelve un factor limitante e inhibe el crecimiento de las microalgas.
- Las mayores supervivencias de *Litopeneus vannamei* se obtuvieron con las dietas que incluían a la diatomea *Chaetoceros muelleri*. De igual manera sucedió con el desarrollo larvario, ya que los mayores porcentajes de metamorfosis se presentaron en larvas alimentadas con dietas a base de *Chaetoceros muelleri* (sola o en combinación con *Thalassiosira weissflogii*).
- Las mayores tallas de *Litopeneus vannamei* se alcanzaron con *C. muelleri* y con la dieta mixta (*C. muelleri*: *T. weissflogii*).

LITERATURA CITADA

- Abalde, J., A. Cid, P. Fidalgo, E. Torres y C. Herrero. 1994. Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. Universidad da Coruña. Servicio de publicaciones. 210 pp.
- Abatzopoulos, T.J., G.V. Triantaphyllidis, J.A. Beardmore y P. Sorgeloos. 1997. Cyst membrane protein composition as a discriminant character in the genus *Artemia*. (International study on *Artemia* LV). Journal Marine Biology. Ass. UK. 77: 265-268 p.
- Aguirre Hinojosa, E., M.A. López Torres y M.C. Garza Aguirre. 1999. Cultivo larvario de camarones peneidos. En: L.R Martínez Córdova (ed.). Cultivo de camarones peneidos. Principios y prácticas. AGT editor, S.A., México D.F., 67-104 p.
- Alceste Oliviero, C. y M. Martínez Espinoza. 2000. Regional Review of Aquaculture Status and Development Trends in Latin America and the Caribbean. Conference on Aquaculture in the Third Millenium. NACAP-FA. Bangkok, Febrero 2000. 23-30 p.
- Alfonso, E. 1993. Larvicultura. En: E., Alfonso, L. Ramos, E. Díaz-Iglesias, T. García y C. Rosas (Eds). Manual del II Curso internacional de producción de postlarvas de camarones peneidos del Atlántico de América. Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F., 39-79 p.
- Bautista M.N, Millamena O.M. y Kanazawa. 1990 Use of kappacarragenan microbound diet (C-MBD) as feed for prawn larvae. En: J.H., Córdova Murueta. 1992.Utilización de productos naturales en la alimentación de camarones peneidos en Baja California. Tesis de Maestría. CICESE. 114 pp.
- Becker, E.W. 1986. Nutritional propierties of microalgae: potential and constraints. En: A. Richmond (Eds.) Handbook of microalgal mas culture. CRC Press, Boca Raton, Florida. 339-419 p.
- Benemann, J. R. 1992. Microalgae Aquaculture feeds. Journal of Applied Phycology 4:233-245 p.
- Bligh, E. y W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal Biochemistry Physiology. 37: 911-917 p.
- Bonotto, S. 1988. Food and chemicals from microalgae. Program Oceanogr. 21: 207-215 p.
- Borbón Muñoz, R.E. y A. Victoria Gallardo. 1996. Producción masiva de microalgas marinas (*Chaetoceros muelleri*) en condiciones controladas y a la intemperie durante otoño de 1994 y verano de 1995 en Bahía Kino, Sonora. Tesis de licenciatura no publicada. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora. 101pp.

