



**UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO" DE MANABI  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR ESPECIALIDAD  
BIOLOGIA PESQUERA**

**JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY  
ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON**

***"Cultivo de *Tetraselmis chuii* "Butcher, 1959" utilizando  
fertilizantes orgánicos en el laboratorio de Plancton Facultad  
Ciencias del Mar Manta-Manabí-Ecuador"***

**TESIS DE GRADO**

**Previo a la obtención del título de**

**BIOLOGO PESQUERO TUTOR:**

**BLGO. JUAN PABLO NAPA**

**MANTA – MANABI- ECUADOR**

**2013**

## CERTIFICACIÓN

Blgo. pesq. Juan Pablo Napa España, docente de la Facultad de Ciencias del Mar, especialidad Biología Pesquera de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, CERTIFICA: que Los señores, *Jennifer Elizabeth Acosta Pincay Roque Alberto Moreira Anton* realizaron la tesis de grado titulada: **“Cultivo de *Tetraselmis chuii* “Butcher, 1959” utilizando fertilizantes orgánicos en el Laboratorio de Plancton Facultad Ciencias del Mar Manta-Manabí-Ecuador”** bajo mi responsabilidad.

Atentamente,

Blgo. Juan Pablo Napa España  
Facultad Ciencias del Mar





## **DECLARACION EXPRESA**

La responsabilidad por los hechos, e ideas expuestas en la presente tesis nos corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma a la **UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ**

**Jennifer Elizabeth Acosta Pincay**

**Roque Alberto Moreira Antón**



## **TESIS DE BIOLOGO PESQUERO**

Sometido a consideración del Honorable Consejo de Facultad Ciencias del Mar, como requisito para obtener el Título de Biólogo pesquero, aprobado por el Tribunal.

Dr. Luis Ayala Castro Ph.D.  
**DECANO**

Blgo. Juan Napa España  
**DIRECTOR DE TESIS**

Blga. Sandra Solorzano Barcia  
**MIEMBRO PRINCIPAL**

Blga. Tania Lin Maldonado Sabando  
**MIEMBRO PRINCIPAL**

## **DEDICATORIA**

Cuando empecé a estudiar en la escuela siempre me apoyaron y me aconsejaban para seguir adelante para ser una persona de bien y poder colaborar con la sociedad, en mis errores y mis aciertos estuvieron a mi lado dándome la mano, sin ellos no sería lo que ahora soy por eso este proyecto de tesis se lo dedico a mis padres que me han apoyado para salir adelante en mis estudios y en la carrera que escogí para poder llegar a ser una profesional, que a pesar de los tropiezos me han apoyado.

**Jennifer Elizabeth Acosta Pincay**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco Dios por haber permitido llegar a esta etapa de mi vida a la facultad Ciencias del Mar por ser como mi segundo hogar, a los profesores por impartirme los conocimientos adquiridos día a día, al Blgo. Juan Pablo Napa por ayudarnos con el proyecto de tesis prestándonos el laboratorio para llevar a cabo nuestra investigación

**Jennifer Elizabeth Acosta Pincay**

## **DEDICATORIA**

La presente es dedicada con amor a mi Madre una mujer de ejemplar trayectoria Docente Lcda. Flor Antón Vélez, ella con sus consejos, paciencia y cariño siempre me dio la inspiración de triunfo; ahora lograr éste reconocimiento hace que sea ejemplo para mi progenie.

**Roque Alberto Moreira Antón**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de obtener conocimientos durante todo el periodo estudiantil desde: Escuela Juan Montalvo n° 41, Colegio Nacional 5 de Junio, y la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

También hago extensiva mi más sincera gratitud a los Profesores de la Facultad de Ciencias del Mar, y en especial a la buena guía del Biólogo Juan Pablo Napa España.

**Roque Alberto Moreira Antón**



## INDICE

CERTIFICACIÓN.....	II
DECLARACION EXPRESA .....	III
TESIS DE BIOLOGO PESQUERO .....	IV
DEDICATORIA .....	V
AGRADECIMIENTO .....	VI
DEDICATORIA .....	VII
AGRADECIMIENTO .....	VIII
INDICE .....	IX
RESUMEN.....	XI
SUMMARY .....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO PROBLEMA.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
OBJETIVOS: .....	5
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	5
HIPÓTESIS .....	6
VARIABLES.....	6
VARIABLES DEPENDIENTES .....	6
VARIABLE INDEPENDIENTE .....	6
CAPITULO I. LAS MICROALGAS .....	7
1.1 LAS MICROALGAS Y SUS APLICACIONES .....	7
1.1.1 CARACTERISTICAS GENERALES .....	11
1.1.2 COMPOSICIÓN .....	13
1.1.3 APLICACIONES.....	14
1.2 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LAS MICROALGAS .....	16
1.2.1 REQUERIMIENTOS GENERALES .....	17
1.2.2 MACRONUTRIENTES .....	18
1.2.3 MICRONUTRIENTES.....	20

CAPITULO II. MÉTODO DE CULTIVO .....	22
2.1 CULTIVO DE MICROALGAS .....	24
2.2 SISTEMA DE CULTIVO .....	26
2.3 TECNICAS DE CULTIVO .....	26
2.4 CULTIVO EXTERIORES .....	29
2.5 CULTIVO DE INVERNADERO .....	30
2.6 MEDIOS DE CULTIVO .....	30
2.7 CALIDAD NUTRICIONAL DE LAS MICROALGAS .....	38
2.8. EMPLEO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS .....	41
2.9 FERTILIZANTES INORGÁNICOS .....	43
CAPITULO III <i>Tetraselmis chuii</i> .....	45
3.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE .....	45
3.2 HABITAT Y BIOLOGIA .....	46
3.3 REPRODUCCIÓN .....	47
3.4 MORFOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN .....	48
3.5 COMPOSICIÓN .....	48
3.6 IMPORTANCIA COMERCIAL .....	49
CAPITULO IV MATERIALES Y METODO .....	52
4.1 MATERIALES .....	52
4.2 METODO .....	53
4.3 SELECCION DE LA ESPECIE .....	55
4.4 LUGAR DEL MUESTREO .....	57
4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL .....	58
CAPITULO V RESULTADOS .....	68
5.1 CRECIMIENTO DE <i>Tetraselmis chuii</i> .....	68
5.2 ANALISIS ESTADISTICO .....	122
5.3 CONCLUSIONES .....	123
5.4 RECOMENDACIONES .....	124
5.6 BIBLIOGRAFÍA .....	125
5.7 ANEXOS .....	127

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se lo realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias del Mar, Laboratorio de Plancton de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

Se efectuó un cultivo de la microalga *Tetraselmis chuii* utilizando un tipo de fertilizante orgánico, para la ejecución de este se procedió a realizar un cultivo semi-continuo de esta especie utilizando 2 Fiolas de 250 ml y 2 Fiolas de 500ml respectivamente, cada una de esta con su respectiva replica.

Se utilizó un fertilizante orgánico solido producido por Agropesa, cuya planta procesadora está ubicada en la Provincia de Santo Domingo vía a Quevedo, entre las características del producto podemos citar;

Materia orgánica.....	54,25%
Carbono.....	31,46%
Nitrógeno.....	2,25%
Fosforo.....	2,18%
Potasio.....	0,44%
Calcio y microelementos.....	2,04%

El monitoreo se lo realizó durante el lapso de cuatro meses, comenzando el lunes 8 de octubre del 2012 y culminando el 13 de enero del 2013.

Se tomaron en consideración varias variables entre las más relevantes podemos mencionar, temperatura, potencial Hidrogeno y la salinidad, parámetros que van de la mano con el crecimiento y desarrollo de la especie cultivada.

Además de esto se llevó control de crecimiento y se lo represento mediante una curva logarítmica, tomando en consideración el número de células por mililitros por medio de una cámara de Neubauer determinando mediante este método el número de cél/ml y la densidad total.

## SUMMARY

The present research was conducted in the premises of the Faculty of Marine Sciences, Plancton laboratory of the University Laica Eloy Alfaro of Manabí.

A cultivation of microalgae *Tetraselmis chuii* was made using a type of organic fertilizer, the implementation of this was carried out using a semi-continuous culture of this species using two 250-ml fiolas and two fiolas of 500ml, each of these replicates with their respective.

We used a solid organic fertilizer produced by Agropesca, whose processing plant is located in the province of Santo Domingo route to Quevedo, between the product's characteristics we can mention;

Organic Matter.....	54.25%
Carbon.....	31.46%
Nitrogen.....	2.25%
Phosphorus.....	2.18%
Potassium.....	0.44%
Calcium and microelements.....	2.04%

The monitoring was conducted during the period of four months, beginning on Monday October 8, 2012 and ending on January 13, 2013.

Several variables were taken into consideration among the most important we can mention, temperature, salinity and potential Hydrogen, parameters that go hand in hand with the growth and development of the crop.

Besides this, we monitored growth and represented it using a logarithmic curve, taking into consideration the number of cells per milliliter by using a Neubauer camera. Using this method we determined the number of cells/ml and the total density.

## INTRODUCCIÓN

El presente trabajo está enfocado en la gran necesidad que tiene el hombre en desarrollar fuentes sostenibles y sustentables de alimentos.

La pesca tiene una gran importancia en la alimentación de la población mundial, estimada en más de 7000 millones de habitantes según estadísticas de la ONU.

El incremento de flotas pesqueras y sobreexplotación de los mares agotará el recurso, pese a las regulaciones y normativas que son un paliativo al gran problema.

Desarrollar la acuicultura es el camino correcto, en medida que se apliquen estudios y tecnología con el auspicio del Ministerio de Pesca de cada país.

En la ciudad de Manta-Manabí-Ecuador, se incursionará la maricultura o cultivo de peces en jaulas fuera de las ocho millas náuticas.

La maricultura es un sistema de cultivo de especies marinas directamente en el mar, en el que se desarrollan peces y crustáceos.

En acuicultura, los estudios han demostrado que el uso de tetraselmis chuii por su alto contenido de ácidos grasos insaturados (HUFA), proteínas y excelentes resultados en los primeros estadios larvarios de producción en cautiverio. En el actual trabajo de investigación se realizaran ensayos de cultivo de microalgas utilizando abonos orgánicos, de desechos, dando la pauta a nuevas investigaciones sobre el uso y eficiencia de los recursos no renovable.



## **PLANTEAMIENTO PROBLEMA.**

Actualmente la falta de fuentes proteicas que puedan remplazar los concentrados con altos costos de adquisición en el mercado para los pequeños productores, llevo a considerar a las microalgas como una fuente alternativa con alto contenido proteico y niveles óptimos de lípidos y ácidos graso insaturados, con un balance de aminoácidos excelente, para ser usadas en la alimentación en la fase larval.

La gran necesidad de alimento a nivel mundial y el crecimiento poblacional acelerado obliga al hombre a desarrollar fuentes alternativas, en la que está la acuicultura como una de las salidas al problema para lo cual las microalgas ayudaran en el cultivo en las fases larvales en cautiverio siendo saludable y rentable por el aporte de aminoácidos, vitaminas , minerales.

## JUSTIFICACIÓN

El cultivo de *Tetraselmis chuii* tiene una gran importancia nutricional y económica para los consumidores de plancton que requieren procesos de reproducción y cría artificial a gran escala y por lo tanto es de gran interés tener laboratorio en pequeñas y gran escala de producción de estas especie para la alimentación de los primeros estadios larvales tanto en cría de micro crustáceos, moluscos y peces.

Cabe señalar que en la Universidad Eloy Alfaro de Manabí de la Facultad de Ciencias del Mar no se han realizado esta clase de pruebas con tetrasemis chuii, lo cual ayudara en futuras investigaciones.

## **OBJETIVOS:**

### **OBJETIVO GENERAL**

Implementar un cultivo de *Tetraselmis chuii* utilizando fertilizantes orgánicos en el laboratorio de Plancton Facultad Ciencias del Mar.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- ✓ Obtención de la cepa, en los laboratorios comerciales de la zona de Manta.
- ✓ Adecuación del laboratorio de plancton para el cultivo de *Tetraselmis chuii*
- ✓ Determinación de los factores abióticos presentes en el cultivo.
- ✓ Reportar y analizar los niveles de crecimiento del cultivo diario mediante una curva estadística.
- ✓ Aportar con información técnica para el cultivo de *Tetraselmis chuii* mediante la utilización de fertilizantes orgánicos.

## HIPÓTESIS

¿El uso de fertilizantes orgánicos incidirá en el crecimiento y una mayor producción de la microalga *Tetraselmis chuii*?

¿Cuáles serán las condiciones óptimas para el crecimiento de la especie de *Tetraselmis chuii* en condiciones controladas dentro del laboratorio de plancton?

## VARIABLES

### VARIABLES DEPENDIENTES

- ✓ Temperatura
- ✓ Salinidad
- ✓ Potencial Hidrogeno
- ✓ Tipo de fertilizante
- ✓ Luz

### VARIABLE INDEPENDIENTE

- ✓ Crecimiento
- ✓ Reproducción

## CAPITULO I. LAS MICROALGAS

### 1.1 LAS MICROALGAS Y SUS APLICACIONES

Las microalgas fueron los primeros organismos con capacidad de fotosíntesis y uno de los principales agentes en la creación de la actual atmósfera terrestre, estos organismos son claves en el equilibrio planetario, ya que la dinámica del dióxido de carbono en la Tierra está, en gran medida, determinada por ellos y, además, constituyen la base de las cadenas tróficas que permiten la vida en los océanos. *Mar alga* <http://www.mgar.net/mar/algas2.htm>

Las algas incluyen formas unicelulares, filamentosas o coloniales, flageladas y no flageladas embebidas en un mucílago. Generalmente son de tamaño Ultraplancónico (<5<sub>μ</sub>) o Nanoplancónico (5 a 70<sub>μ</sub>).

Las especies fitoplanctónicas unicelulares, pueden no ser mótils, cuya reproducción puede ser por zoosporas flageladas o por aplanas esporas no mótils. Estas especies poseen dos flagelos iguales, aunque algunos géneros presentan cuatro flagelos de similar longitud que emergen de los poros en la pared celular. Kennish, 1989.

Las algas verdes producen como una sustancia de asimilación almidón verdadero, el cual parece ser muy similar pero no idéntico al almidón de las plantas verdes superiores.

Dentro de esta clase, el grupo más importante lo constituyen las Prasinophyceae, células típicamente mótils que poseen cuatro flagelos iguales, aunque algunas poseen solo uno o dos desiguales. Los flagelos se

originan de un agujero o surco apical, algunas veces desde una depresión lateral. No poseen pared. Kennish, 1989.

En géneros tales como en *Tetraselmis spp.*, en contraste con las Chlorophyceaea, la celulosa parece estar ausente. Parke y Mantony, 1965.

Poseen un cloroplasto con un pirenoide compuesto de un esqueleto de almidón y cubierto de proteína, aunque Boney 1970, anota que la estructura precisa del pirenoide puede diferir aun entre géneros.

Los cloroplastos aparecen verdes debido a la presencia de la clorofila A y B, de igual manera se encuentran presentes otros pigmentos tales como el  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -caroteno; así como también la luteína como la principal xantofila y en menores cantidades neoxantina y violaxantina. Bold and Wynne, 1978.

Los procesos sexuales no son conocidos en las Prasinophyceaea, pero la formación de quistes puede ocurrir, reproduciéndose usualmente por división longitudinal binaria, la cual toma lugar en una fase estacionaria de las células. Bold y Wynne, 1978.

A pesar de su gran importancia para nuestro planeta, la explotación de estos organismos por el hombre no ha ido más allá de contados casos a lo largo de la historia. En la década de los cincuenta fueron consideradas como una fuente alternativa de proteínas de incuestionable valor, capaz de reemplazar o complementar a los cultivos tradicionales. Sin embargo, la producción de

micro algas encuentra enormes dificultades para su expansión, ya que los sistemas de producción requieren grandes inversiones y ofrecen una gran inestabilidad.

Estos factores son los que han limitado su expansión como una actividad productiva. En la actualidad, se restringe a unas pocas especies en unos pocos países, como EE.UU., Australia e Israel. "El cultivo de micro algas para consumo humano es aún una actividad joven e incipiente, su desarrollo efectivo apenas cuenta con unos 50 años, es una actividad extremadamente innovadora y experimenta una fuerte expansión, a la vez que progresan las biotecnologías y aumenta la demanda de nuevos productos y fuentes alternativas de alimentos y sustancias bio activas". Las aplicaciones productivas y comerciales de las micro algas son tan diversas como numerosas son las especies que integran este grupo de organismos. Sus usos van desde la producción de alimentos para consumo humano hasta la producción de hidrógeno con aplicaciones energéticas.

Las micro algas se pueden utilizar como materia prima para extraer compuestos similares a los extraídos con el petróleo fósil como gasolina, diesel, queroseno y otros materiales como el silicio de alta calidad, igual que el usado para hacer las placas solares (*Serrano M., 2008*) ya que su biomasa en promedio está constituida por 20-30% de lípidos, 40-50% de proteínas y el resto de carbohidratos (hasta 55% en algunas especies), constituyendo así el producto más eficiente para la producción de biomasa en el ciclo de la

naturaleza, siendo reconocidas como un excelente recurso medioambiental y biotecnológico (*Albarracín I., 2007*).

Su gran importancia mundial se ha puesto de manifiesto por lo que varias empresas han realizado y empezado investigaciones junto con planes piloto como Petrobras, Continental Airlines, Japan Airlines, Air New Zealand, Repsol, Solix, Bio Fuel Systems, Cellulosa Investments, Sapphire Energy, Solazyme, entre otras.

Las microalgas pueden tener varias aplicaciones, destacando actualmente para la producción de aceites y combustibles, además de su uso como suplemento alimenticio humano y animal, fuente de ácidos grasos, producción de energía eléctrica, uso como abono y fertilizante agrícola. Cabe resaltar que muchas de estas aplicaciones tienen un potencial de reducción del carbono y de ser carbón neutro debido al reciclaje y absorción de dióxido de carbono atmosférico, el cual es su principal nutriente, y reutilización de agua (*Dimitrov K., 2007*). También ofrece una solución económicamente factible y ambientalmente sustentable (*Wang B. et al., 2008*); con la ventaja añadida de que las microalgas no compiten en el mercado alimenticio (*BIODISOL, 2008*).

Entre las ventajas de la producción de aceite de microalgas para la elaboración de biodiesel se menciona que en una superficie de una hectárea se puede producir el equivalente a 136900 litros de aceite de microalgas, cuya biomasa seca contenga un 70% de aceite. En cambio, una hectárea de



suelo fértil para cultivo de soja produciría 446 litros, para cultivo de maíz 172 litros y para el cultivo de palma 5950 litros (*D'Andrea A., 2008*). Además las microalgas no ocupan espacios grandes para su cultivo ya que se lo puede realizar en piscinas o fotobiorreactores a lo alto, añadiendo que no compiten con fuentes alimenticias. También el cultivo de microalgas no requiere del uso de pesticidas y herbicidas para un buen rendimiento. Esto refleja un impacto positivo desde el punto de vista ambiental y ecológico (*Martínez J., 2008*). Además las microalgas son consideradas como la única fuente renovable de biodiesel que puede desplazar al diesel derivado del petróleo (*CHISTI Y., 2007*) al igual que ofrecer una solución económicamente factible y ambientalmente sustentable. (*WANG B., et al. 2008*).

Son organismos apenas explorados, que en la actualidad son objeto de intensas investigaciones para la búsqueda de nuevas sustancias bioactivas susceptibles de ser utilizadas en medicina o de nuevos usos productivos como la biorremediación ambiental o la elaboración de biocombustibles".

### **1.1.1 CARACTERISTICAS GENERALES**

Las microalgas son un grupo muy diverso de algas microscópicas unicelulares (*cuadro 1.1*) que poseen, como mínimo, clorofila *a*, habitan principalmente en medios acuáticos, pero también se encuentran en diversos suelos y adheridos a superficies. Generalmente son de vida libre ya sea unicelular o en colonias, sin embargo ciertas microalgas viven en simbiosis

con diversos organismos (*Richmond A., 2004*). Las células de microalgas pueden ser tanto procariotas como eucariotas, llegando a establecer más de 26.000 especies distintas de microalgas conocidas, suponiendo un número mayor aún por descubrir (*Stevenson J. et al., 1996*).

Las microalgas, son consideradas como los primeros microorganismos fotosintéticos, siendo la forma más primitiva de plantas (*Sheehan J. et al., 1998*) tienen gran responsabilidad en la formación de la atmósfera terrestre. Su estructura unicelular es muy eficiente en el uso de la luz y en la absorción de nutrientes. Además, constituyen la base de las cadenas tróficas que permiten la vida en los océanos lo que equivale a aproximadamente más del 70% de la biomasa mundial (*Albarracín I., 2007*). A pesar de su gran importancia para nuestro planeta, la explotación de estos organismos por el hombre no ha ido más allá de contados casos a lo largo de la historia (*Mendoza H., 2003*)

**Cuadro1.** Especies de microalgas presentes en los sistemas acuáticos.

Reino	División	Clase
Prokaryota eubacteria	Cyanophyta Prochlorophyta	Cyanophyceae Prochlorophyceae
Eukaryota	Glauphyta Rhodophyta	Glacophyceae Bangiophyceae Florideophyceae
	Heterokontophyta	Crhysophyceae Xanthophyceae Bacillariophyceae Raphidophyceae Dictyochophyceae Phaeophyceae
	Haptophyta Cryptophyta Dinophyta Euglenophyta Chlorarachniophyta <u>Chlorophyta</u>	Haptophyceae Cryptophyceae Dinophyceae Euglenophyceae Chlorarachniophyceae Prasinophyceae <u>Chlorophyceae</u> Ulvophyceae Cladophorophyceae Bryopsidophyceae Zygnematophyceae Trentepohliophyceae Klebsormidiophyceae Charophyceae Dasycladophyceae

Fuente: Barsanti L. & Gualtieri P., 2006.