- Bringas Alvarado, L., J.M., Ezquerro Brauer y J.A., López Elías. 1999. Nutrición. En: L.R. Martínez Córdova (ed.). Cultivo de camarones peneidos. Principios y prácticas. AGT editor, S.A., México D.F. 67-104 p.
- Brown, M.R. 1991. The aminoacid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Journal Exp. Mar. Biol. Ecol.* 145:79-99 p.
- Brown, M.R., C.D. Garland, S.W. Jeffrey, I.D. Jameson y J.M. Leroi. 1993. The gross and aminoacid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochrysis* sp. (Clone T_Iso), *Pavlova lutheri* and *N. Oculata*. *Journal of Applied Phycology*, Bélgica. 5:285-296 p.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman y G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151:315-331 p
- Burgueño Loaiza, R. 2002. Efecto de la temperatura y de la luz sobre la composición y el valor dietético de la microalga *Isochrysis* "Tahiti" para el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. 55pp.
- Carotenuto, Y., A. Ianora, I. Buttino, G. Romano y A. Miralto. 2002. Is postembryonic development in the copepod *Temora stylifera* negatively affected by diatom diets?. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*. 276 (2002) 49-66 p.
- Cid, A., J. Abalde y C. Herrero. 1992. Crecimiento y composición bioquímica de la microalga marina *Tetraselmis suecica* en cultivos mixotróficos con distintos azúcares y aminoácidos. *Canadian Biology Marine*. 33: 169-178 p.
- Cordero Esquivel, B. 1994. Evaluación de diferentes métodos de preservación de microalgas y su efecto sobre el crecimiento de *Mytilus galloprovincialis*. Lamarck. Tesis de Doctorado. C.I.C.E.S.E. 93 pp.
- Cordero Esquivel, B. y D. Voltolina. 1996. Nutritional value of preserved microalgae for subadult *Mytilus galloprovincialis*. *Journal World Aquaculture Society*, 27 (1): 113-118 p.
- Cordero Esquivel, B. y D. Voltolina. 1997. Viability of mass algal cultures preserved by freezing and freeze-drying. *Aquacultural Engineering*. 16: 205-211 p.
- Correa Sandoval, F. y L.F. Buckle Ramírez. 1993. Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Revista Biología Tropical*. 42: 605-609 p.
- Coutteau, P. y P. Sorgeloos. 1992. The use of algal substitutes and the requirements for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve mollusk: an international survey. *Journal of Shellfish Research*. 2(11):467-476.

- Cotteau, P., I. Geurden, M.R. Camara, P. Bergot y P. Sorgeloos. 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155: 149-164 p.
- Currie, D.J. 2000. Aquaculture: an opportunity to benefit mankind. *World Aquaculture*. 31(1):44-49 p.
- Cury, P. y C. Roy, 1989. Optimal environmental window and pelagic fish recruitment success in upwelling areas. *Journal of Fishery and Aquatic Sciences*. 46:670-679 p.
- Chavira Ortega, C.O. 2000. Evaluación del sistema de producción de microalgas de un laboratorio comercial. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sin., 53 p.
- Chen, X. 1996. Production of ω -3 polyunsaturated fatty acids with marine microalgae. M.Sc. thesis, Da Yen Institute of Technology: 184 pp.
- Chu, F.E., K.L. Webb, D.A. Hepworth y B.B. Casey. 1982. Polysaccharide composition of five algal species used as food for larvae of the American oyster. *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*. 29: 241-252 p.
- De Paw, N. y G. Persoone. 1988. Microalgae for aquaculture. En: M.A. Borowitzka y L.J. Borowitzka (eds.). *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, New York. 197-221 p.
- De Silva, S.S. 2000. A global perspective of aquaculture in the new millennium. 51-100. Conference on aquaculture in the Third millennium. Network of Aquaculture for Asia-Pacific y Food and Agriculture Organization, Bangkok, Thailand.
- Delaunay, F., Y. Marty, J. Moal y J.F. Samain 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L) larvae. *Journal Experimental Marine Biology Ecology*. 173: 163-179 p.
- Dring, M.J. 1987. *The Biology of Marine Plants*. Edward Arnold Pub. Ltd., London, 199 p.
- Dubois, M., K. Guilles, J. Hamilton, P. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350-356 p.
- Dunstan, G.A., J.K. Volkman., S.W. Jeffrey y S.M. Barret 1992. Biochemical composition of microalgae from the green algal classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. Lipid classes and fatty acids. *Journal Experimental Marine Biology Ecology* 161:115-134 p.