### 1.1.2 COMPOSICIÓN

La productividad y la composición bioquímica de las microalgas depende en gran medida del modo de cultivo, la composición del medio y el perfil de nutrientes que permiten incrementar o inhibir el crecimiento mediante la optimización de factores como el control de la concentración de nitrógeno, intensidad luminosa, temperatura, salinidad, concentración de CO<sub>2</sub> y el

método de cosecha (Brennan y Owende 2010). Estos microorganismos poseen la ventaja extra de poseer un metabolismo flexible, aunque este hecho puede conllevar la dificultad de optimización de los procesos de

producción de compuestos bioactivos, ya que su estado fisiológico será decisivo para incrementar o disminuir el rendimiento final (ej. estresado vs. no estresados). Por lo tanto, su metabolismo secundario puede ser fácilmente modulable por factores de estrés aplicados externamente, por ejemplo con la deficiencia de la fuente de nitrógeno (Guedes *et al.* 2010).

### **1.1.3 APLICACIONES**

La biotecnología de microalgas ha sido desarrollada para diferentes aplicaciones comerciales en sectores tan diversos como el alimentario, energético, farmacéutico, sanitario y medioambiental (Harun *et al.* 2010). Como organismos fotosintéticos que son, las microalgas contienen clorofila que puede ser usada para alimentos y cosméticos.

Las microalgas pueden dar lugar a una alta productividad lipídica lo que redundará en el interés de su aprovechamiento en industria alimentaria para la aplicación en alimentos funcionales. De este modo, es destacable el uso de algunas especies de *Chlorella*, *Spirulina* y *Dunaliella* para la producción de aditivos alimentarios en nutrición humana. Por otra parte, también se ha de destacar el uso de microalgas en biocombustibles, puesto que los ácidos grasos obtenidos a partir de ellas se utilizan para la producción de biodiesel, hidrógeno y metano mediante digestión anaeróbica. Las microalgas también se han enfocado a la alimentación para animales y a la acuicultura, principalmente como alimento para moluscos, zooplancton, larvas de

crustáceos y peces (Ponomarenko *et al.* 2004, Carballo- Cárdenas *et al.* 2003).

Adicionalmente, las microalgas tienen aplicación como biofertilizantes y su uso se ha extendido al tratamiento de aguas residuales para eliminar contaminantes químicos como nitritos, nitratos, fósforo, metales pesados (Cr+3, Cd+2, Cu+2 y otros) y contaminantes orgánicos como hidrocarburos aromáticos, fenoles y disolventes orgánicos, además de eliminar los patógenos del agua residual (Brennan y Owende 2010).

Por otra parte, se ha demostrado que ciertas especies de microalgas producen diferentes compuestos con actividad antibacteriana, antiviral, anticancerígena, antioxidante y antifúngica (Rodríguez-Meizoso *et al.* 2010). Así, microalgas como *Chlorella* pueden ser empleadas para el desarrollo de alimentos funcionales con potenciación inmunológica para prevenir enfermedades, debido a sus efectos antitumorales, hepatoprotectores, inmunoestimulantes, antibacterianos y antioxidantes. Dentro de estos últimos, es destacable la presencia de antioxidantes naturales como la luteína, el  $\beta$ -caroteno, el ácido ascórbico y el  $\alpha$ -tocoferol, que son compuestos con la capacidad de inhibir los radicales libres (Plaza *et al.* 2009). Hasta ahora, la aplicación más significativa de este tipo de compuestos bioactivos se centra en el sector cosmético y alimentario, debido a su capacidad de disminuir la formación de radicales libres de las células y tejidos en el organismo humano.

## 1.2 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LAS MICROALGAS

### Funciones de los elementos esenciales

**Nitrógeno.-** Forma parte de un gran número de compuestos orgánicos necesarios, aminoácidos, proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos y clorofila.

**Fósforo.-** Forma parte de compuestos orgánicos importantes como la glucosa, ATP (Ácido Trifosfato de Adenosina), ácido nucleicos, fosfolípidos y ciertas coenzimas.

**Azufre.-** Está incorporado dentro de diversos compuestos orgánicos que incluyen aminoácidos, proteínas, coenzima A y las vitaminas Tiamina y Biotina.

**Magnesio.-** Es parte esencial de la molécula de clorofila y es necesario para la actividad de muchas coenzimas, incluyendo aquellos pasos importantes en la actuación del ATP (Ácido Trifosfato de Adenosina), así mismo es esencial para mantener la estructura del ribosoma.

**Calcio.-** Influye en la permeabilidad de la membrana, se encuentra en las vacuolas, precipitado como cristales de oxalato cálcico o pectato cálcico en las paredes de las células. Algunas veces interfiere la capa de magnesio para activar la enzima.

**Hierro.-** Es necesario para síntesis de clorofila, es parte esencial del citocromo el cual actúa como portador de electrones para la fotosíntesis y en la respiración. .

**Cloro.-** Necesario para la fotosíntesis, donde activa enzimas para la producción de oxígeno a partir del agua se suponen otras acciones adicionales.

**Manganeso.-** Activa una o más enzimas en la síntesis de ácidos grasos así como es la enzima responsable de la formación del ARN (Acido Ribonucleico) y del ADN (Ácido Desoxirribonucleico). Participa en la producción de oxígeno a partir del agua.

**Cobre.-** Actúa como portador de electrones y es parte de alguna enzima. Puede formar parte en la fijación del nitrógeno.

**Molibdeno.-** Actúa como portador de electrones en la conversión del  $\text{NH}_4$  (Amoníaco) a  $\text{NO}_3$  (Nitrato) y es esencial para la fijación del nitrógeno.

**Carbono, Hidrógeno, Oxígeno.-** Son parte de todos los compuestos orgánicos.

### 1.2.1 REQUERIMIENTOS GENERALES

La disponibilidad de nutrientes y la fuente de energía son elementos clave



para la biosíntesis de los componentes celulares en el crecimiento,

reproducción y mantenimiento de la vida. Las microalgas, al ser organismos foto autótrofos, dependen de la luz (que puede ser suministrada por el sol o por lámparas de luz fría), de temperatura adecuada, de una fuente de carbono (proviene del CO<sub>2</sub> Dióxido de Carbono), hidrógeno y oxígeno.

Además, necesitan de macronutrientes como nitrógeno, fósforo, magnesio, calcio y azufre, micronutrientes como hierro, cobre, molibdeno, manganeso, sodio, cobalto, vanadio y silicio, y de factores de crecimiento como las vitaminas del complejo B (biotina, tiamina y cianocobalamina) (Zaborsky 1983).

### **1.2.2 MACRONUTRIENTES**

Los macronutrientes son esenciales para las microalgas en cantidades de gr. por litro de medio de cultivo y son necesarios para la síntesis de los compuestos celulares, ya que forman parte de su estructura.

El nitrógeno forma parte de las proteínas funcionales y estructurales y de los ácidos nucleicos de la célula. La fuente más común de nitrógeno son los compuestos de amonio y nitratos. Cuando se utiliza nitrato (N+5), éste es reducido al nivel de amonio (N-3) antes de ser incorporado a compuestos orgánicos. La mayoría de las algas verdes son capaces de sintetizar todos los compuestos nitrogenados que requieren para su crecimiento a partir de fuentes de nitrógeno inorgánico, como los mencionados anteriormente.

En cuanto al fósforo, se ha de decir que juega un papel importante en todas las microalgas, en concreto para la síntesis de los ácidos nucleicos, en las reacciones intermedias del metabolismo de carbohidratos y especialmente en las reacciones de transformación de energía, formando parte de compuestos responsables de la transferencia de energía en forma de (Trifosfato de adenosina) ATP y fosfato de Nicotinamida Adenino Dinucleótido (NADP) (Waites *et al.* 2001). Cantidades menores a 50 µg/l limitan el crecimiento de las algas verdes y el nivel óptimo está entre 100 y 2000 µg/l.

El magnesio es un constituyente indispensable de la molécula de clorofila y cofactor de diversas enzimas asociadas con la fotosíntesis y la respiración, sobre todo en los procesos de Fosforilación. Una de esas enzimas importantes es la Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) que cataliza el primer paso de la red fotosintética de la asimilación del CO<sub>2</sub> atmosférico y de la oxidación del carbono en la foto-respiración (Spreitzer *et al.* 2002). Se ha comprobado sobre un extracto crudo de *Dunaliella Tertiolecta* (Clorofita), que la actividad de Rubisco ha sido regulada como respuesta a la concentración de Mg<sup>+2</sup> en forma de MgCl<sub>2</sub>, y que conforme aumenta la concentración de éste, aumenta la actividad enzimática, mostrando la mayor actividad a una concentración 20 mM de MgCl<sub>2</sub> (MacIntyre, *et al.* 1997).

### 1.2.3 MICRONUTRIENTES

Los micronutrientes son aquellos que son requeridos por las microalgas en cantidades de mg ó µg, y que juegan un papel crucial para el adecuado funcionamiento enzimático celular.

El primer elemento a destacar es el silicio. Este es el segundo elemento más abundante después del oxígeno; representa alrededor de una cuarta parte de la masa terrestre, como dióxido de silicio y varios silicatos. La forma de ácido ortosilícico está directamente disponible para ser utilizado por organismos fotosintéticos (Tréguer *et al.* 1995). Algunos estudios han apuntado a que la deficiencia de silicio provoca una disminución de la incorporación de fósforo y de azufre, así como de la capacidad fotosintética, modificando de este modo la composición bioquímica de la célula a nivel de la síntesis lipídica y de carbohidratos (Coombs *et al.* 1967).

Se ha comprobado que el silicio tiene un efecto positivo en el crecimiento de las diatomeas, pero un efecto negativo en su producción de lípidos. Así, la utilización de concentraciones bajas de silicio en el medio provocará una mayor síntesis de lípidos en la célula, afectando por tanto a la producción de ácidos grasos poliinsaturados (Lebeau y Robert, 2003). Sin embargo, Coradin *et al.* (2006) no limitan la función del silicio a las diatomeas, sino que establecen que el silicio es un elemento indispensable para el cultivo de microalgas y para todos los organismos fotosintéticos.

Con respecto al estroncio, éste no se considera un nutriente esencial para las microalgas ya que es un componente menor en la naturaleza. No obstante, debido a la contaminación con metales pesados detectada en el ambiente marino durante los últimos años, el estroncio ha afectado a la salud humana y de algunos animales ya que puede reemplazar el calcio en los huesos causando algunas enfermedades como osteoartritis (Li *et al.* 2006). Así pues, aunque el estroncio no se asocia hasta el momento con el crecimiento o modificación de la composición bioquímica de las microalgas, sí se ha probado la capacidad de bioacumulación de este metal en microorganismos, principalmente bacterias, levaduras y microalgas, un hecho que resulta de especial interés de biorremediación de aguas contaminadas con metales pesados (Faison *et al.* 1990; Avery *et al.* 1999).

Además, las microalgas presentan bajos requerimientos de hierro para el proceso de oxidación-reducción biológica y para la producción de clorofila. El manganeso es vital para la síntesis de clorofila y la utilización del oxígeno (O<sub>2</sub>)/ anhídrido carbonico(CO<sub>2</sub>) en la fotosíntesis. Adicionalmente, se requieren trazas de elementos como el cobalto y zinc para la síntesis y estructura del ácido ribonucleico (ARN), boro y cobre para la fotosíntesis y molibdeno para la asimilación y reducción de los nitratos. También, algunas microalgas presentan un requerimiento de pequeñas cantidades de vitaminas, principalmente del complejo B. Los atributos nutricionales de las microalgas dependen en gran medida de factores intrínsecos, como su composición bioquímica, tamaño, digestibilidad de la pared celular y su baja

toxicidad (Carvalho *et al.* 2006).

## **CAPITULO II. MÉTODO DE CULTIVO**

El desarrollo de un método de cultivo de microalgas, depende de los requerimientos y exigencia de la calidad de los elementos mencionados en las diversas etapas en las que deben ser suministrados.

Según su naturaleza, los cultivos pueden clasificarse de diversos modos:

**Cultivos Intensivos.-** Son aquellos cultivos en que los factores del crecimiento se mantienen completamente bajo control, de modo tal que obtiene una máxima respuesta en la producción de la población.

**Cultivos Extensivos.-** Son aquellos cultivos en que solo se controlan las variables más accesibles en el manejo técnico, tales como las características químicas del medio y la densidad del cultivo, como reguladora de la luz.

Independientemente de estas dos clasificaciones, el método empleado en el cultivo según la forma de cosecharlo, se clasifican en:

**Cultivos Discontinuos (BACTH).-** En estos cultivos la población va pasando por las distintas fases de crecimiento, ajustándose generalmente a una función logística (Schanz y Zahle, 1981). Estos produce cambios fisiológicos de la población a medida que transcurre el tiempo de cultivo.

Estos tipos de cultivos tienen la ventaja de ser fáciles de manejar y son adecuados para estudiar las cinéticas de crecimiento y los parámetros que

inciden en el crecimiento celular. Esta supone la recogida completa del recipiente de cultivo y es la forma más simple de operar, aunque también supone mayor trabajo que otros sistemas. La carga de nutrientes y la luz son proporcionadas al inicio del cultivo, aun cuando pueden realizarse ajustes de luz en las primeras fases del cultivo.

**Cultivo Continuo.**- Es aquel en que se mantiene la fase exponencial durante largo período de tiempo, así como las características químicas del medio, la temperatura y la luz, son sostenidas en un valor constante. La ventaja de estos cultivos es que muestras tomadas a distintos tiempos son idénticas. Para ello hay que añadir continuamente nutrientes en la misma medida en que son retirados del medio, para mantener los parámetros de crecimiento y población celular a nivel constante.

Para mantener cultivos continuos, todos los factores de crecimiento deben mantenerse constantes. La densidad del cultivo se controla, manteniéndola a concentración constante.

**Cultivo Semi Continuo.**- Es la combinación de los dos métodos anteriores, en este tipo de cultivo, parte del volumen se recoge para su utilización, generalmente al final de la fase exponencial, y la cantidad que se retira se reemplaza con medio de cultivo fresco. Se pueden mantener sistemas interiores para la producción de microalgas durante varias semanas utilizando métodos semi continuos, los cultivos pueden ser cuidadosamente



controlados. En sistemas de energía lumínica eficiente se puede recoger 3 veces por semana hasta el 90% del volumen de cultivo a altas concentraciones celulares (Laing, 1991).

Según la pureza del cultivo se clasifican en:

**Cultivo Axénicos.**- Son cultivos donde la población se mantiene libre de bacteria. Es un tipo de cultivo delicado que requiere de un manejo cuidadoso.

**Cultivo Monoespecífico.**- Son cultivos en que la población de microalga se encuentra con una pequeña carga bacteriana. Estos son los que más se utilizan industrialmente, debido a que es muy difícil mantener cultivos sin bacteria. En los cultivos unialgales las microalgas crecen mejor que en los axénicos, ya que se produce una interacción beneficiosa entre la bacteria y las microalgas, pues la bacteria excreta vitaminas y otras sustancias al medio que pueden ser utilizadas por las microalgas. No obstante si la carga bacteriana es excesiva puede inhibir el crecimiento algal o bien hacer el cultivo no apto para su utilización.

## **2.1 CULTIVO DE MICROALGAS**

Son llamadas microalgas a una gran cantidad de especies que constituyen el fitoplancton que abarca desde organismos autótrofos hasta microflagelados y microciliados auxótrofos.

Su posición taxonómica ha sido de gran polémica entre botánicos y zoólogos, como ejemplo podemos mencionar el grupo de los dinoflagelados, conocidos por unos como microalgas y por otros como protozoarios.

Unos de los obstáculos en la producción industrial de microalgas es la formulación y preparación de un medio de cultivo, química y económicamente apropiado.

Los medios de cultivo utilizados para algas se pueden agrupar en tres categorías: medios completamente sintéticos, medios basados en aguas naturales enriquecidas con suplemento mineral y utilización de residuos o aguas residuales.

Los medios de cultivos sintéticos pueden ser comerciales o prepararse en cada laboratorio o planta a partir de sus componentes. Es conveniente que sean fáciles de hacer o reconstituir en el laboratorio y fáciles de conservar.

El enriquecimiento del agua dulce o el agua de mar natural con diferentes nutrientes químicos aumenta enormemente el crecimiento y las tasas de división celular en los cultivos micro algales.

Un medio definido usualmente contiene cantidades conocidas de fuente de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y otras sales inorgánicas, además algún elemento adicional, particularmente metales en óptimas cantidades que son requeridas en cantidades trazas.

Estos tipos de medio pueden ser reproducidos exactamente en cualquier momento a causa de que las fórmulas químicas de sus constituyentes son conocidas exactamente, siendo adecuadas para el crecimiento específico de ciertos microorganismos (Taub, 1970).

## 2.2 SISTEMA DE CULTIVO

Los sistemas masivos de cultivo de microalgas se pueden clasificar en dos categoría básicas:

- ✓ Sistemas abiertos: – Tanques naturales o artificiales (sistemas extensivos o semi extensivos)
- ✓ Raceway o sistemas en carrusel y derivados.
- ✓ Sistemas de capa fina y derivados.
- ✓ Sistemas cerrados y semi cerrados (fotobiorreactores tubulares y planos). <http://es.scribd.com/doc/60935196/Planta-piloto-de-cultivo-de-microalgas>

## 2.3 TECNICAS DE CULTIVO

Muchos métodos se han desarrollado para obtener cultivos monoespecíficos (de una sola especie) y axénicos (libres de contaminantes). A continuación se brinda una breve descripción de algunos de los principales métodos que se utilizan para aislar y purificar microalgas (O. Umebayashi, 1975)

### ✓ **Aislamiento**

Pipeteo capilar: Se utiliza para separar microalgas mayores de 10 $\mu$ , mediante una pipeta construída con un tubo capilar, a través del microscopio óptico se “pesca” las células y se separan en pequeñas gotas de nutrientes colocados alrededor de una Caja de Petri o en portaobjetos escarbados.

### ✓ **Rayado de Placas de Agar**

Se transfieren pequeñas gotas de plancton con un asa de siembra, extendiendo por estrías (rompiendo un poco el agar). Este agar se prepara con una solución nutritiva para microalgas y con una relación de 1–1.5% w/v de agar disuelto en el medio nutritivo, se incuba la placa bajo iluminación a 18–20°. De este primer crecimiento se transfiere a tubos con agar inclinado sembrando por estrías o bien, se transfiere a medios líquidos en sub cultivos sucesivos para su purificación, de tal manera que en cada dilución se reduzca el número de organismos en una gota, es recomendable combinar la técnica de diluciones con la de transferencia en placa de agar o tubo inclinado para obtener cultivos clonales (de una sola colonia o célula) y poder establecer el cultivo monoespecífico. Después de 10 días, pequeñas colonias aparecen sobre la superficie del agar, que se pueden transferir mediante el Método de Hocking o de la micropipeta a medios líquidos.

### ✓ **Purificación**

Como ya se mencionó al describir las técnicas de aislamiento, estas mismas nos permiten purificar el cultivo a través de las resiembras clonales sucesivas, pero además es recomendable entre otros métodos el uso de antibióticos para eliminar otros microorganismos, generalmente de tipo bacteriano que estén contaminando el cultivo de microalgas de nuestro interés.

✓ **Control Bacteriológico**

Para determinar el desarrollo bacteriológico realizamos lo siguiente:

1. Preparación del Medio de Zobell:

Trypticase	1.0 gr
Extracto de levadura	1.0 gr
Fosfato Férrico	5 mg
Agar	15.0 gr
Agua envejecida (3 meses)	1 litro
pH = 7.0 – 7.2	

**Ver anexo 1,2, 3,4.**

Una vez preparado colocar en Cajas de Petri, una capa no muy gruesa.

Someter a esterilización a 15 libras de presión y 125°C. Con una asa de Platino picar el agar con la muestra que se desea analizar y colocar a la luz y observando si hay crecimiento bacteriano.

2. Si el cultivo presentara bacterias es aconsejable someter a la acción combinada de diferentes tipos de penicilina, por ejemplo:

Penicilina sódica	400 mg
Estreptomina	200 mg
Agua destilada	10 c.c.

Filtrar en equipo estéril, adicionar volúmenes de 3.0, 2.0, 1.0, 0.5 y 0.25 que dan concentraciones de:

Ejemplo:

**Cuadro 2.** Diferentes concentraciones en equipo para esterilización

TUBO	1	2	3	4	5
ml	3.0	2.0	1.0	0.5	0.25
Penicilina ug/ml	12.000	8.000	4.000	2.000	500
Estreptomina ug/ml	8.000	4.000	2.000	1.000	250

<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S02.htm>

## 2.4 CULTIVO EXTERIORES

Se considera cultivo masivo a aquellos que se utilizan como alimento vivo de peces crustáceos y moluscos y cuya producción es a gran escala en tanques u otros recipientes de volumen no controlado.

Existen muchas alternativas para la producción de microalgas en cultivo masivo, desde la utilización de tanques de plástico, madera, concreto hasta los estanques rústicos, así como la utilización de fertilizantes minerales de tipo agrícola hasta una gran variedad de excretas de ganado como fuentes de nutrientes.

En relación a la utilización de luz artificial o natural, ésta dependerá del tipo de infraestructura con que se cuente.

El control de la temperatura será necesario en relación del tipo de microalga en cultivo y de la región climática en donde se establezca el mismo.

<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S02.htm>

**Ver anexo 5**

## 2.5 CULTIVO DE INVERNADERO

Los tanques de agua en los cuales se reproducen las microalgas están protegidos por invernaderos. Las ventajas de este sistema son un mejor control de la temperatura y una pérdida muy reducida de agua. Estos factores favorecen una mayor reproducción de las algas y por lo tanto un mayor rendimiento. Existen empresas productoras que optan por este sistema por considerarlo en un buen equilibrio entre la eficiencia de producción y los costes. *Camila Barraza, Vanessa Collao, Camila Espinoza, Francisco Moya, Gabriel Thun, Mauro Torres. Producción de biodisel a partir de microalgas julio 2009.*

**Ver anexo 6**

## 2.6 MEDIOS DE CULTIVO

Existen muchas fórmulas para medios de cultivos de Microalgas bajo condiciones de laboratorio. Muchas de ellas de modificaciones de fórmulas previamente publicadas y algunas son derivadas por análisis del agua en el hábitat nativo y consideraciones ecológicas. Son muy poco los resultados de los estudios detallados en requerimientos de los nutrientes de los organismos. La principal consideración de las fórmulas de nutrientes desarrolladas para cultivo de microalga son:

- ✓ La total concentración de sal; principalmente depende del origen ecológico del organismo.
- ✓ Composición y concentración de componentes mayoritarios iónicos tales como potasio, magnesio, sodio, calcio, sulfato y fosfato.

- ✓ Fuente de Nitrógeno: nitratos amonio y urea son ampliamente usados como fuente de nitrógeno principalmente depende de la función de la especie y el pH óptimo.
- ✓ Fuente de Carbono: el carbono inorgánico es usualmente provisto por dióxido de carbono gaseoso de 1 a 5 % mezclado con aire. Otro modo de suplir al carbono es con bicarbonato.

La preferencia depende en gran parte del pH óptimo de crecimiento.

- ✓ pH: usualmente valores de pH ácidos son usados para prevenir la precipitación del calcio, magnesio, y alguno de los elementos traza.
- ✓ Elementos traza: estos son usualmente provistos en una mezcla de microorganismos en concentraciones por litro previamente establecidas para hacerlos efectivos. Sin embargo, no obstante la necesidad de tales componentes de crecimiento no son siempre bien demostrados. Para la estabilidad de la mezcla de elementos traza son usados agentes quelantes tales como citrato y EDTA.
- ✓ Vitaminas: muchas de las Microalgas requieren para crecer vitaminas tales como tiamina, cobalamina, etc. (Richmond, 1986, Darley, 1987; Riley y Chester, 1989).

En general, los medios pueden ser clasificados como medios enriquecidos (tradicionalmente usados en acuicultura) donde solamente se conoce lo que uno esta adicionando al agua de mar o dulce y los medios químicamente



definidos, en los cuales se conoce toda la composición química del medio de cultivo partiendo de agua deionizada. (McLachlan, 1973; Nichols, 1973).

Como primer paso se colecta agua de mar libre de contaminación que puede ser de aguas costeras y filtradas, de aguas profundas filtradas o bien, de aguas de pozo. Cuando se habla del filtrado del agua, se refiere de filtros de arena, biológicos de algodón (10.5 y 1 micra), de carbón activado y finalmente filtros de 0,45 micras. Posteriormente se esteriliza con radiación ultravioleta o autoclave. (Paniagua-Michel et al, 1986).

### **Medios enriquecidos**

El medio enriquecido puede estar constituido por:

- ✓ Medios que contengan macronutrientes, micronutrientes y compuestos orgánicos.
- ✓ Medios que contengan macro y micronutrientes.
- ✓ Medios que contengan macronutrientes.

Dentro de estos tipos de medios tenemos el de Guillard, fertilizantes, biodigeridos, y aguas de desechos.

**Medio de Guillard.** Para la preparación de un medio de cultivo se pueden seguir en general las indicaciones que se usan para el medio Guillard son los siguientes:

En un litro de agua destilada (o deionizada) se prepara la solución de nitrato de sodio, disolviendo 150 gr de  $\text{NaNO}_3$ ; para el caso de la solución de

fosfatos es disolviendo 10gr/L de fosfato de sodio monobásico, y para el caso de las diatomeas, una solución de silicatos con 60gr/L de metasilicato de sodio dihidratado, en el caso de los nitratos y los fosfatos, estos se pueden preparar en el mismo recipiente.

En el caso de la preparación del Cloruro férrico, se disuelven 5 gr en 900 ml de agua destilada y se le añade 1 ml de cada una de las soluciones primarias de los metales traza, los cuales se preparan de la siguiente forma: Sulfato cúprico, pentahidratado, 0,98gr/100ml; sulfato de zinc heptahidratado, 2,2gr/100ml; cloruro de cobalto hexahidratado, 1,0gr/100ml; cloruro manganeso tetrahidratado, 18gr/100ml y molibdato de sodio, 0,63gr/100ml.

En el caso de las Vitaminas se prepara una solución primaria de la siguiente forma:

La solución de Biotina se hace pesando 0,1 gr de Biotina cristalizada, aforada a un litro de agua destilada. La solución de cianocobalamina (B<sub>12</sub>) se prepara disolviendo 1 gr/L de agua destilada.

La solución secundaria de vitaminas se prepara de la siguiente manera:

La solución de Tiamina (B<sub>1</sub>) es elaborada pesando 20mg en 100ml de agua destilada. Para el caso de la Biotina y la Cianocobalamina se prepara tomando 10ml de cada una de ellas, aforadas a un litro (NOTA: para el esterilizado de las soluciones de las vitaminas existen 2 opciones, una de ellas es filtrando con microporo o bien usando el autoclave y esterilizar a 5lb de presión por 5 minutos).

Por lo general se acostumbra reportar los medios en unidades de gr/L, más lo adecuado es reportarse en moles/L, ya que de esta manera no importa que el reactivo químico esta deshidratado o hidratado, ya que si se da gr y no se especifica claramente el compuesto, al momento de prepararse este ocasiona graves fallas en la proporción de N, P, Si, etc.

Este medio se puede encontrar en el mercado de dos formas; grado reactivo y grado industrial, de donde el primero es más caro por tratarse de un medio más puro de contaminantes; pero para el caso se utilizara el que más convenga según sean las necesidades del medio que requiera el cultivo algal.

**Medio de fertilizantes:** en el caso de la preparación de fertilizantes existen dos opciones: una de ella es agregar el fertilizante en agua destilada y agitar por 20-30 minutos y pasarlo directamente a un recipiente o bien en el otro caso, filtrar con papel filtro y pasarlo al recipiente.

Una vez que se tienen preparados los medios de cultivo se procede a esterilizar estos en la autoclave a 15 lb de presión por 20-30 minutos.

Para cuando se preparan este tipo de medios, se deben tomar en cuenta los siguientes cuidados: llevar a cabo una agitación, para obtener una mezcla uniforme. Filtrar debidamente y al momento de pasarlo al recipiente solamente utilizar la parte sobrenadante para no permitir pasar partículas grandes evitando así problemas posteriores en el cultivo.

En el caso de la esterilización del agua de mar se procede en diferentes maneras: cuando se trata de niveles pequeños como tubos de ensayo o matraces, es esterilizando en autoclave a 15 lb de presión por 15 minutos; en el caso de que sea de garrafones o estanques de 50 a 1000 lts se procede a esterilizar con un tratamiento químico como es el uso del cloro. Este método puede ser agregando 3 ml de cloro por litro de agua de mar y neutralizando con un tiosulfato de sodio a 0,15 gr/L. esto se hace aunque el agua sea tratada con luz ultravioleta; en el caso que no sea de gran importancia que pudiera crecer fitoplancton natural en pequeñísimas cantidades puede pasar el agua directamente del ultravioleta.

Finalmente encontramos el método de la pasteurización, que consiste en calentar el agua a 80°C e inmediatamente enfriarla a 20°C. (Paniagua-Michel et al, 1986).

Se ha visto que la utilización de fertilizantes es una fuente de baratas de nutrientes para la producción masiva de las microalgas y que ha tenido resultados exitosos, por tal razón algunas veces se prefiere utilizar esta técnica de cultivo como método de experimentación de bajo costo.

**Biodigeridos:** Para elegir los recursos orgánicos necesarios para hacer el medio de cultivo, estos deben ser abundantes en la región, sub utilizables y contener la mayoría de los elementos requeridos por las microalgas para el crecimiento. Los recursos orgánicos que se pueden utilizar son: excretas de gallina, de vaca, macroalgas, etc. De donde se obtiene nutrientes, metales

traza, quelantes, ciertas vitaminas y sustancias promotoras del crecimiento de las microalgas cuya disponibilidad depende en gran parte del tipo de recurso utilizado.

Para extraer los nutrientes de los estiércoles se utilizan los biodigestores aeróbicos, porque son de bajo costo y el residuo resultante es estable.

Es importante el cargar adecuadamente el digestor tanto orgánica como hidráulicamente, para lograr una eficiente nitrificación (describe la oxidación bioquímica de amonio y nitrito y posteriormente a nitrato).

Para preparar el medio de cultivo se agregan 10, 20 y 40 ml de biodigeridos de extracto de estiércoles de gallina, vaca y de *Macrocystis p.* respectivamente por litro de agua de mar. Finalmente se inocula con la especie de microalga elegida. (Paniagua-Michel et al, 1986).

**Medios de agua de desechos:** La razón por la cual es factible que se utilicen aguas de desecho como materia orgánica para elaborar medios de cultivo es su contenido de nitrógeno, fosforo y carbono orgánico. En la última década se han realizado varios trabajos sobre la manera de remover los nutrientes de aguas residuales, industriales, urbanas, agrícolas, y ganaderas, para que estas puedan ser utilizadas. (Ehrlich, 1965).

Para llevar a cabo el tratamiento de dichas aguas se siguen tres diferentes procesos:

- ✓ **Tratamiento primario:** donde se remueven los sólidos por un sistema de filtración mecánica y sedimentación.
- ✓ **Tratamiento secundario:** en donde los compuestos orgánicos se degradan por procesos biológicos como la nitrificación.
- ✓ **Tratamiento terciario:** los compuestos resultantes de los dos procesos anteriores se extraen con medios fisicoquímicos o biológicos, ya que su descarga al medio acuático es causa del fenómeno de eutrofización.

En acuicultura para remover el nitrógeno de aguas de desecho, se utiliza principalmente la técnica de “Eutrofización controlada” (Ryther et al, 1972). Dicha técnica consiste en diluir con agua de mar el agua residual que ha pasado por el tratamiento secundario y de esta manera sirva como medio de cultivo para organismos filtro alimentadores. La ventaja de esta técnica es que se puede extraer hasta el 95 % del nitrógeno y del fósforo. (Dunstan y Menzel, 1971; Dunstan y Tenore, 1972; Goldman y Stanley, 1974; Goldman et al, 1974 a y b; Goldman y Ryther, 1975 y Goldman, 1976).

### **Medios químicamente definidos**

En este tipo de medios se conocen todas las sales y nutrientes que contengan, se preparan con mezclas sintéticas y con sales deshidratadas; en general son muy variables en salinidad y en las concentraciones de calcio y magnesio y siempre contienen un buffer. Hay ciertas modificaciones que se le hacen a estos medios para mejorar el crecimiento de las algas.

## 2.7 CALIDAD NUTRICIONAL DE LAS MICROALGAS

Las microalgas son el alimento natural de muchas especies de organismos en acuicultura y la base de la cadena alimenticia natural de la que tales especies dependen en su hábitat natural.

Estas son de gran importancia para el cultivo comercial de diversos organismos como el zooplancton, las cuales son necesarias durante todo el ciclo de vida en la alimentación de organismos bivalvos y peces e indispensable en las etapas larvarias de crustáceos (*Folks y Maine 1991; Herrero et al., 1991*)

Las microalgas poseen un valor nutritivo muy alto ya que contienen componentes esenciales tales como pigmentos, ácidos grasos, y vitaminas lo que favorece a su empleo en la acuicultura.

El valor nutricional de cualquier especie algal depende del tamaño de la célula, condiciones del cultivo, digestibilidad, producción de compuestos tóxicos y la composición bioquímica, la cual puede variar considerablemente, aún cuando crecen en condiciones estándar.

Las especies utilizadas con mayor frecuencia en operaciones de maricultura generalmente pertenecen al Nanoplancton (2-20 $\mu$ ) y entre ellas podemos mencionar: *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis chuii* y *Navicula spp.*

Aunque hay marcadas diferencias en la composición de las clases y especies microalgales, la proteína es siempre el mayor constituyente orgánico, seguido usualmente por los lípidos y carbohidratos, expresado como porcentaje de peso seco. El rango para los niveles de proteína, lípidos y carbohidratos son 12-35%; 2.3-7.2% y 2.3-4.6%, respectivamente.

El contenido de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) en particular el ácido Eicosapentanoico (20:6n-3 DHA) son los de mayor importancia en la evaluación de composición nutricional de una especie algal a ser utilizada como alimento para organismos marinos.

La composición total difiere entre las especies, pero para muchas, este no es el mayor factor relacionado al valor del alimento. La composición de azúcar es variable, y en algunas instancias puede afectar el valor nutricional. Brown, 1989 et al, las Microalgas marinas son fuentes ricas de dos vitaminas claves; ácidos ascórbico y la riboflavina, pero algunas especies no las poseen. Las Diatomeas se pueden considerar como una fuente rica en ácido ascórbico (0,11- 1.26% de peso en seco). Debido a que las Microalgas pueden estar dotadas de uno o más de los nutrientes claves, la mezcla algal provee un mejor balance nutricional en operaciones de maricultura.

La composición bioquímica de las Microalgas puede ser manipulada cambiando las condiciones de crecimiento, pero el efecto varía de una especie a otra, y por lo tanto no siempre puede relacionarse con el valor nutricional. Brown, et al, 1989. El tamaño, tasa de crecimiento y valor



nutricional de las Microalgas son características importantes cuando son evaluadas como fuente potencial de alimento para acuicultura, Jeffrey, et al, 1990. Todas las especies planctónicas son disponibles como alimento para bivalvos, Jeffrey, et al, 1994.

Los requerimientos óptimos de proteínas, lípidos, y carbohidratos, en la dieta de animales en cultivo, está influenciado por muchos factores incluyendo factores genéticos, medioambientales y la calidad nutricional de cada componente dietético. Renaud, et al, 1999.

Para un crecimiento óptimo muchas larvas de bivalvos requieren alimentarse con especies microalgales conteniendo 30-60% (peso en seco) de proteínas y 5-30% (peso en seco) de carbohidratos. Enright et al, 1986.

El valor nutricional idóneo de las Microalgas como alimento para especies acuícolas está muy influenciado por la composición de ácidos grasos de los lípidos, y en menos extensión por la composición de aminoácidos de las proteínas y la composición de azúcar de los carbohidratos. Brown y Jeffrey, 1992.

Es bien establecido la presencia de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFAS) en el perfil lipídico, especialmente (definiciones) (Ácidos grasos esenciales) EPA y/o DHA en la dieta microalgal los cuales están asociados con altas tasas de crecimiento de larvas de bivalvos. Enright, 1986, y muchos organismos en maricultura Brown, et al 1989.

El ácido Araquinódico es también considerado importante en maricultura, debido a que puede tener un rol en el desarrollo de los estadios embrionicos y larvales de peces, Tocher y Sargent, 1984.

**Cuadro 3.** Porcentaje en peso seco de algunas especies de microalgas.

<b>Microalga</b>	<b>Carbohidratos</b>	<b>Lípidos</b>	<b>Proteínas</b>
	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
<i>Chaetoceros gracilis</i>	8.1	6.9	35
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	23	4.7	32
<i>Tetraselmis chuii</i>	16.9	2.9	52
<i>Navicula sp</i>	18.5	5.7	41

Fuente: Chisti Y., 2007

## 2.8. EMPLEO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS

Pueden ser de origen animal (guano) o vegetal (compost, abonos verdes). La mayoría son de acción lenta, pues proporcionan nitrógeno orgánico que debe ser transformado en inorgánico por las bacterias del suelo antes de ser absorbido por las raíces. Como estos organismos no actúan en suelos fríos, ácidos o empapados, su efectividad y rapidez de acción dependerá del terreno.

Con estos fertilizantes no es tan fácil que se quemen las hojas como con los inorgánicos y efectúan un suministro continuo de alimento a las plantas por mucho tiempo, pero resultan más caros.

## **Composición**

### **Simples o compuestos**

- ✓ Los fertilizantes simples están formados por un solo ingrediente activo. Generalmente contiene un solo alimento vegetal básico o pequeñas cantidades de otros (como la harina de huesos).
  
- ✓ Los fertilizantes compuestos están formados por mezclas de ingredientes activos, y generalmente contienen los 3 nutrientes vegetales principales. Muchos de ellos contienen al mismo tiempo fuentes de sustancias nutritivas de acción rápida y lenta, lo que les permite mantener su acción nutritiva por más tiempo.

## **Características**

### **Sólidos o líquidos**

- ✓ Existe una amplia gama de abonos sólidos: en polvo, granulados, en gel, en pastillas y en bastones.
  
- ✓ Los polvos actúan más rápidamente que los granulados, pero son más incómodos de usar. Ambos se esparcen sobre el suelo con la mano o con equipo atomizador de abono.
  
- ✓ Los bastones son unas especies de "clavos" de fertilizante concentrado, que deben introducirse en el suelo.
  
- ✓ Las pastillas son fertilizantes completos, nutritivamente balanceados. Hay de dos tipos: para plantas de flor y de hoja.

- ✓ Los fertilizantes líquidos se aplican directamente sobre las plantas o disueltos en agua, con regadera o dosificador de manguera. Actualmente son muy utilizados los polvos solubles.

### **Abonos foliares**

- ✓ Se pueden conseguir solos o mezclados con pesticidas (productos multiuso).
- ✓ Al pulverizarse sobre las hojas, sus nutrientes penetran en pocas horas en la circulación de la savia, incluso si la planta se encuentra en suelos pobres.
- ✓ Mejores resultados se obtienen usándolos al atardecer y sobre plantas con bastantes hojas. No los use si existe riesgo de lluvias.
- ✓ Son muy útiles, especialmente para aplicar sobre rosas y plantas enfermas.

## **2.9 FERTILIZANTES INORGÁNICOS**

Pueden ser de origen natural extraídos de la tierra, como el nitrato o bien sintéticos elaborados por el hombre.

Las plantas no distinguen entre procedencia natural o sintética, y ambos se descomponen antes de ser absorbidos.

Generalmente los de este tipo son de acción rápida y estimulan el crecimiento y vigor de las plantas cuando se aplican sobre la superficie.

En el mercado se pueden encontrar una serie de marcas que distribuyen distintos tipos de fertilizantes con un nombre comercial. Lo importante al momento de elegir, es fijarse en el contenido de nutrientes que aporta cada fertilizante, expresado en porcentaje. Así por ejemplo un fertilizante cuya composición es 8-16-16, significa que aporta un 8% de nitrógeno(N), 16% de fosforo ( P) ( $P_2O_5$ ) Y 16% de potasio ( K) ( $K_2O$ ).

## **CAPITULO III Tetraselmis chuii**

*Tetraselmis* es un género de microalga de gran aplicación en acuicultura, como alimento de peces, camarones, especialmente en sus estados larvarios y de rotíferos y crustáceos, debido a su composición bioquímica y a su facilidad para el cultivo. El medio de cultivo es un factor muy importante en el crecimiento de microalgas pues provee los nutrientes necesarios para el crecimiento y es un componente significativo del costo de producción algal.

Pertenece a la familia de las clorófitas, una de las características más importantes en la alimentación de especies acuáticas es que tiene un nivel de lípidos muy alto, estimulando la alimentación de organismos marinos usando aminoácidos naturales. Son mótils, y miden usualmente 10 µm de largo x 14 µm de ancho.

### **3.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE**

Las microalgas poseen una membrana lipoproteica, con un talo y la pared celular, la mayoría de ellas tienen caparazón, este puede ser sílico o calizo.