- Dunstan, G.A., J.K. Volkman., S.M. Barret, J.M. Leroi y S.W. Jeffrey 1994. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae). *Phytochemistry*. 35 (1): 155-161p.
- Fábregas, J., J. Abalde, D. Herrero, B. Cabezas y M. Veiga. 1984. Growth of the marine microalga *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. *Aquaculture*. 42: 207-245 p.
- Funge-Smith, S. 1999. Small-scale rural aquaculture in LAO PRD. *FAO Aquaculture Newsletter*. 23:17-21p.
- Garza Aguirre, M.C. y Aguirre Hinojosa, E. 1999. Reproducción en cautiverio de camarones peneidos. En: L.R. Martínez-Córdova (ed.). *Cultivo de camarones peneidos. Principios y prácticas*. AGT editor, S.A., México D.F., 39-65 p.
- Guevara Ponce, E.Y. 2002. Evaluación del efecto de la temperatura y de la iluminación en cultivos semicontínuos de la diatomea *Chaetoceros muelleri* utilizada como alimento para larvas de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. 57pp.
- Guillaume, J. 1997. Protein and amino acids.. En L.R., D. Abramo, D.E. Conklin and D.M. Akiyama (Eds.) *Crustacean nutrition*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, 26-50 p
- Gutiérrez Sumuhano, A.S. 2002. Efecto de la luz y la temperatura sobre la composición bioquímica y la velocidad de crecimiento de la microalga *Isochrysis* sp. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias del Mar. Mazatlán, Sin. 50 pp.
- Harrison , K.E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans a review. *Journal of Shellfish Research*, 19(1):1-28 p.
- Healey, F.P. 1983. Effect of temperature and light intensity on the growth rate of *Synura sphagnicola*. *Journal of Plankton Research*. 5(5):767-775p.
- Herrero, C., B. Cabezas, J. Abalde y J. Fabregas. 1985. Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media. *Aquaculture Engineering* 10: 99-110 p.
- Holland, D. L. y B. E. Spencer. 1973. Biochemical changes in fed and starved shrimp, *Litopenaeus vannamei*., during larval development, metamorphosis and early spat growth. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 53:287-288 p.

- Hudinaga, M. 1942. Reproducción, development, and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. Journal Zoology. 10:305-393 p.
- Hudinaga, M. y J., Kittaka. 1967. The large scale production of the young kuruma prawn *Penaeus japonicus* Bate. Inf. Bull. Plankt. Jap. (Commemoration number of Dr. Y. Matsue): 35-46 p.
- Ibeas, C., J.R. Cejas, R. Fores, P. Badía, T. Gómez y A. L. Hernández. 1997. Influence of eicosapentaenoic to docosahexaenoic acid ratio (EPA/DHA) of dietary lipids on growth and fatty acid composition of gillthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. Aquaculture. 150: 91-102 p.
- Kinsella, J.E., B. Lokesh y R.A. Stone 1990. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: Possible mechanisms. Am. J. Clin Nutr. 52: 1-28 p.
- Knutsen, G. y K. Skjanes. 1999. Simple growth chambers for culturing microalgae with precision at different temperatures and irradiance. Journal of Applied Phycology 11:487-491p.
- Kuban, F.D., A.L. Lawrence y J.S. Wilkenfeld. 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. Aquaculture. 47:151-162 p.
- Kureshy, N. y D.A. Davis 2000. Metabolic requeriment for protein by pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. 161-180 p. En: L.E, Cruz Suárez, D. Ricque-Marie, M., Tapia Salazar, M. A., Olvera Novoa y R. Civera Cerecedo (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 1998. Mérida, Yucatán., México.
- Lavens, P. y P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361. Rome, FAO. 295 p.
- Lee, Y. K. 1997. Commercial production of microalgae in Asia-Pacific rim. Journal of Applied Phycology. 9: 403-411 p.
- Leger, P.A., D.A. Bengston, P. Sorgeloos, K.L. Simpson y A. Deck. 1987. The nutritional value of *Artemia*: a review. En: P. Sorgeloos, D.A. Bengtson, W. Declair y E. Jasper (eds.). *Artemia* research and its applications. 3: 357-372 p.
- Liao, I.C., H.M. Su y J.H. Ling. 1993. Larval foods for Penaeid prawns. En: J.P. McVey (ed.). CRC Handbook of mariculture. Crustacean Aquaculture I: 29-59 p.
- López Elías, J.A., M. del C. Baez-Dueñas y N. Huerta-Aldaz. 1992. Manual de técnicas de cultivo de microalgas. CICTUS. Pub. Académicas # 5, Serie Ciencias Marinas 47 pp.

- López Elías, J. y D. Voltolina. 1993. Cultivos semicontínuos de cuatro especies de microalgas con un medio no convencional. *Ciencias Marinas*. 19(2):169-180.
- López Elías, J.A. (2002). Evaluación cuantitativa y cualitativa de los sistemas de producción de microalgas de seis laboratorios comerciales del Noroeste de México. Tesis de doctorado. Universidad de Colima. Facultad de Ciencias Veterinarias y Zootecnia. Tecomán, Colima. 117 p.
- López Muñoz, I.; J. Abalde y C. Herrero.1992. Crecimiento y contenido en pigmentos de cuatro especies de microalgas marinas cultivadas con diferentes temperaturas e intensidades de luz. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)* 3:59-65.
- Lowry O., N. Rosenbrough, A. Farr y Randall. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*. 193:265-275 p.
- Lucien-Brun, H. 1997. Evaluation of world shrimp production: fisheries and aquaculture. *World Aquaculture*. 28(4):21-23
- Martínez Córdova, L.R. y A. Campaña-Torres. 1999. Especies de peneidos actuales y potenciales para el cultivo. En: L.R Martínez-Córdova. (ed.). *Cultivo de camarones peneidos. Principios y prácticas*. AGT editor, S.A., México D.F. 23-38 p.
- McGinnis, K.M., T.A. Dempster y M. R. Sommerfeld (1997) Characterization of the growth and lipid content of the ditom *Chaetoceros muelleri*. *Journal of Applied Phycology*. Bélgica 9: 19-24 p.
- Mourente G., L.M. Lubián y J.M Odriozola. 1990. Total fatty acid composition as a taxonomic index of some marine microalgae used as food in marine aquaculture. *Hidrobiología*. 203:147-154 p.
- Napolitano, G.E. 1990. Fatty acid composition of three cultured algal species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *C. calcitrans*) used as food for bivalve. *Journal World Aquaculture Society*. 21:122-130 p.
- Naranjo, J., M.A. Porchas, M. Robles, F.J. Magallón, J. Valdez y H. Villarreal (1999). Supervivencia, metamorfosis y crecimiento de larvas del camarón *Penaeus californiensis* (Decápoda : Penaeidae) alimentadas con diferentes microalgas. *Revista de Biología Tropical*. 47(4) www.ots.duke.edu/tropbiojnl/claris/47-4-naranjo.html.
- Nelson, J.,S. Gurda, L. Cowell y Hefferman, P. 1992. Evaluation of microalgal clones for mas culture in a subtropical greenhouse bivalve hatchery: growth rates and biochemical composition at 30 °C. *Aquaculture* 106 :357-377 p.
- New, M.B. 1999. Global aquaculture: Current trends and challenges for the 21st century. *World Aquaculture*. 30 (1) : 8-13 p

- Ochoa Muñoz, M.V. 1994. Situación de la camaronicultura en México. Seminario Internacional de Camaronicultura en México. Mazatlán, Sinaloa, México. 12 p.
- Okauchi, M. 1991. The status of phytoplankton production in Japan. En: W. Fulks & K.L. Main (eds.) Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a US-Asia Workshop, Honolulu: 247-256 p.
- Okauchi, M. y K. Kawamura. 1997. Optimum medium for large-scale culture of *Tetraselmis tetrahele*. Hydrobiologia. 358: 217-22 p.
- Otero, A., D. García y J. Fábregas. 1997. Factor controlling eicosapentaenoic acid production in semicontinuos cultures of marine microalgae. Journal Applied Phycology 9:465-469 p.
- Pande, S., R. Khan y T. Venkitasubramanian. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. Analytical Biochemistry. 6: 415-423 p.
- Paniagua Chávez, C. 1993. Viabilidad, composición proximal y valor alimenticio de *Dunaliella* sp. preservada por congelamiento. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, México. 74 pp.
- Pedroni, P., J. Davison, H. Beckert, P. Bergman and J. Benemann. 2001. A proposal to establish an international network on biofixation of CO₂ and greenhouse gas abatement with microalgae. Journal of Energy and Environmental Research. 1(1):136-150 p.
- Pérez F., I. y B. Kensley. 1997. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. Key and diagnoses for the families and genera. Memoires du Museum National D'Histoire Naturelle. 175:1-233 p.
- Pérez Martínez, T. 2002. Efectos de la temperatura y de la iluminación en cultivos de *Chaetoceros calcitrans*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán Sin. Méx. 45 p.
- Rana, K., M. Perotti, S. Montanaro y A. Immink, 1998. Aquaculture production in China. FAO Aquaculture Newsletter. 20:9-10 p.
- Renaud, S.M., D.L. Parry, V.T. Luong, C. Kuo, . Padoran y N. Sammy. 1991. Effect of light intensity on proximate, biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. Journal Applied Phycology. 3:45-53 p.
- Reyes Zamorano, D.I. 2002. Influencia de la temperatura y de la intensidad de luz sobre la composición y el valor dietético de la diatomea *Chaetoceros muelleri* para la cría de