La pared celular está formada por hidratos de carbono, celulosa, quitina y lignina. Esta generalmente es viscosa, poseen plástidos (pigmentos) y proteínas (cromoproteínas), poseen mitocondrias, estas son la central energética de la célula, poseen crestas, dentro están las enzimas, poseen una

membrana lipoproteica y realizan la degradación de la glucosa, siendo la reacción la siguiente:

Enzimas



Esta energía llamada ATP (adenosín trifosfato) tiene alrededor de 684 Kcal. Ukeles, 1980.

La célula de una Microalga posee un núcleo, un nucléolo y los jugos de cromátidas (cromosomas). El nucléolo contiene ácido ribonucleico (ARN) de transferencia.

Es un alga comprimida elipsoidal, con 4 flagelos, el extremo posterior agudo y el extremo anterior de 4 lóbulos. Mide de 10 - 15 micras, tiene un color verde brillante. Es una especie eurihalina, con capacidad de formar esporas cuyos límites de tolerancia a variables físicas son muy amplios. Tiene una pared celular formada principalmente de carbohidratos (Pandilla, 1975 en: Paniagua & Granados, 1998), a lo que Epifanio, 1979 en: Paniagua & Granados, 1998; atribuye su lenta digestibilidad al compararla con *Isochrysis galbana*; considerada como el alga menos nutritiva (Enright, 1984 en: Uribe, 1994). Crecen en el exterior a temperatura de 18 °C y 22 °C, con salinidad de 25 - 30 ups.

### 3.2 HABITAT Y BIOLOGIA

La algas verdes viven en ambientes marinos costeros , formando parte del

nanoplancton o sujeto al fondo (bentos).



También son abundantes en agua dulce, en lago y ríos. Además son comunes en ambientes extremos rocas, lodos, tronco de árboles, y algunas son capaces de vivir en ambientes extremos.

Algunas crecen en los suelos de los desiertos, donde soportan grandes periodos de desecación y temperaturas extremas. Otras son psicrófilas con crecimiento óptimo por debajo de los 10<sup>0</sup>C, y forman grandes manchas rosas, rojas o verdes visibles sobre la nieve. Un grupo de las algas verdes forman asociaciones simbióticas con hongos, constituyendo la parte fotosintética de los líquenes.

*[http://www.aulados.net/Botanica/Curso\\_Botanica/Algas\\_verdes/9\\_Chlorophyta\\_texto.pdf](http://www.aulados.net/Botanica/Curso_Botanica/Algas_verdes/9_Chlorophyta_texto.pdf)*

Se considera que los cloroplastos de las algas verdes derivan del proceso de endosimbiosis primaria, y árbol filogenético de las eucariotas se sitúan en el grupo plantae, a lado de las algas rojas y de las plantas terrestres

### **3.3 REPRODUCCIÓN**

En muchas ocasiones la reproducción de las algas ocurre sin ningún cambio en su ploidía, es decir son asexuales. Los mecanismos asexuales incluyen fisión, esporulación y liberación de fragmentos nucleados en formas multicelulares. La fisión es comúnmente binaria y ocurre dentro de la pared celular parenteral, sí esta se encuentra presente. En otros tipos, la pared original es descartada y cada uno de los progenitores construye una pared antes o después de liberarse de la pared de la célula madre. En otros tipos,

especialmente en ciertas diatomeas y ciertos dinoflagelados, la pared original es repartida por el progenitor y cada nuevo individuo construye la porción faltante. Los procesos sexuales no han sido reportados para algas procariotas (Cyanofíceas) contrariamente a lo ocurrido con las algas eucariotas y Euglenofíceas, Crysofíceas o Cryptofíceas.

### 3.4 MORFOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN

En cuanto a su morfología la célula posee paredes ligeramente rígidas y pueden también presentar láminas que cubren la parte exterior de las paredes.

Los orgánulos que contienen pigmentos de las clorofíceas y euglenofíceas son llamados cloroplastos, un nombre que indica que su color típicamente predominante es el verde.

<b>División</b>	: Chlorophyta
<b>Clase</b>	: Prasinophyceae
<b>Orden</b>	: Volvocales
<b>Familia</b>	: Chlamydomonadaceae
<b>Género</b>	: <i>Tetraselmis</i>
<b>Especie</b>	: <i>Tetraselmis chuii</i>
<b>Tamaño</b>	: 14 a 16 $\mu$

### 3.5 COMPOSICIÓN

La versatilidad del metabolismo de las microalgas las hace extremadamente interesantes; además de ser la biomasa que presenta un crecimiento más

rápido, su cultivo controlado supone ventajas relativas a su capacidad de almacenamiento de CO<sub>2</sub>, acumulación de lípidos (para producción de biodiesel), producción de fitometabolitos (para una nueva generación de productos farmacéuticos) y fitodepuración (Belotti *et al.* 2010).

Como las microalgas poseen estructuras sencillas su composición consiste básicamente en carbohidratos, proteínas y lípidos, aunque también son fuente de vitaminas como la A, B1, B2, B6, C, y E. Las microalgas tienen un alto contenido en proteínas, sobre todo de aquéllas usadas como fuente de nutrientes. En cuanto a los carbohidratos, éstos se encuentran principalmente como almidón, glucosa y otros polisacáridos de alta digestibilidad.

El contenido de lípidos para uso en alimentos varía entre 1 y 35%, mientras que el porcentaje para ser usados como biocombustibles está entre el 20 y 80%, comparado con el 15% al 30% que se utiliza de los aceites vegetales. En cualquier caso, factores ambientales, el tipo de cosecha y el método de secado de las células determinan la cantidad de sustancias potencialmente útiles en las microalgas (Satyanarayana *et al.* 2011).

### **3.6 IMPORTANCIA COMERCIAL**

La aplicación científica y tecnológica de las microalgas surgió a partir de la escasez de alimento en el mundo, entre 1935-1940, en la cual se buscaba

implementar sistemas algales como nuevas fuentes de proteínas (*Albarracín I., 2007*). Durante la II Guerra Mundial científicos alemanes empezaron a cultivar microalgas masivamente para obtener lípidos y proteínas, reconociendo a la biomasa algal como un suplemento alimentario importante (*Venkataraman L., 1985*).

Es ahora que su aplicación biotecnológica está siendo investigada seriamente, no solo como una nueva fuente alimenticia, sino también como un producto energético, agrícola, acuícola y nutricional, destacando el uso de su aceite para la elaboración de biodiesel (*Chisti Y., 2007*) ya que las microalgas pueden constituir una fuente alternativa, renovable y ecológica muy eficiente gracias a su capacidad de convertir la energía solar en compuestos químicos útiles a una velocidad mucho mayor que cualquier otra fuente vegetal; pero para constituir esta nueva fuente se debe encontrar una microalga que sea adaptable a condiciones artificiales de cultivo y con alto contenido de lípidos y aceites especialmente omega 3, omega 6, DHA, mientras que el remanente, es decir, la porción de microalga no lipídica, puede ser usada para elaborar diferentes productos industriales en base a carbohidratos como etanol o suplementos proteínicos, colorantes, biofertilizantes, antioxidantes y tratamientos de aguas residuales ricas en nitrógeno y fósforo (*Johnson M., 2009*). La mayoría de la producción comercial de microalgas está encaminada al mercado de la alimentación saludable, principalmente como tabletas y cápsulas de biomasa microalgal (*Raja R. et al., 2008*).

La producción de algas utilizadas para la producción de combustibles, surgió en USA a finales de los años 70's en el que se creó el nombrado "Programa de Especies Acuáticas" el cual surgió como efecto de la crisis del petróleo de esa época (Sheenan J. et al., 2009).

Varios países se han vinculado a la investigación de la obtención de biocombustibles, especialmente biodiesel, como Petrobras en Brasil, Repsol en España, Solix en USA, Bio Fuel Systems en España, Cellulosa Investments en España, Sapphire Energy en USA, Solazyme en USA, sumándose otro país suramericano, Argentina, el cual en la provincia de Chubut está produciendo 10 toneladas al día de biodiesel a partir de microalgas (Next fuel, 2008).

*"Las microalgas son la materia prima descubierta hasta la actualidad más eficiente de cara a la producción de biocombustibles como biodiesel, bioetanol y biobutanol; con la ventaja añadida de que las microalgas no compiten en el mercado alimenticio" (BIODISOL, 2008).*

Recientes investigaciones en USA, demuestran que no es necesario extraer el aceite de las microalgas para usarlo como biocombustibles para aviones jet, este descubrimiento es conocido como Dry Process Algae Bio Jet Fuel, el cual únicamente consta de la biomasa seca y pulverizada de las microalgas con un contenido mínimo de aceite del 15% en peso seco (Algae Aviation Fuel, 2010).

## CAPITULO IV MATERIALES Y METODO

### 4.1 MATERIALES

Los materiales utilizados en el presente trabajo de investigación se detallan a continuación:

- Fiolas de 250 y 500ml
- Fertilizantes orgánico solido
- Hoja de reporte
- Aireador
- Bitácora
- Cámara de neubauerg
- Multiparametros
- Agua de mar
- *Tetraselmis chuii*
- Autoclave
- Papel de cocina
- Microscopio
- Mechero
- Agitador magnético
- Pipetas de 1ml
- Microscopio binocular
- Balanza electrónica
- Aire acondicionado
- Lámparas de fluorescentes (40 watts)
- Válvulas de  $\frac{1}{4}$ "
- Mangueras de acuario
- Pizeta (alcohol antiséptico)
- Micropipetas Pauster
- Porta y cubre objeto
- Gradilla
- Mechero de alcohol (alcohol industrial)
- Papel aluminio
- Fundas plásticas rotuladas
- Material de limpieza y protección (cepillos, jabón neutro, guantes, mascarilla, mandil, etc)

## **Reactivos**

- Ácido clorhídrico 8%
- Hipoclorito de sodio 10%
- Ortotolodine arsenito

## **4.2 METODO**

### **Preparación de materiales**

Los materiales de vidrio son lavados con jabón neutro, enjuagados con agua dulce y desinfectada con una solución de ácido clorhídrico al 10%, y enjuagados nuevamente con abundante agua dulce, envueltos en papel aluminio y son colocados en el autoclave para su esterilización.

Una vez terminado la esterilización, se dejan enfriar los materiales y se deben trasladar a un lugar con total asepsia.

Los botellones, carboys y tanques de 1 tonelada, también son lavados con jabón neutro y enjuagados con agua dulce y desinfectados con una solución de ácido clorhídrico al 10% y enjuagados con abundante agua salada.

Para la limpieza de los tanques, mangueras y pisos en la selección de cultivos masivos, usamos hipoclorito de sodio al 10% en concentraciones de 10ppm, se debe enjuagar con agua de mar luego de la aplicación de cada producto.

## **Desarrollo de cepas en medio líquido**

Para realizar las siembras en medios líquidos se requiere del chequeo de las cepas para determinar su densidad, presencia de protozoarios, bacterias, etc. y agrupaciones de células muertas. No se debe olvidar la desinfección de nuestras manos con alcohol durante cada procedimiento.

- Una vez escogidas las colonias, son transferidas cerca de un mechero con un asa de platino estéril a un tubo de ensayo con 10 ml de agua filtrada, esterilizada y tratada.
- Estas cepas permanecen en los tubos de ensayo por el espacio de 7 días, tiempo en el cual cambia su coloración, indicando aumento de la concentración de células.



- De estas cepas tomamos 2 ml, y la inoculamos en un tubo de ensayo a 10 ml de agua filtrada y fertilizada, manteniéndolas ahí por un espacio de 3 días, proporcionándoles movimientos repentinos para su homogeneización.
- Las algas de estos tubos es inoculada en Fiolas de 500 ml de agua filtrada y fertilizada, y permanecen ahí por el espacio de tres días.
- El contenido de estas Fiolas es inoculado en recipientes de tres litros con agua de mar filtrada y fertilizada. A partir de aquí se utiliza aireación.
- A partir de estos recipientes de tres litros se debe clorinar el agua y luego debe ser neutralizada con Thiosulfato de sodio, y se inocula las algas de las Fiolas de 500 ml
- Después estos recipientes son pasados a las fundas plásticas con capacidad de 30 litros y al cabo de tres días son pasados a tanques masivos de una tonelada, y las fundas son desechas.

#### **4.3 SELECCION DE LA ESPECIE**

Desde tiempo atrás se ha puesto interés en la producción intensiva de fitoplancton. Algunos de los criterios que influyen en la selección de las especies a ser cultivadas son el tamaño de las células, naturaleza de la pared celular, potencial de cultivo, digestibilidad, composición química y sobre todo el valor nutricional.

Las Microalgas son indispensables en la producción comercial de varias especies de animales marinos como una fuente de alimento para moluscos

bivalvos, estadios larvales de algunas especies de crustáceos y para los primeros estadios de algunos peces. Sin embargo son más utilizadas para alimentar grandes cantidades de organismos zooplanctónicos (Rotíferos, Copépodos, Artemia, etc), los cuales sirven a la vez para alimentar primeros estadios de peces y crustáceos.

Varias técnicas han sido desarrolladas para la producción de estas especies a gran escala, variando desde cultivos extensivos menos controlados a cultivos específicos controlados; sin embargo la producción controlada de Microalgas se la realiza con mucha frecuencia a nivel mundial.

Se han estudiados muchas estadísticas, en cuanto a producción de Microalgas marinas, según la FAO, Tailandia ha producido 1064'.000 toneladas cúbicas en el año 2000.

En el Ecuador, se producen Microalgas marinas, con el fin de sustentar la demanda de mercado, comercializándose en toneladas cúbicas, con un valor que fluctúa entre 15 y 20 dólares americanos cada una.

Los problemas más importantes encontrados en la producción a gran escala de Microalgas como alimento para especies bioacuáticas, pueden ser clasificados como:

- De naturaleza económica;
- Relacionado con la dependiente y consistente calidad de grandes volúmenes de Microalgas. El problema de la confiabilidad tiene dos

componentes, mantener un suplemento regular y producir continuamente algas de alta calidad.

Las especies más frecuentes cultivadas y utilizadas en el Ecuador son:

*Chaetoceros gracilis*, *Thalassiosira pseudonana*, *Navicula sp.*, *Tetraselmis chuii*.

En la actualidad los cultivos intensivos de Microalgas, se han convertido en una rutina conocida en muy pocos laboratorios, donde las diferentes cepas son seleccionadas de acuerdo a dos criterios: su valor nutricional y la facilidad con que estas pueden ser cultivadas tratando con esto de satisfacer los requerimientos nutricionales de los organismos cultivados. El cultivo de camarón blanco en nuestro país es una actividad muy frecuente, desde hace más de tres década, la especie mayormente cultivada en cuanto a la demanda pertenece al género *Litopennaeus vannamei*, el cual antes de ser engordado en estanques de grandes dimensiones debe ser criado primero en un laboratorio donde se presenta un ambiente totalmente controlado, simulando un hábitat natural de dicha especie, ya que este en sus primeras fases de crecimiento requiere de una alimentación a base de Microalgas.

#### **4.4 LUGAR DEL MUESTREO**

El presente trabajo de investigación se lo realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias del Mar, Laboratorio de Plancton de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicada en la calle 12 cdla.Universitaria vía San Mateo.

Este laboratorio esta adecuado, y presta todas las condiciones para realizar cultivos de especies acuáticas, como parte de los trabajo de investigación y monitoreo que se realizan en la unidad, el horario de atención es de lunes a viernes desde las 7h00am hasta las 19h00 pm. La cosecha del cultivo se la realizaba los días sábado respectivamente, y el ingreso a la Facultad se lo ejecutaba en coordinación con el encargado del laboratorio y el decano de la misma.

#### **4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Para la ejecución del presente trabajo de investigación se procedió a realizar un cultivo semi-continuo de la especie *Tetraselmis chuii*, para esto se utilizarón 2 Fiolas de 250 ml y 2 Fiolas de 500ml respectivamente, cada una con su respectiva replica.

Se utilizó fertilizante orgánico solido producido por Agropesa cuya planta procesadora está ubicada en Santo Domingo vía a Quevedo, las características del producto se detallan a continuación:

##### Composición:

Materia orgánica.....	54,25%
Carbono.....	31,46%
Nitrógeno.....	2,25%

Fosforo.....	2,18%
Potasio.....	0,44%
Calcio y microelementos.....	2,04%

El monitoreo se lo realizó durante el lapso de cuatro meses, comenzando el lunes 8 de octubre del 2012 y culminando el 13 de enero del 2013.

Se tomaron en consideración varias variables entre las más relevantes tenemos; temperatura, potencial Hidrogeno y la salinidad parámetro que van de la mano con el crecimiento y desarrollo de la especie cultivada.

Además de esto se llevó el control de crecimiento por medio de una cámara de Neubauerg mediante la curva de crecimiento, el procedimiento para el conteo y curva de crecimiento se detallan a continuación:

Es necesario llevar un control diario para determinar la concentración de las algas en cultivo y estimar el volumen a suministrar para cada tanque de cultivo de larvas. Esto se logra utilizando un Hematocitómetro o cámara de Neubauerg. Para esto se toma una pequeña muestra del cultivo, y se coloca una gota en la cámara de conteo del Hematocitómetro. Si la especie es motil, como *Tetraselmis*, es necesario añadir una gota de lugol en la muestra para inmovilizar el Alga.

Existen varias formas de contar según sea la concentración:

Las células que se encuentran en los cuatro cuadrantes de los extremos que numerados y que llamaremos A, B, C y D son contadas.

El volumen del agua de cada cuadrante del Hematocitómetro es de 1/10.000 en un milímetro. Asumiendo que los conteos hayan sido los siguientes:

Cuadrante A: 75

Cuadrante B: 60

Cuadrante C: 85

Cuadrante D: 69

Por lo tanto el número de células por mililitro es:

---

Otra forma sería contar cuadros pequeños, en el caso de que la densidad de la célula sea mayor y las Microalgas de menor tamaño. Los cuadros pequeños suman un total de 25; de los cuales se tomarán los extremos y el cuadro central que está resaltado y que llamaremos: A1, B1, C1, D1, y E1.

Asumiendo el siguiente conteo:

Cuadrante A1: 7

Cuadrante B1: 10

Cuadrante C1: 6

Cuadrante D1: 11

Cuadrante E1: 9

El número de células por mililitro sería:  $A1 + B1 + C1 + D1 + E1 = 43$

---

## **Dinámica de crecimiento**

Generalmente se han reconocido de tres a cinco fases de crecimiento de las poblaciones algales: Para las Microalgas estas se consideran que corresponden al estado nutricional de las células Droop, 1975, las fases de crecimiento de las Microalgas marinas son:

### **a. Fase de inducción.**

En esta fase en la cual las células han empezado a absorber los nutrientes, ocurre poco incremento de la densidad algal, siendo relativamente larga cuando un cultivo pasa desde un medio sólido a un medio líquido. Esta fase es atribuida a la adaptación fisiológica del metabolismo celular para crecer y reproducirse, tal como el incremento de los niveles de enzimas y metabolitos involucrados en la división celular y la fijación de carbono.

### **b. Fase exponencial.**

Después de la absorción de los nutrientes, la población entra a la fase larga (fase exponencial), en la cual la reproducción es extremadamente rápida.

Durante la segunda fase la densidad celular se incrementa en una función de tiempo (t) de acuerdo a una función logarítmica:  $C_t = C_o \cdot e^{mt}$

Donde  $C_t$  y  $C_o$  = son las concentraciones celulares al tiempo t y o, respectivamente; y m = tasa específica de crecimiento. La cosecha debería ser hecha antes del final de esta fase la cual tarda de 3 a 6 días. Coutteau, 1996.

**c. Fase de declinación de la tasa de crecimiento**

Esta fase es transitoria, donde el crecimiento y la división celular bajan lentamente cuando los nutrientes, luz, pH, dióxido de carbono u otros factores físicos y químicos llegan a limitar el crecimiento. Coutteau, 1996

**d. Fase estacionaria**

En el cuarto estadio los factores limitantes y la tasa de crecimiento son balanceadas, lo cual resulta en una densidad celular relativamente constante. En esta fase el número de las células no cambia y puede durar varias semanas si no hay contaminación. Coutteau, 1996

**e. Fase de declinación o muerte**

Durante el estadio final de la calidad de agua se deteriora, y los nutrientes están agotados a un nivel incapaz de sostener el crecimiento. La densidad celular decrece rápidamente y el cultivo celular eventualmente colapsa, debido a que las células muertas no son reemplazadas. Coutteau, 1996.

En la práctica el colapso de los cultivos puede ser causado por muchas razones, incluyendo el agotamiento de los nutrientes, la deficiencia de aireación, exceso de manipuleo, desorden de pH o contaminación (protozoarios, hongos, etc).

La clave para asegurar un cultivo algal es mantener todos los cultivos en la fase exponencial de crecimiento. También el valor nutricional y la composición bioquímica de las algas producidas es inferior una vez que



hayan pasado de la fase tres debido a la reducción de la digestibilidad, deficiente composición y una posible producción de metabolitos tóxicos. Lavens y Sorgeloos, 1996. Siempre es mejor cosechar las células durante la fase exponencial y usar estas células como inóculo para otros cultivos. Un inóculo con células de esta fase se dividirá más rápidamente que las células tomadas de otra fase, así producirán cultivos que son en general más viables. Le Borgne, 1990.