- larvas de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de maestría. Universidad de Sonora. 59 pp.
- Robert, R. y P. Trintignac. 1997. Substitutes for live microalgae in mariculture: a review. *Aquat. Living Resour.* 10:315-327 p.
- Rodríguez Rodríguez, B.B. 2000. Evaluación de las técnicas de producción de microalgas en el laboratorio comercial Generación 50, S.A. de C.V. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sin., 34 pp.
- Ronquillo, J.D., J.R. Matias, T. Saisho y S. Yamasaki. 1997. Culture of *Tetraselmis tetrahele* and its utilization in the hatchery production different penaeid shrimps in Asia. *Hydrobiologia.* 358: 237-244 p.
- Saenz Gaxiola, L.M. 2000. Producción de microalgas del laboratorio de cultivo de camarón No.2 de Maricultura del Pacífico. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sin., 48 pp.
- Sato, N. y N. Murata. 1980. Temperature shift-induced responses in lipids in the blue green alga *Anabaena variabilis*. The central role of diacylmonoalactosylglycerol in thermo adaptation. *Biochimica and Biophysica Acta.* 619:349-355 p.
- Sato, N. y N. Murata. 1988. Membrane lipids. *Methods and Enzymology.* 167:251-259 p.
- Sato, V. 1991. The development of a phytoplankton production system as a support base for finfish larval rearing research. En: W. Fulks y K.L. Main (Eds.), *Proceedings of a U. S.-Asia Workshop, Rotifer and microalgae culture systems.*The Oceanic Institute, Honolulu, 247-256 pp.
- SEPESCA. 1991. Métodos del cultivo del camarón en México. Secretaría de Pesca. México. 28pp.
- Shamsudin, L. 1992. Lipid and fatty acid composition of microalgae used in Malaysian aquaculture as live food for the early stage of penaeid larvae. *Journal Applied Phycology* 4: 371-378 p.
- Shelef, G. y C.J. Soeder. 1980 *Algal Biomass. Production and use.* Biomedial Press. Amsterdam. 852 pp.
- Sorokin, C. 1973. Dry weigth, packed cell volume and optical density. En: J. R. Stein (ed), *Handbook of Phycological Methods, Culture Methods and Growth Measurement.* Cambridge. Universal Press. 448 pp.
- Su, H.M., M.S. Su y I. C. Liao 1997. Collection and culture of live foods for aquaculture in Taiwan. *Hydrobiologia.* 358: 37-40 p.

- Sukenik, A., H. Takahashi y S. Makady. 1994. Dietary lipids from marine unicellular algae enhance the amount of liver and blood omega-3 fatty acids in rats. *Ann. Nutr. Metab.*, 38:85-96 p.
- Tacon, A.G.J. 2000. Increasing the contribution of aquaculture for food security and poverty alleviation. Conference on Aquaculture in Third millenium, Bangkok, Febrero 2000. NACAP-FAO. 102-206 p.
- Tinoco-Villa, O.D. 1996. Evaluación cualitativa y cuantitativa de la producción de cultivos masivos de la microalga marina *Chaetoceros muelleri* en invierno y primavera. Tesis de Licenciatura. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Sonora, México 86 pp.
- Trujillo Valle, M. L. y D. Voltulina. 1994. Cultivos de microalgas para la acuicultura. Serie Científica. Area de Ciencias Marinas. Universidad Autonoma de Baja California Sur. La Paz, B. C. S. México. 2(1):73-85 p.
- Volkman, J.K., G.A. Dunstan, S.M. Barret, P.D. Nichols y S.W. Jeffrey. 1992. Essential polyunsaturated fatty acids of microalgae used as feedstocks in aquaculture. En: Allan, G.L. y W. Dall (eds.): Proc. Aquaculture Nutritional Workshop, Salamander bay. NSW Fisheries, Brackis Station, Salamander Bay, Australia. 180-186 p.
- Voltolina, D. y López Elías, J.A. 2002. Cultivos de apoyo: tendencias e innovaciones. En Martínez Córdova, L.R. (ed.) Avances y Tendencias en Camaronicultura. AGT Editores, México, D.F. (en prensa).
- Voltolina, D., M. Nieves y P. Piña. 2000. Calidad de microalgas para la acuicultura. Pp 28-32. En R., Civera Cerecedo, C.J. Pérez Estrada, D. Ricque-Marie y L.E. Cruz Suárez (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. La Paz, B.C.S., México.
- Web, K. L. y F.L. E. Chu. 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. En: G. D. Pruder, Langdon C. Conklin D. (eds.) Proc. 2nd. Int. Conf. Aquaculture Nutrition. La. State Univ. Spec. Pub. No. 2, World Mariculture Society, Louisiana, 272-291 p.
- Whyte, J. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*. 60: 231-241 p.
- www.aquatext.com Specific rates of algae (divisions per day) at different light intensities and temperatures.
- Yamaguchi, K. 1997. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review. *Journal Applied Phycology* 8:487-502 p.