### **Parámetros abióticos.**

Los parámetros bajo control más importantes del crecimiento algal son la cantidad y calidad de nutrientes, luz, potencial de hidrógeno, aireación, salinidad y temperatura.

La diversidad de factores pueden ser independientes y un parámetro que es óptimo para una especie, en unas condiciones, no es necesariamente óptima para otra. Persoone y Claus, 1980.

### **Luz**

Como todas las plantas las Microalgas fotosintetizan. La luz es la fuente de energía la cual conduce la reacción y con respecto al régimen de iluminación a ser usado, las consideraciones más importantes son: la intensidad, calidad espectral y fotoperíodo. La intensidad de la luz juega un papel muy importante, pero los requerimientos varían de acuerdo con la densidad y volumen del cultivo algal. Grandes volúmenes y concentraciones de células requieren que la intensidad de la luz sea incrementada para penetrar a través

del cultivo, siendo estas variables las claves que regulan la eficiencia de la utilización de la luz. Una intensidad alta de luz puede resultar en una inhibición de la fotosíntesis. Richmond, et al, 1980.

La luz puede ser natural o artificial suplementada por tubos de fluorescentes, en la cual las lámparas dan el mejor efecto de radiación. La duración de la iluminación también puede ser variada, de 12 a 18 horas por día en tetraselmis, pero el fitoplancton cultivado se desarrolla normalmente bajo iluminación constante.

Se ha demostrado que 1000 lux de iluminación es adecuada para fiolas, pero de 5000 a 10000 lux son requeridos para grandes volúmenes. Hoff and Snell (1989) establecen que un rango de intensidad de 2500 a 4500 lux para cultivos de *Thalassiosira pseudonana* bajo una iluminación continua de 14 horas-día. En comparación a tetraselmis de 2000 a 4000 lux.

### **Potencial de Hidrógeno (pH)**

Durante el crecimiento de un cultivo algal el pH puede fluctuar de 7.5 – 9 el cual limita su crecimiento con un rango óptimo de 8.2 – 8.7. Ukeles, 1971.

El cultivo completo colapsa debido a la destrucción de muchas células, lo cual conlleva a la insensibilidad del pH. En el caso de un cultivo de alta densidad algal, la adición del dióxido de carbono, naturalmente presente en el aire permite el correcto incremento del pH, el cual puede mantener los valores menores a 9 durante el incremento algal.

Esta adición sirve para incrementar la capacidad buffer del medio de cultivo y prevenir los cambios bruscos de pH. Lavens y Sorgeloos, 1996.

### **Aireación**

La aireación es necesaria para prevenir la sedimentación de las Microalgas, asegurando que todas las células de la población estén igualmente expuestas a la luz y nutrientes, evitando una estratificación térmica y proveyendo un intercambio gaseoso entre el medio de cultivo y el aire. Fulks y Main 1991.

La aireación es benéfica por tres razones:

Primero el aire es fuente de carbono en forma de  $\text{CO}_2$ , el cual es consumido durante la fotosíntesis. Segundo la adición de  $\text{CO}_2$  provee una estabilización esencial del pH. La adición de  $\text{CO}_2$  debería ir de la mano con la asimilación o de lo contrario el pH del medio se elevaría, esto es debido al balance mantenido entre el bicarbonato, dióxido de carbono, e iones de hidrógeno, que sirven como buffer en el agua contra los cambios de pH. Fulks y Main, 1991.

El aire que contiene aproximadamente el 0,003% de  $\text{CO}_2$  por volumen, puede o no ser enriquecido con  $\text{CO}_2$  adicional antes que sea adicionado al cultivo. El tercer beneficio deriva en sí en que el factor aireación para muchos cultivos, es la base para la mezcla de estos. Para cultivos exteriores un nivel adecuado de mezcla puede prevenir la estratificación térmica. Lavens and Sorgeloos, 1996.

Debe ser anotado que no todas las especies algales pueden tolerar agitaciones vigorosas, sin embargo, la intensidad de agitación debe ser adecuada pero no intensa como para detener o evitar el crecimiento.

### **Temperatura**

La temperatura óptima para el cultivo de fitoplancton esta generalmente entre los 18 y 24°C, aunque esta puede variar con la composición del medio de cultivo, las especies y las cepas cultivadas. La mayoría de las especies comúnmente cultivadas toleran temperaturas entre los 16 y 27°C.

Temperaturas más bajas que 16°C disminuirán el crecimiento del cultivo, mientras que temperaturas más altas a 35°C son letales para ciertas especies. Coutteau, 1996.

Cuando los nutrientes están presente en óptimas concentraciones, la temperatura y la iluminación son los únicos factores limitantes en los cultivos algales, además Payer et al, 1998 investigo los efectos directos de la temperatura en un número de especies y cepas de algas en orden a seleccionar aquella que podría ser idónea para la producción en Thailandia, ellos concluyeron que la temperatura es específica para cada especie.

Debido a que la luz de fluorescente causa aumento de la temperatura en los cultivos, es necesario mantenerlos refrigerados, especialmente cuando los volúmenes son pequeños o simplemente se deben mantener en cuartos con aire acondicionado. La temperatura sin embargo, puede ser importante

determinando cuales especies predominaran en cultivos abiertos exteriores.

Witt et al, 1981.

### **Salinidad**

La tolerancia del fitoplancton marino a cambios en la salinidad, se considera extremadamente alta, la cual varía con las especies cultivadas.

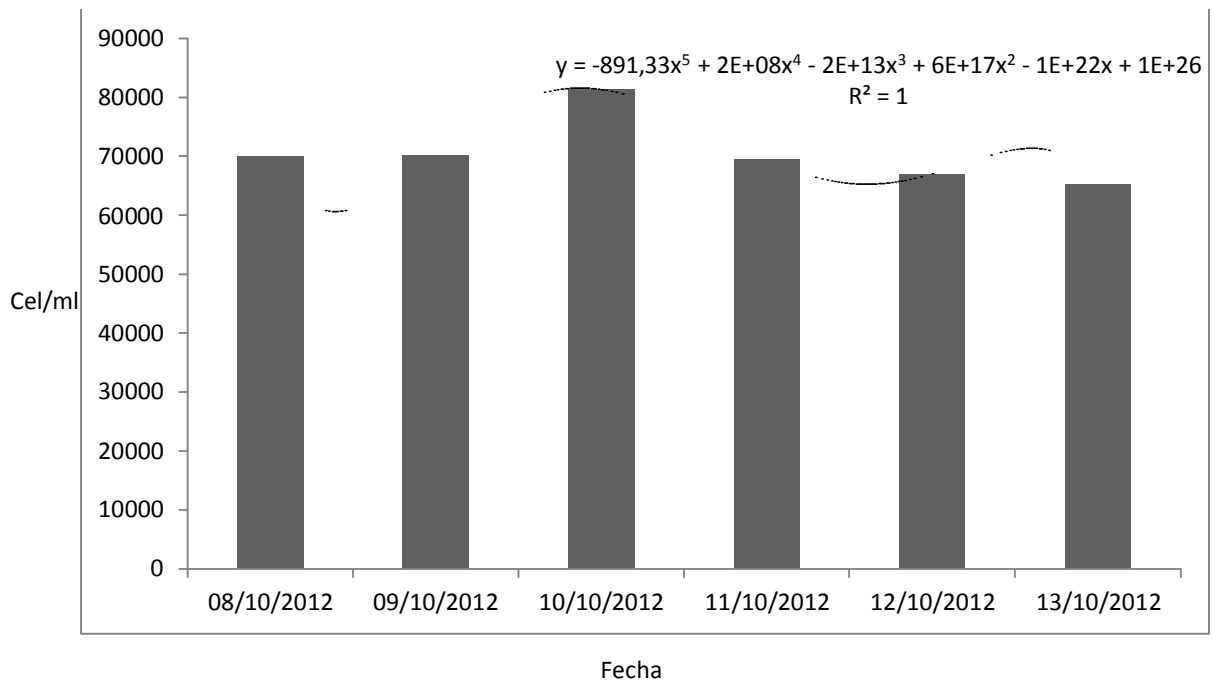
El fitoplancton marino es extremadamente tolerante a cambios en salinidad, la mayoría de especies crecen mejor a salinidades más bajas que la de su hábitat nativo, la cual es obtenida diluyendo e agua de mar con agua dulce.



Salinidades para tetraselmis chuii la media de 35 ppm. Colm-  
morales( ).

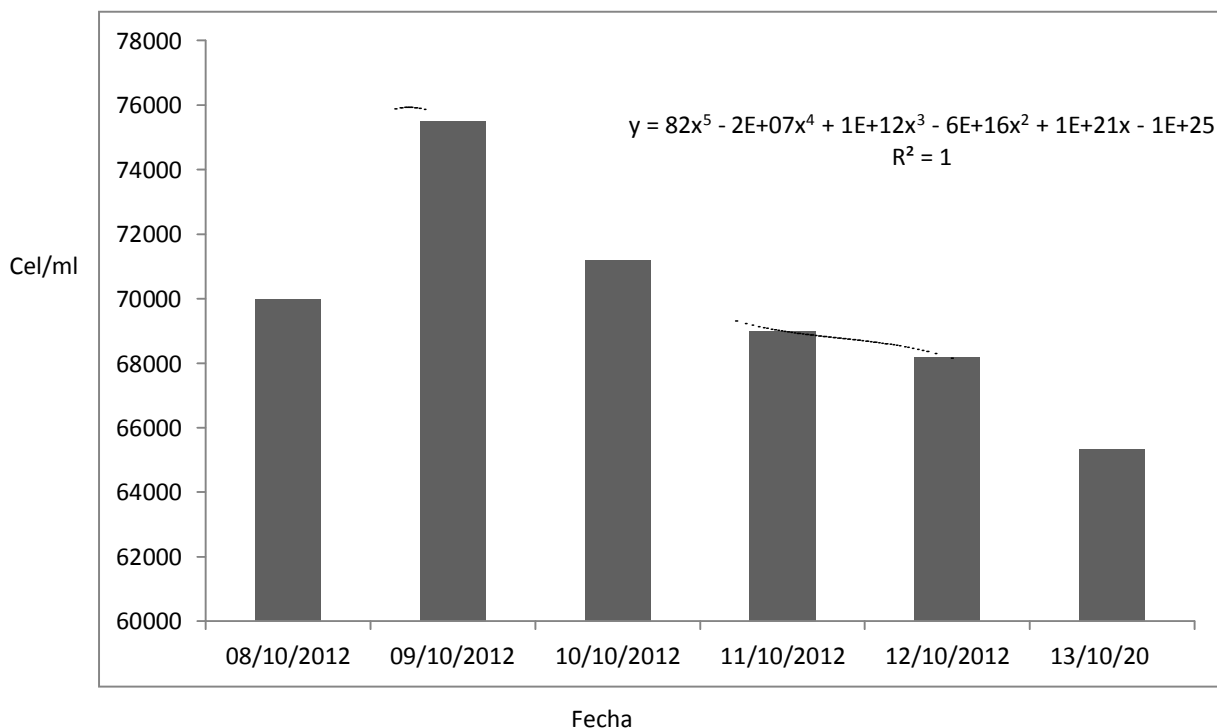
## CAPITULO V RESULTADOS


### 5.1 CRECIMIENTO DE *Tetraselmis chuii*

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola N° 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY		ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
08/10/2012	35 ups	20,6	8,3	250ml	70000	17500000
09/10/2012	35 ups	18,3	8,3	250ml	70200	17550000
10/10/2012	35 ups	17,1	7,8	250ml	81.330	20332500
11/10/2012	35 ups	18,7	7,7	250ml	69.500	17375000
12/10/2012	35 ups	18	7,8	250ml	67.000	16750000
13/10/2012	35 ups	17,8	7,9	250ml	65.340	16335000



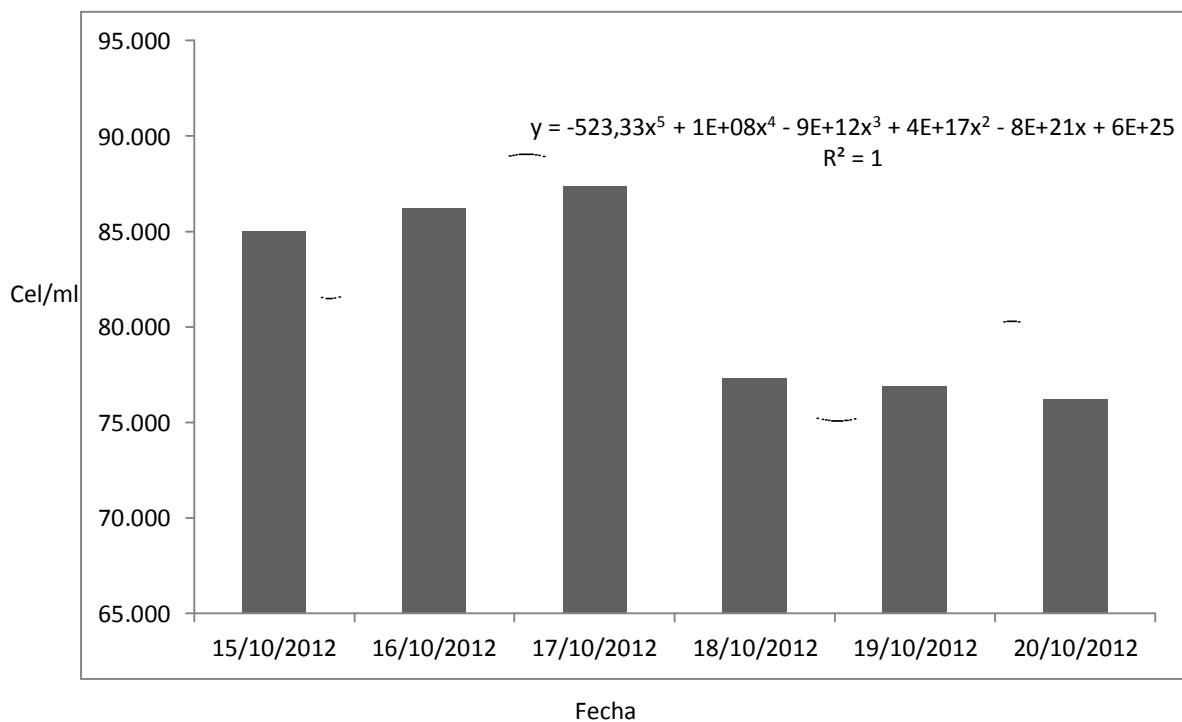
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola N° 2			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
08/10/2012	35 ups	19,3	7,2	250ml	70000	16250000
09/10/2012	35 ups	18,7	8,1	250ml	75.500	16625000
10/10/2012	35 ups	18,5	7,2	250ml	71.200	17800000
11/10/2012	35 ups	18,3	7,3	250ml	69.000	17250000
12/10/2012	35 ups	19,1	8,0	250ml	68.200	17050000
13/10/2012	35 ups	18	8,0	250ml	65.340	16335000





<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
15/10/2012	35 ups	18,1	7,3	250 ml	85.000	21250000
16/10/2012	35 ups	18,2	8,1	250ml	86.200	21550000
17/10/2012	35 ups	18.4	8,4	250ml	87.400	21850000
18/10/2012	35 ups	18,3	7,7	250ml	77.350	19337500
19/10/2012	35 ups	18,0	7,5	250ml	76.900	19225000
20/10/2012	35 ups	19,0	7,4	250ml	76.200	19050000

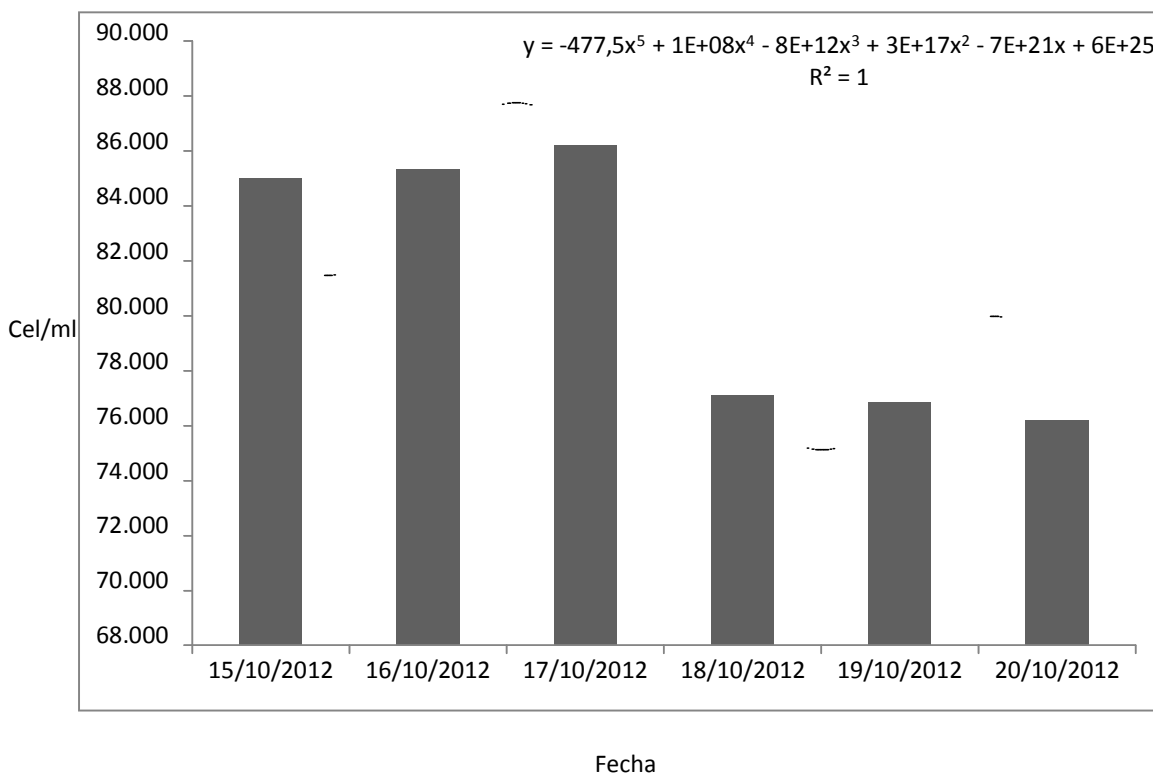






UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

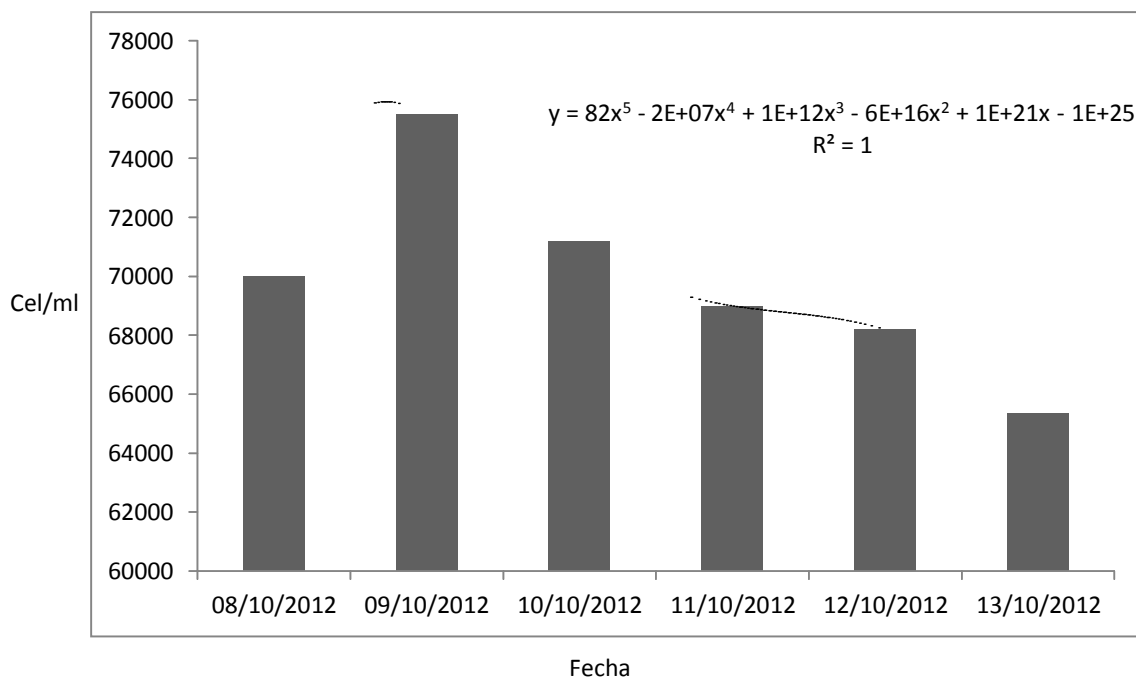
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
15/10/2012	35 ups	18,3	7,7	250 ml	85.000	21250000
16/10/2012	35 ups	18,7	8,3	250ml	85.350	21337500
17/10/2012	35 ups	17.9	8,2	250ml	86.200	21550000
18/10/2012	35 ups	18,6	7,7	250ml	77.100	19275000
19/10/2012	35 ups	18	7,6	250ml	76.850	19212500
20/10/2012	35 ups	19,1	7,8	250ml	76.200	19050000





UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			

**HOJA DE REPORTE**

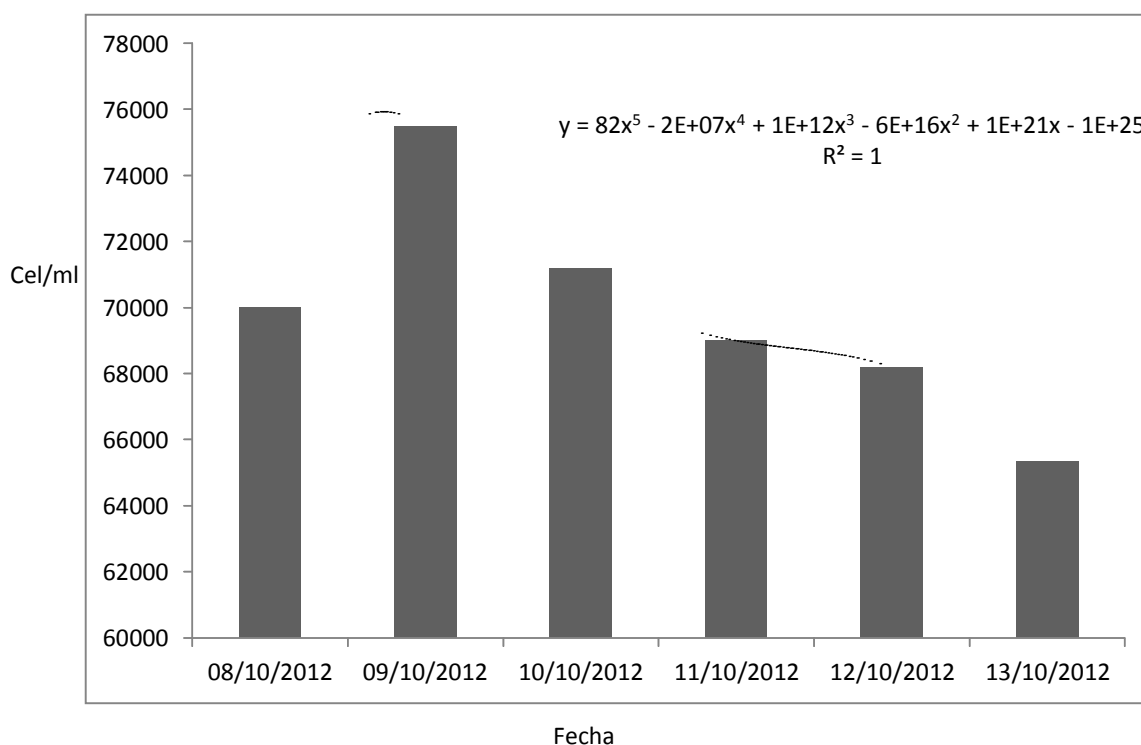
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
15/10/2012	35 ups	18,3	7,7	500ml	65.340	32670000
16/10/2012	35 ups	18,7	8,3	500ml	68.550	34275000
17/10/2012	35 ups	17.9	8,2	500ml	68.750	34375000
18/10/2012	35 ups	18,6	7,7	500ml	67.200	33600000
19/10/2012	35 ups	18	7,6	500ml	67.050	33525000
20/10/2012	35 ups	19,1	7,8	500ml	66.800	33400000




UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

### HOJA DE REPORTE

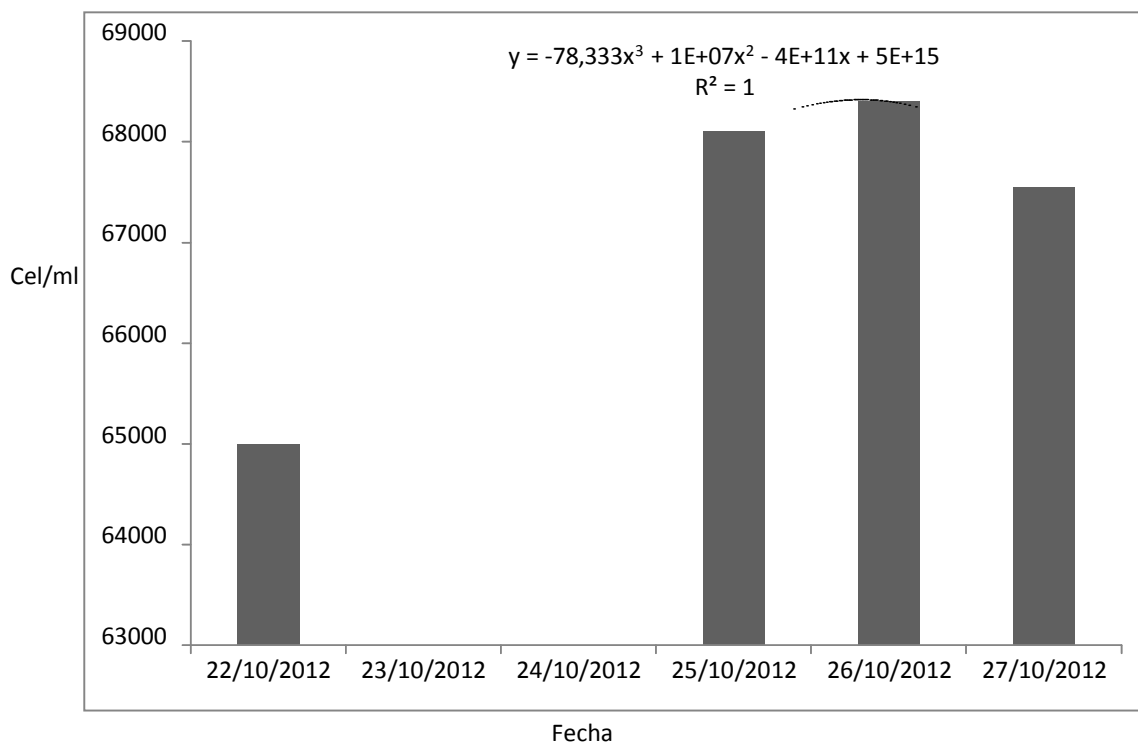
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
15/10/2012	35 ups	18,3	7,7	500ml	65.340	32670000
16/10/2012	35 ups	18,7	8,3	500ml	66.600	33300000
17/10/2012	35 ups	17.9	8,2	500ml	68.750	34375000
18/10/2012	35 ups	18,6	7,7	500ml	67.000	33500000
19/10/2012	35 ups	18	7,6	500ml	67.250	33625000
20/10/2012	35 ups	19,1	7,8	500ml	66.000	33000000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

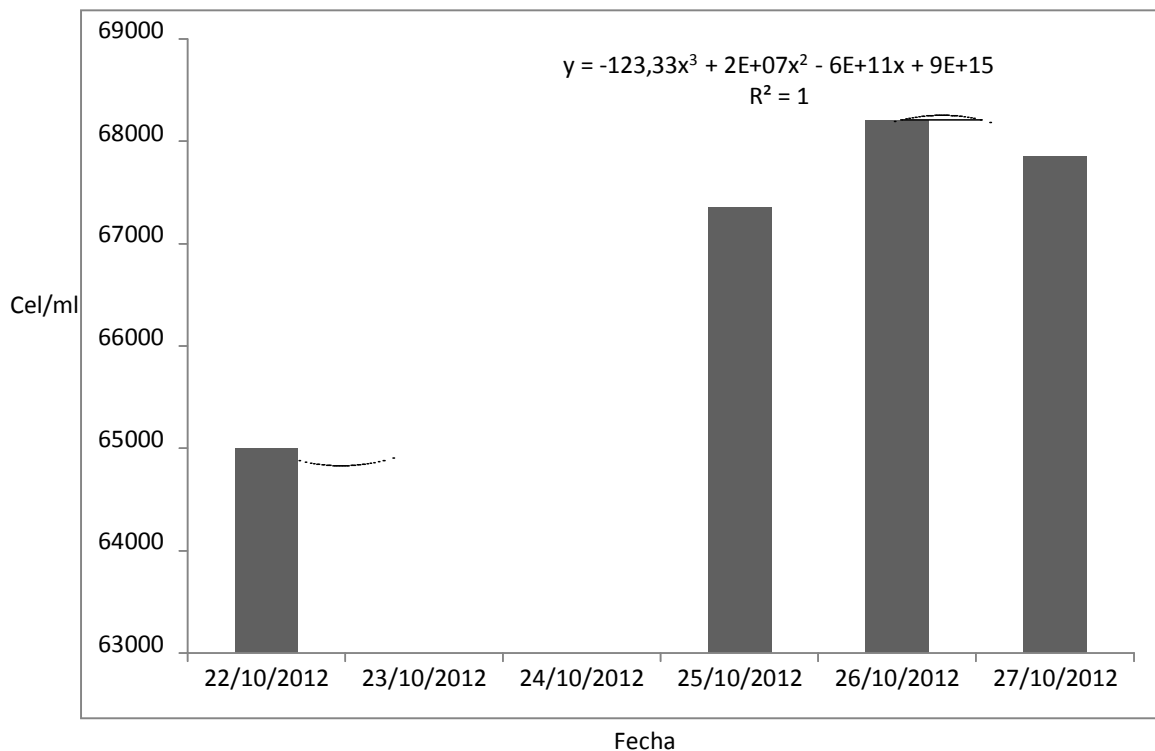
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
22/10/2012	35 ups	18,7	8,0	250 ml	65000	16250000
23/10/2012						
24/10/2012						
25/10/2012	35 ups	18,5	7,6	250ml	68100	17025000
26/10/2012	35 ups	18,1	7,4	250ml	68400	17100000
27/10/2012	35 ups	18,8	7,5	250ml	67550	16887500





<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

### HOJA DE REPORTE

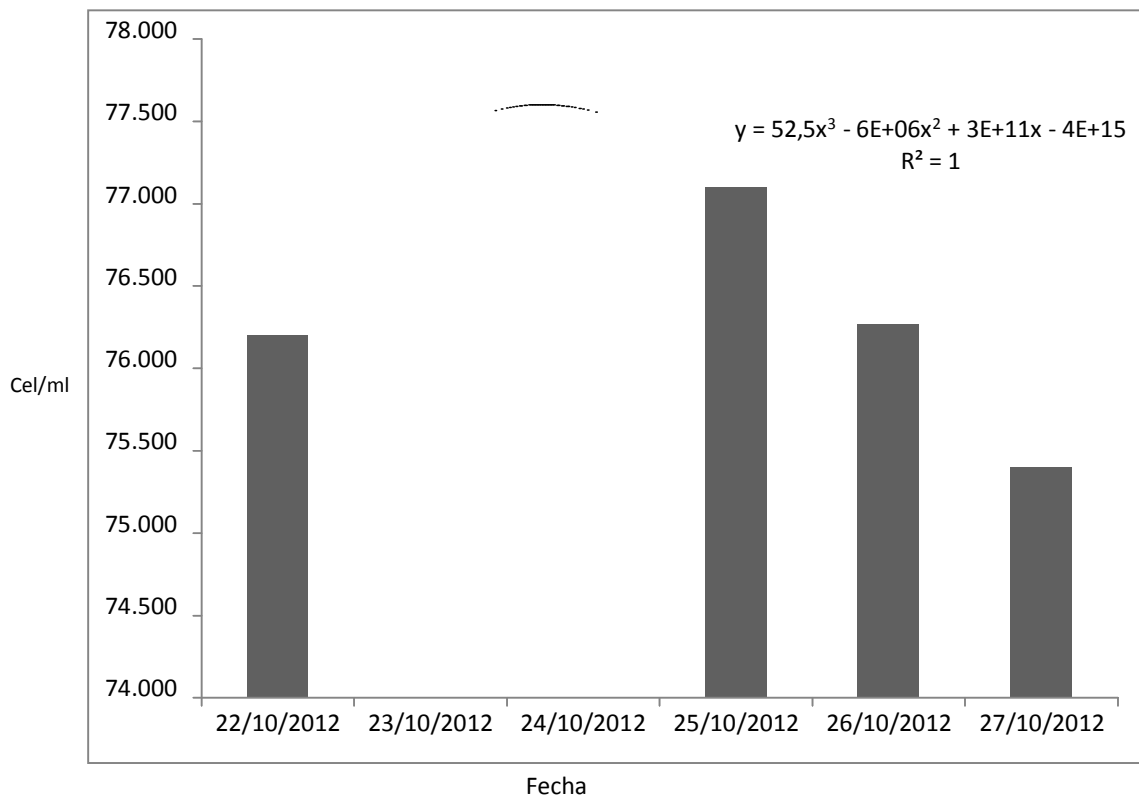
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
22/10/2012	35 ups	18,7	8,1	250 ml	65000	16250000
23/10/2012						
24/10/2012						
25/10/2012	35 ups	18,2	7,2	250ml	67350	16837500
26/10/2012	35 ups	18,0	7,6	250ml	68200	17050000
27/10/2012	35 ups	18,5	7,7	250ml	67850	16962500





UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			

**HOJA DE REPORTE**

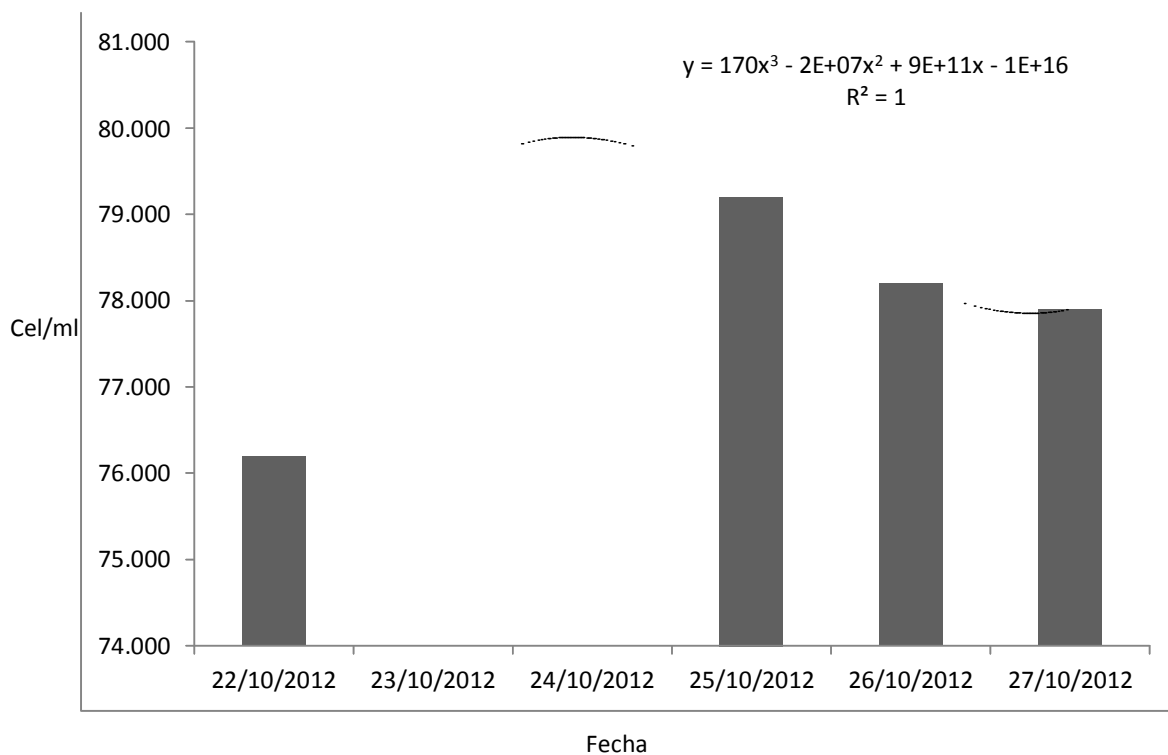
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
22/10/2012	35 ups	18,8	7,9	500ml	76.200	38100000
23/10/2012						
24/10/2012						
25/10/2012	35 ups	18,3	8,2	500ml	77.100	38550000
26/10/2012	35 ups	18	8,5	500ml	76.270	38135000
27/10/2012	35 ups	17,8	8,3	500ml	75.400	37700000



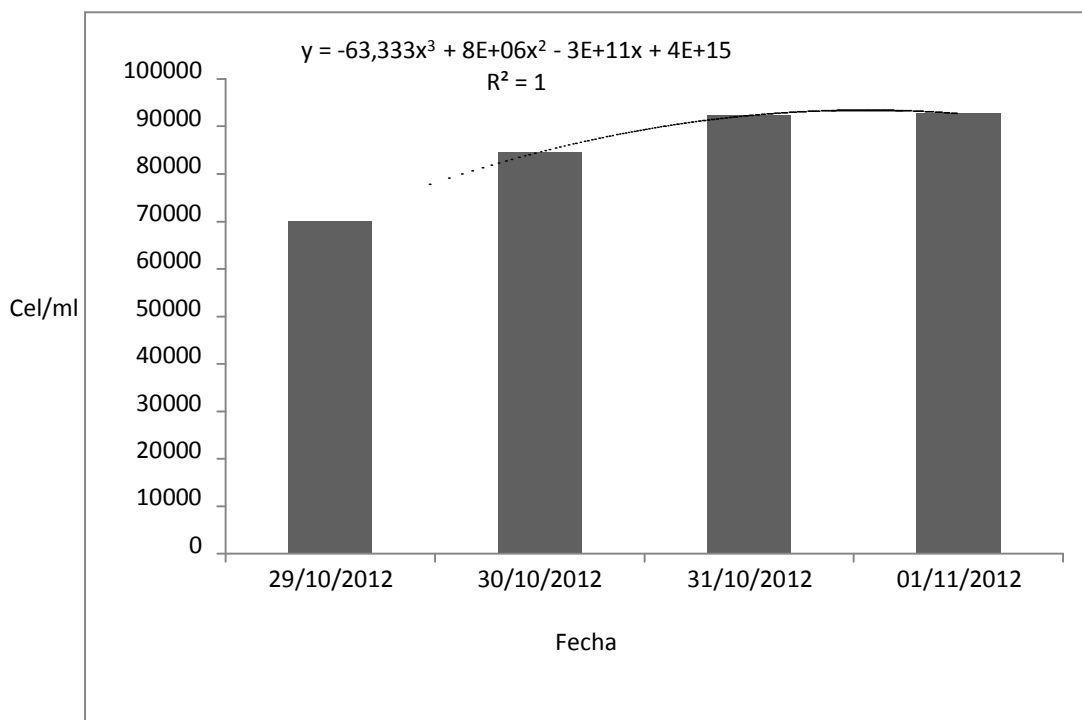
<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**


Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
22/10/2012	35 ups	18,9	8,3	500ml	76.200	38100000
23/10/2012						
24/10/2012						
25/10/2012	35 ups	18,6	8,4	500ml	79.200	39600000
26/10/2012	35 ups	18,0	8,4	500ml	78.200	39100000
27/10/2012	35 ups	18,1	8,6	500ml	77.900	38950000

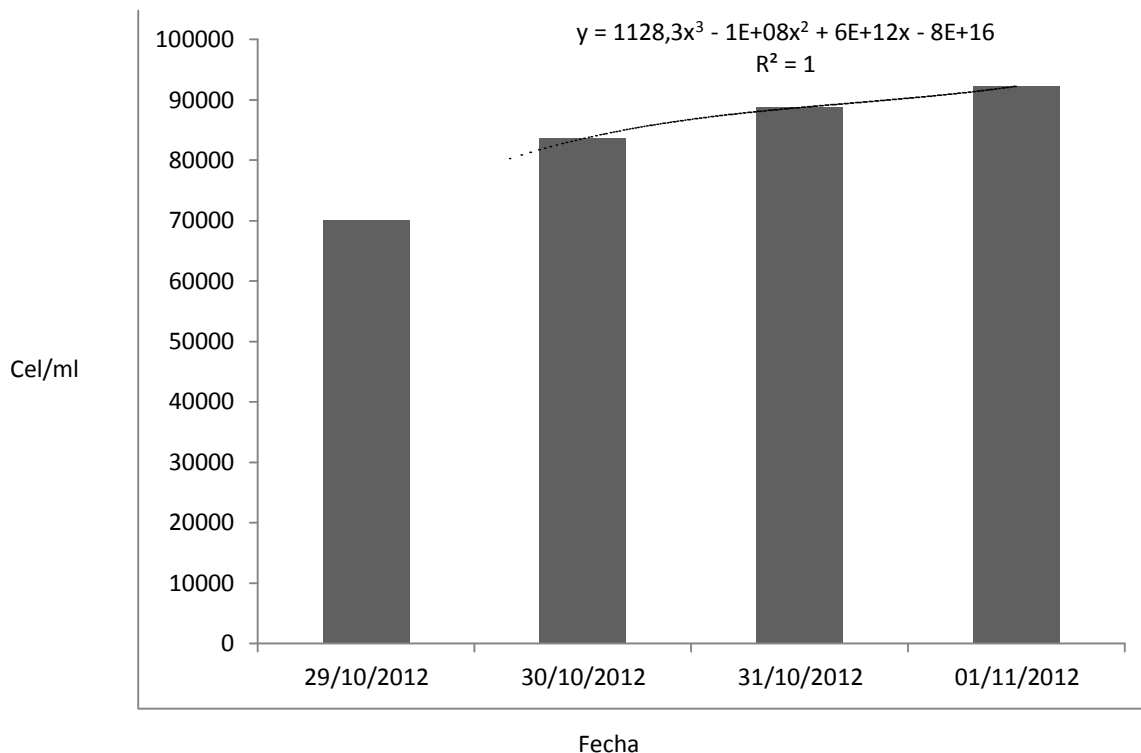



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar				Especialidad: Biología Pesquera		
Fiola 1				Laboratorio de Plancton		
Especie: Clorofita				Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>		
Integrantes:		JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY		ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
29/10/2012	35 ups	18,0	8,3	250 ml	70000	17500000
30/10/2012	35 ups	18,3	8,6	250ml	84600	21150000
31/10/2012	35 ups	18,5	8,3	250ml	92300	23075000
01/11/2012	35 ups	18,7	8,7	250ml	92720	23180000