- Yúfera, M. y L.M. Lubian. 1990. Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. En: I. Akatsuka (ed.) Introduction to Applied Phycology. SPB. Academic Pub. The Hague: 209-227 p.
- Zhu, C.J., Y.K. Lee y M. Chao. 1997. Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1. Journal of Applied Phycology 9:451-457 p.

APÉNDICE

EVALUACIÓN DE LABORATORIOS DE PRODUCCIÓN DE MICROALGAS

- 1) Compañía: _____
 - 2) Especie producida: _____
 - 2.1) Capacidad instalada: _____

 - 2.2) Producción por año: _____
 - 3) Año de inicio de operaciones: _____
 - 4) Encargado del área de microalgas: _____

Años de experiencia profesional: _____
 - 5) Otro personal del laboratorio: Número: ____ Funciones: _____

- ¿ recibieron o reciben capacitación ? _____
- 6) Meses de operación al año: _____
 - 7) Volúmenes de producción diario: _____
¿ es constante ? _____
 - 8) Especies o cepas en cultivo (especifique m³/día y concentración promedio)

 - 9) Promedio de cultivos desechados/mes: _____
 - 9.1) Por falta de demanda: _____
 - 9.2) Por baja calidad: _____
 - 10) ¿ tienen problemas de producción ? _____

11) ¿ Cual es el más común ? _____

12) ¿ Que medidas correctivas utilizan ? _____

13) Cepas ¿ cuales tienen ? _____ ¿ Donde las consiguieron ?

¿ Como se mantienen ? (Medio, tipo de recipiente, frecuencia de transferencia, otros)

14) Cultivos masivos:

- Niveles de cultivo _____
- Duración de cada nivel: _____
- Medio de cultivo: _____ ¿ Es lo mismo para cada cepa o nivel ? _____
- Especifique:

- Preparación del medio ¿ puede dar especificaciones ? (frecuencia de preparación de soluciones, como se almacenan y utilizan

- ¿ Dónde compra los productos químicos? _____
- ¿ a que precio ? _____
- Recipientes para cultivo masivo (últimos 2 niveles): número. ¿ Puede dar una breve descripción? (Dimensiones, material, ubicación): _____

15) Rutina de limpieza de los recipientes ¿ Usa cloro? _____
¿ ácido? _____

16) Agua de mar
¿ De donde proviene? _____

¿Salinidad promedio? _____
¿Cómo llega al laboratorio? _____
¿Se clorina? ____ ¿Como se elimina el cloro? _____

Rutina de mantenimiento del U.V.: _____

17) Temperatura promedio del laboratorio: _____
¿Cómo se controla? _____
¿Cuantos equipos y de que capacidad? _____
¿En los cultivos al exterior que temperaturas tienen? _____

18) Corriente eléctrica ¿Conectados a la red? _____
¿Planta generadora? _____
Alumbrado: focos (¿Número/recipiente, wats, continuo o discontinuo _____
¿Miden intensidad? _____

19) Condiciones de cultivo
Aire comprimido (compresor o soplador) _____
¿Filtran el aire? _____ ¿Como? _____
¿Inyección de CO₂? ____ ¿Como? ____¿Miden el pH? ____