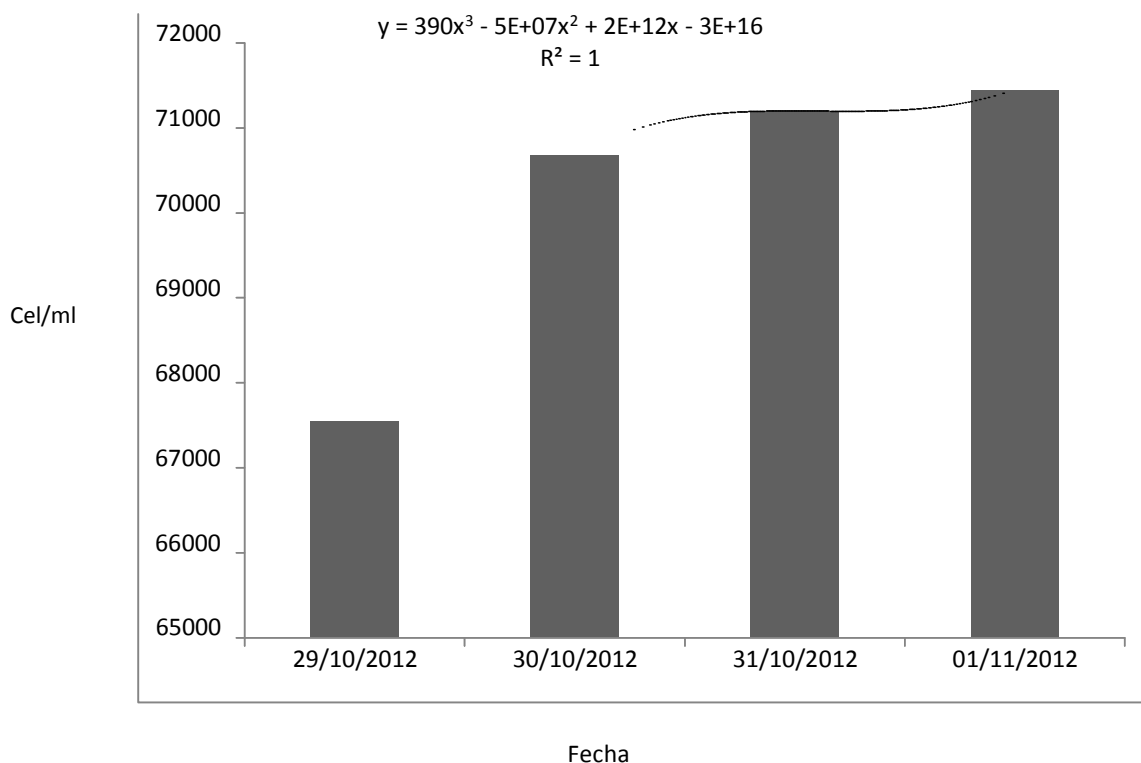





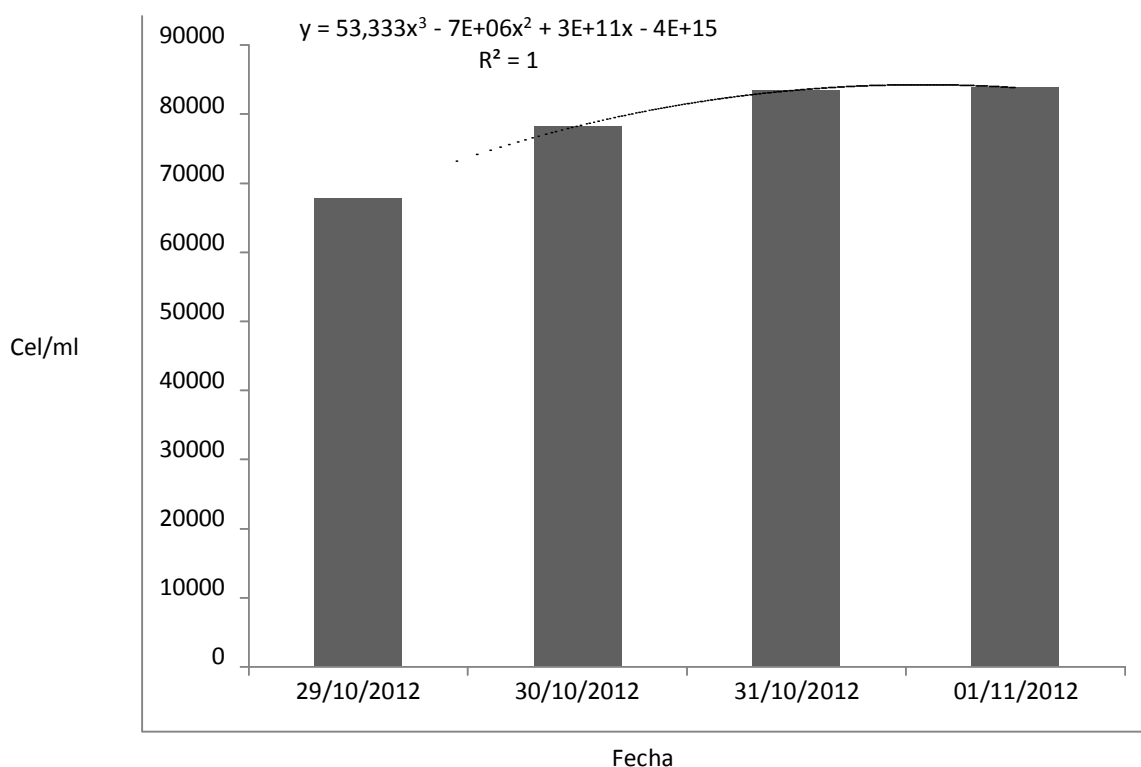
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 2			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
29/10/2012	35 ups	18,0	8,5	250 ml	70000	17500000
30/10/2012	35 ups	18,3	8,2	250ml	83.550	20887500
31/10/2012	35 ups	18,2	8,3	250ml	88700	22175000
01/11/2012	35 ups	18,7	8,6	250ml	92220	23055000




UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1		Laboratorio de Plancton				
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:		JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON				
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
29/10/2012	35 ups	18,0	8,3	500ml	67550	33775000
30/10/2012	35 ups	18,5	8,2	500ml	70.680	35340000
31/10/2012	35 ups	18,6	8,6	500ml	71200	35600000
01/11/2012	35 ups	18,5	8,4	500ml	71450	35160000



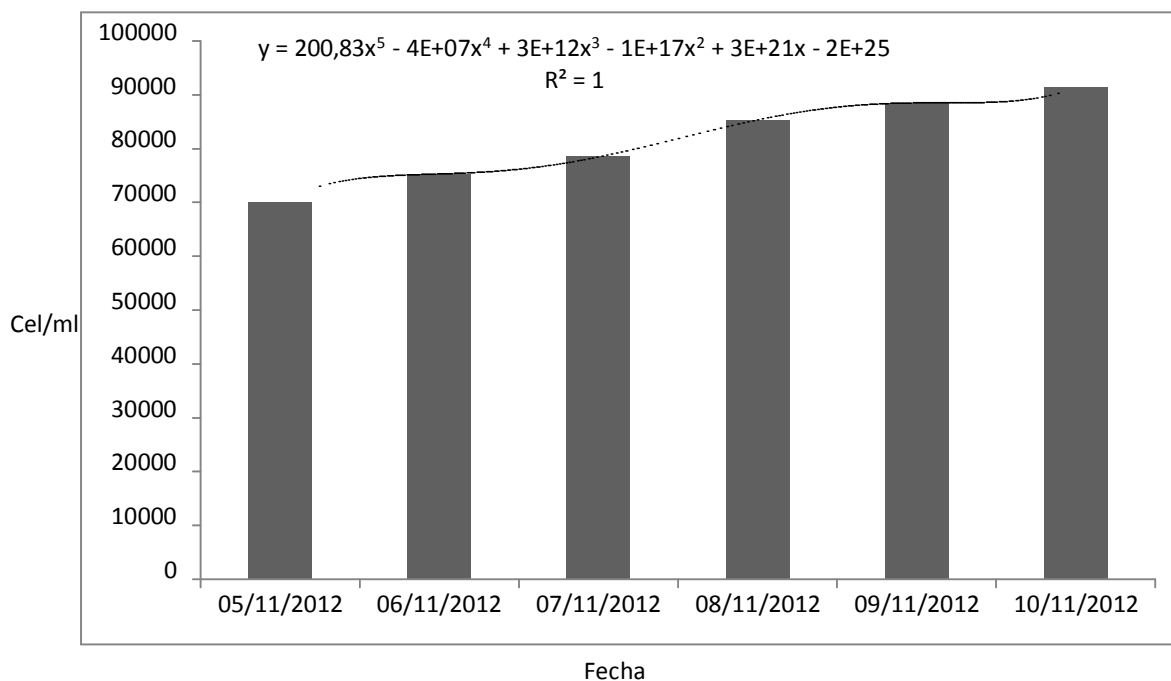
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar				Especialidad: Biología Pesquera		
Fiola 1				Laboratorio de Plancton		
Especie: Clorofita				Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>		
Integrantes:		JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY		ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
29/10/2012	35 ups	18,2	8,6	500ml	67850	33925000
30/10/2012	35 ups	18,4	8,4	500ml	78.250	39125000
31/10/2012	35 ups	18,6	8,1	500ml	83470	41735000
01/11/2012	35 ups	18,5	8,3	500ml	83830	40600000




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 1		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

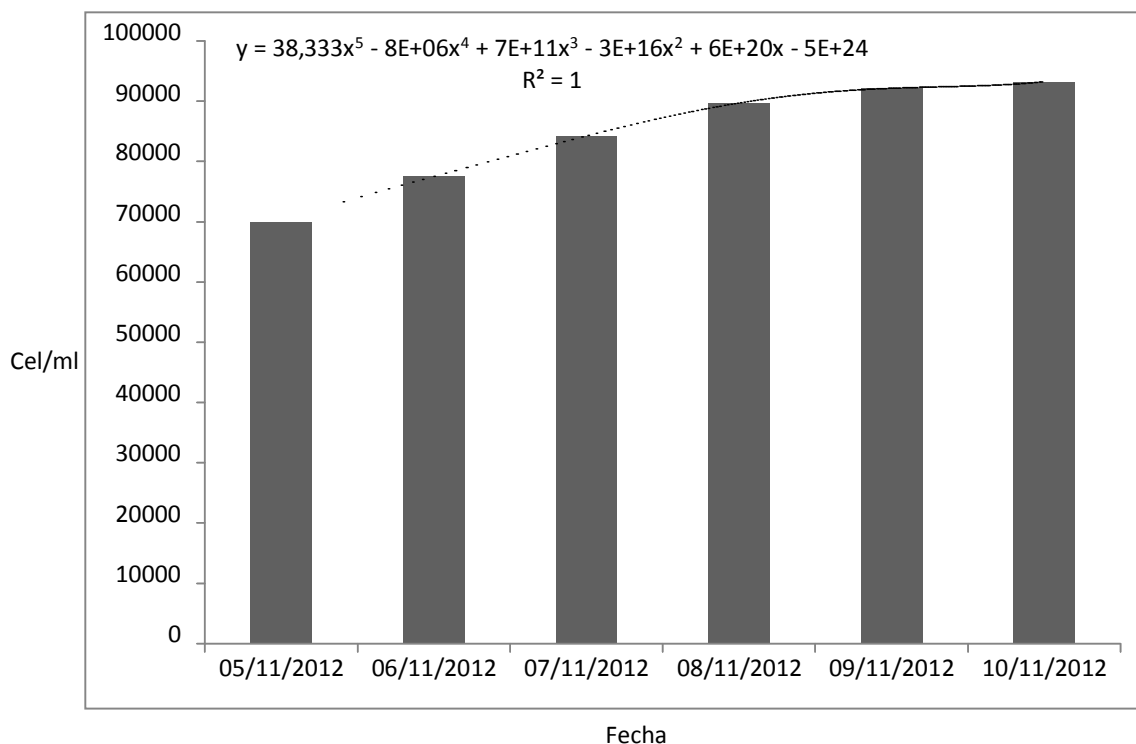
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
05/11/2012	35 ups	18,6	8,3	250 ml	70000	17500000
06/11/2012	35 ups	18,4	8,2	250ml	75300	18825000
07/11/2012	35 ups	18,5	8,4	250ml	78450	19612500
08/11/2012	35 ups	18,7	8,4	250ml	85330	21332500
09/11/2012	35 ups	18,0	8,5	250ml	88500	22125000
10/11/2012	35 ups	18,1	8,3	250ml	91300	22825000





<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

### HOJA DE REPORTE

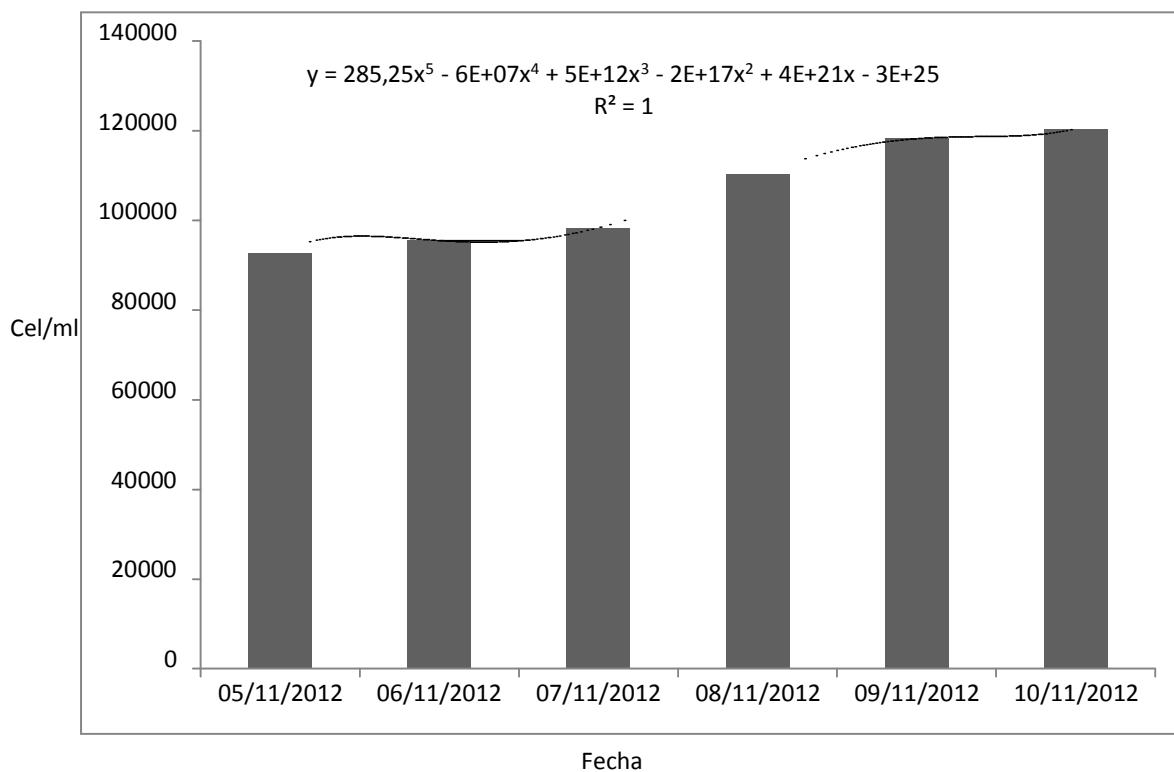
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
05/11/2012	35 ups	18,3	8,4	250 ml	70000	17500000
06/11/2012	35 ups	18,5	8,3	250ml	77500	19375000
07/11/2012	35 ups	18,2	8,0	250ml	84240	21060000
08/11/2012	35 ups	18,6	8,3	250ml	89700	22425000
09/11/2012	35 ups	18,3	8,6	250ml	92150	23221800
10/11/2012	35 ups	18,5	8,4	250ml	93250	23312500




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

### HOJA DE REPORTE

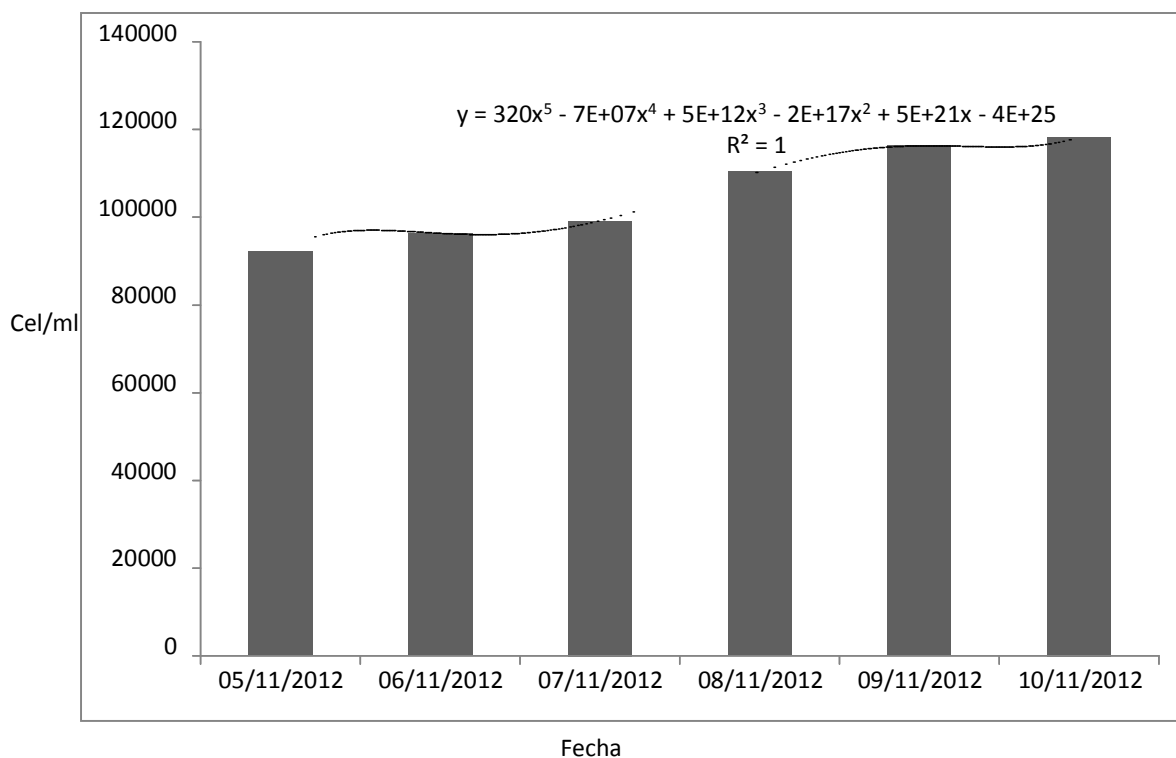
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
05/11/2012	35 ups	18,7	8,1	500ml	92720	46360000
06/11/2012	35 ups	18,4	8,0	500ml	95500	47750000
07/11/2012	35 ups	18,2	8,3	500ml	98340	49170000
08/11/2012	35 ups	18,5	8,5	500ml	110340	55170000
09/11/2012	35 ups	18,0	8,4	500ml	118200	59100000
10/11/2012	35 ups	18,6	8,0	500ml	120450	60225000



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

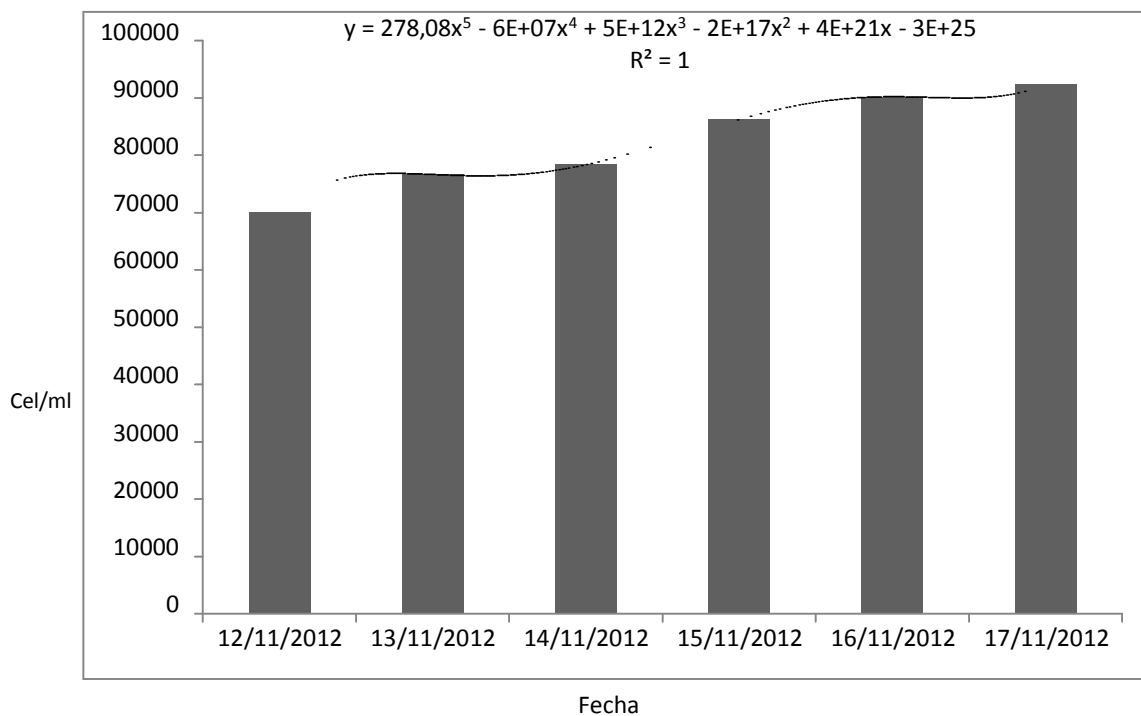
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
05/11/2012	35 ups	18,5	8,4	500ml	92220	46110000
06/11/2012	35 ups	18,2	8,2	500ml	96340	48170000
07/11/2012	35 ups	18,4	8,0	500ml	99200	49600000
08/11/2012	35 ups	18,2	8,1	500ml	110400	55200000
09/11/2012	35 ups	18,0	8,4	500ml	116270	58135000
10/11/2012	35 ups	18,5	8,5	500ml	118270	59135000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 1	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

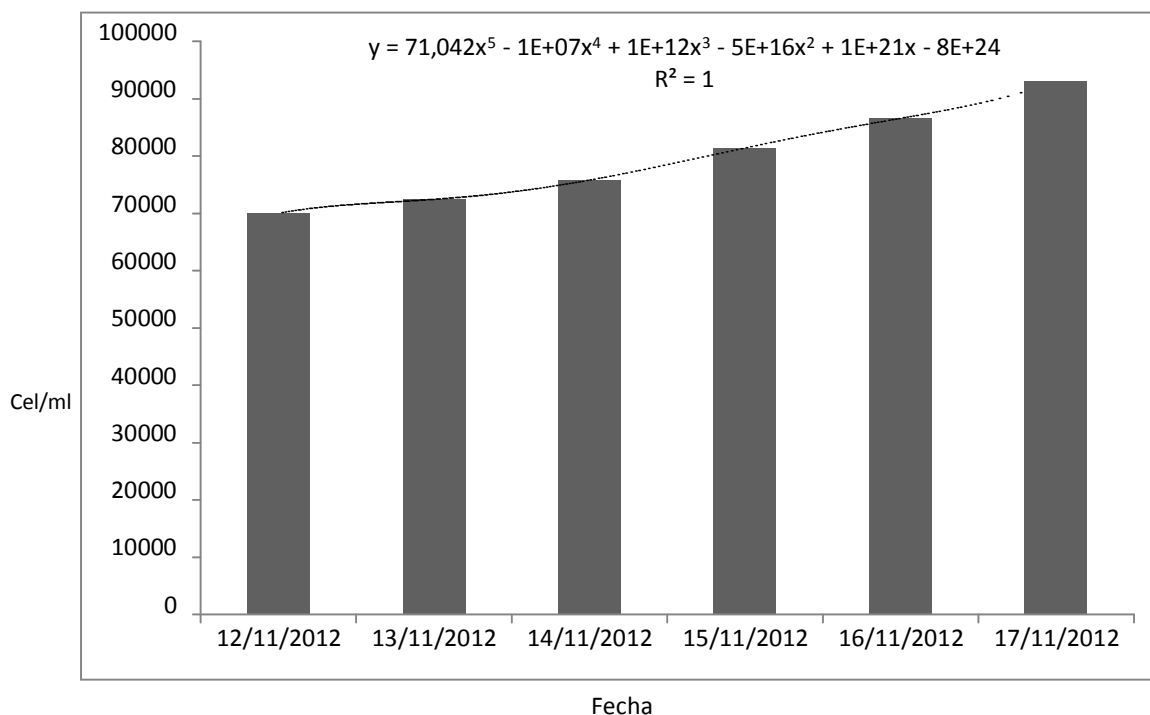
**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
12/11/2012	35 ups	18,7	8,1	250 ml	70000	17500000
13/11/2012	35 ups	18,5	8,3	250ml	76640	19160000
14/11/2012	35 ups	18,1	8,8	250ml	78340	19585000
15/11/2012	35 ups	18,3	8,7	250ml	86220	21555000
16/11/2012	35 ups	18,2	8,8	250ml	90200	22550000
17/11/2012	35 ups	18,5	8,6	250ml	92370	23092500







UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 2			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
12/11/2012	35 ups	18,7	8,4	250 ml	70000	17500000
13/11/2012	35 ups	18,6	8,5	250ml	72450	18112500
14/11/2012	35 ups	18,5	8,8	250ml	75800	18950000
15/11/2012	35 ups	18,6	8,6	250ml	81400	20350000
16/11/2012	35 ups	18,0	8,8	250ml	86570	21642500
17/11/2012	35 ups	18,3	8,9	250ml	93125	23281250

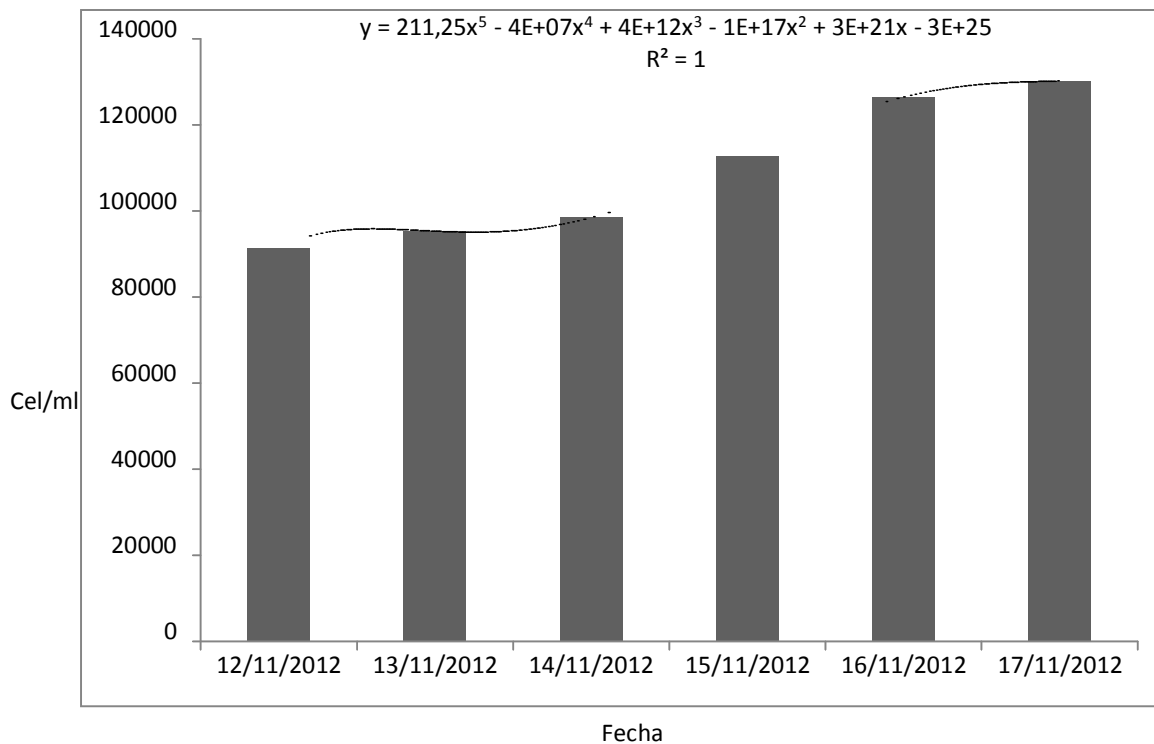


**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI**

Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

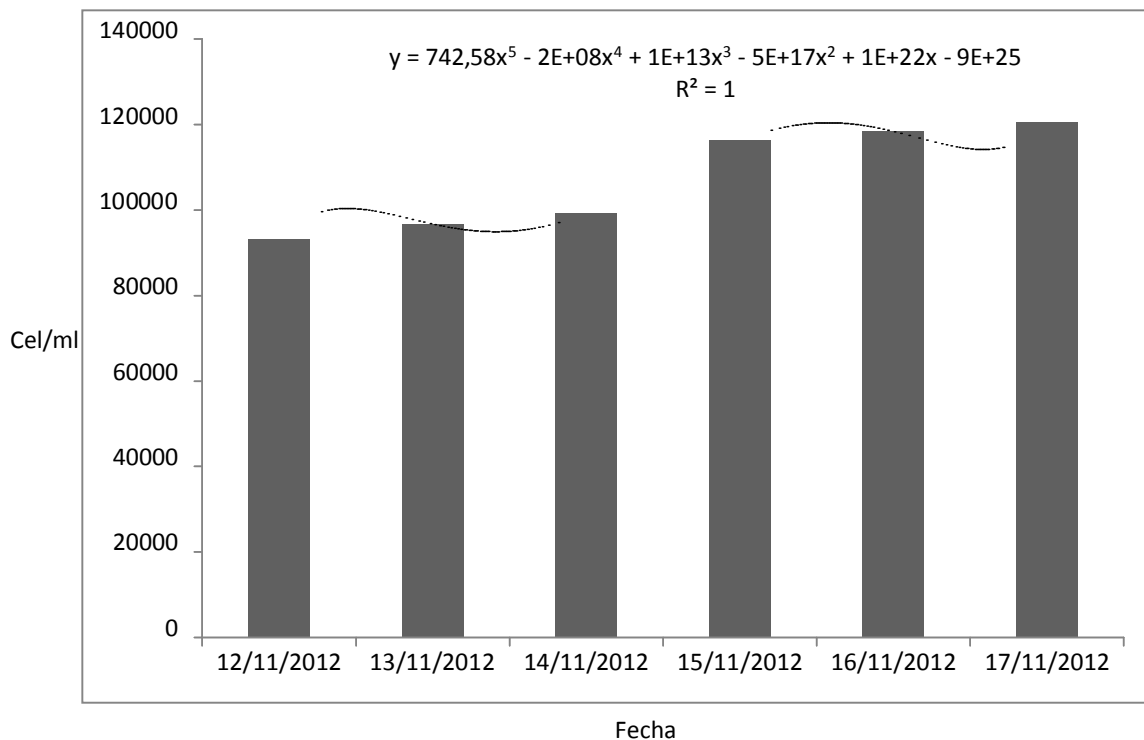
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
12/11/2012	35 ups	18,5	8,4	500ml	91300	45650000
13/11/2012	35 ups	18,3	8,4	500ml	95300	47650000
14/11/2012	35 ups	18,1	8,3	500ml	98450	49225000
15/11/2012	35 ups	18,0	8,3	500ml	112670	56335000
16/11/2012	35 ups	18,0	8,6	500ml	126450	63225000
17/11/2012	35 ups	18,2	8,3	500ml	130200	65100000




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
12/11/2012	35 ups	18,6	8,6	500ml	93250	46625000
13/11/2012	35 ups	18,3	8,3	500ml	96740	48370000
14/11/2012	35 ups	18,1	8,8	500ml	99200	49600000
15/11/2012	35 ups	18,7	8,6	500ml	116230	58115000
16/11/2012	35 ups	18,3	8,8	500ml	118400	59200000
17/11/2012	35 ups	18,8	8,7	500ml	120360	60180000

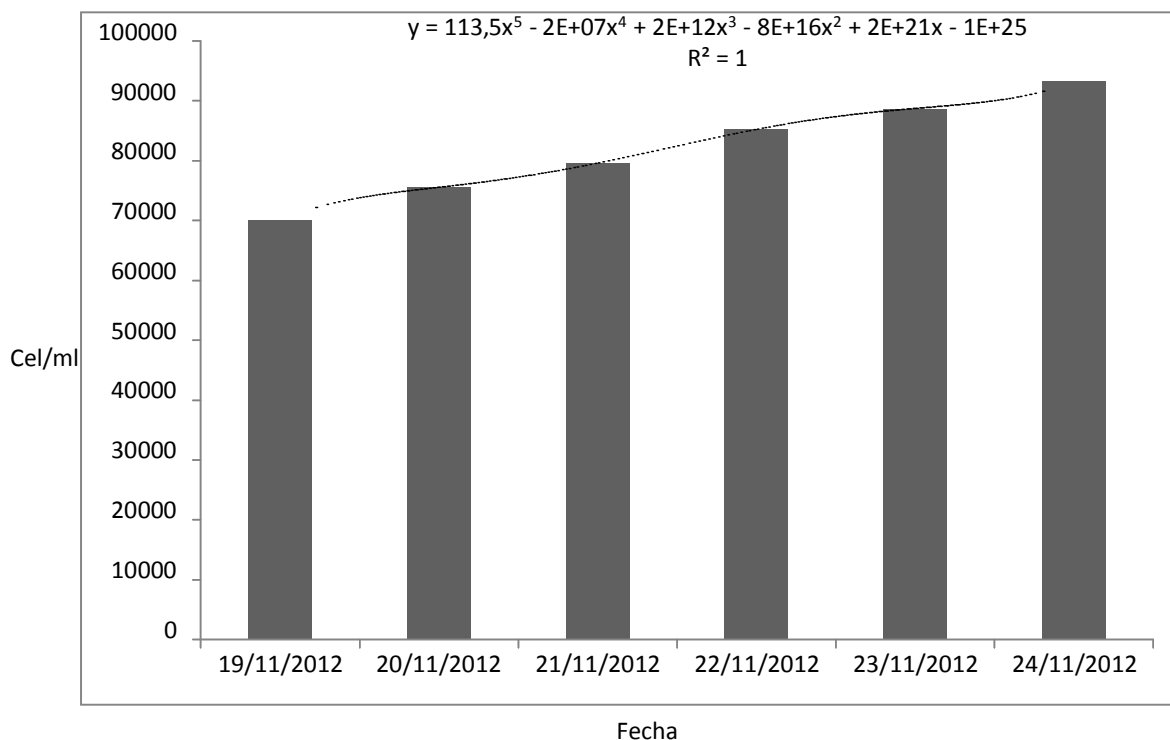




UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			



**HOJA DE REPORTE**

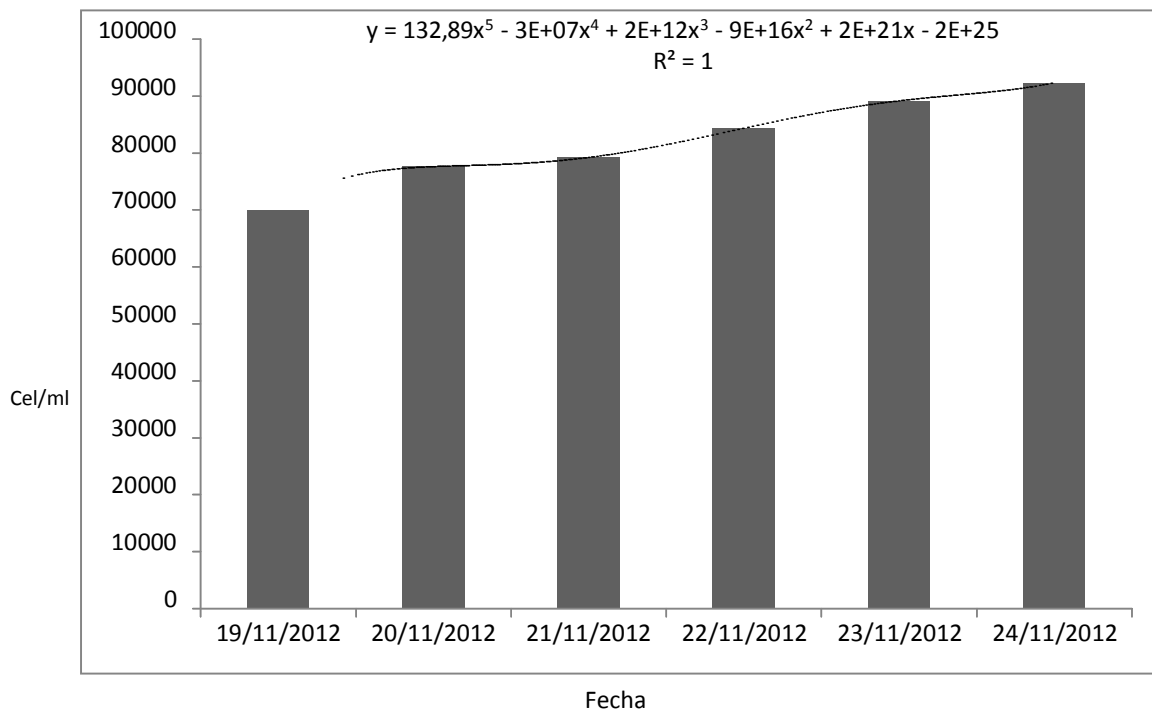
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
19/11/2012	35 ups	18,6	8,1	250 ml	70000	17500000
20/11/2012	35 ups	18,5	8,3	250ml	75560	18890000
21/11/2012	35 ups	18,2	8,3	250ml	79600	19900000
22/11/2012	35 ups	18,7	8,5	250ml	85225	21306250
23/11/2012	35 ups	18,2	8,8	250ml	88730	22182500
24/11/2012	35 ups	18,6	8,6	250ml	93220	23305000






<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

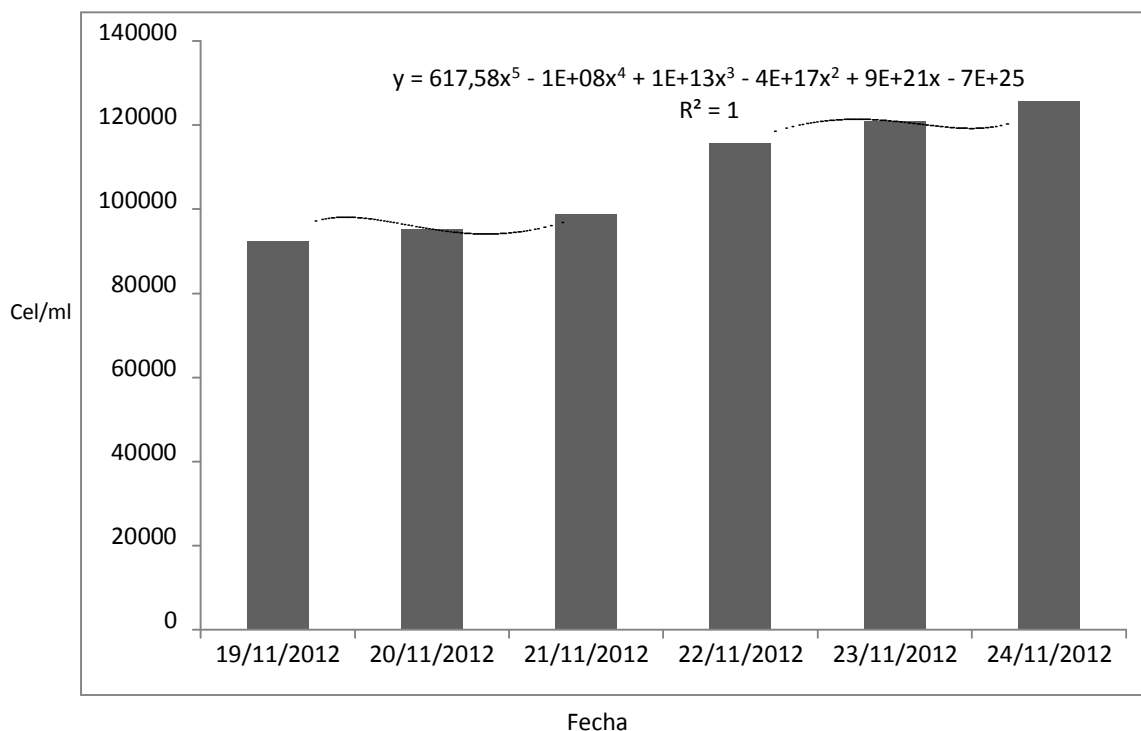
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
19/11/2012	35 ups	18,6	8,2	250 ml	70000	17500000
20/11/2012	35 ups	18,3	8,3	250ml	77620	19405000
21/11/2012	35 ups	18,1	8,5	250ml	79230	19807500
22/11/2012	35 ups	18,7	8,7	250ml	84360	21090000
23/11/2012	35 ups	18,4	8,6	250ml	89160	22290000
24/11/2012	35 ups	18,8	8,2	250ml	92347	23086750




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

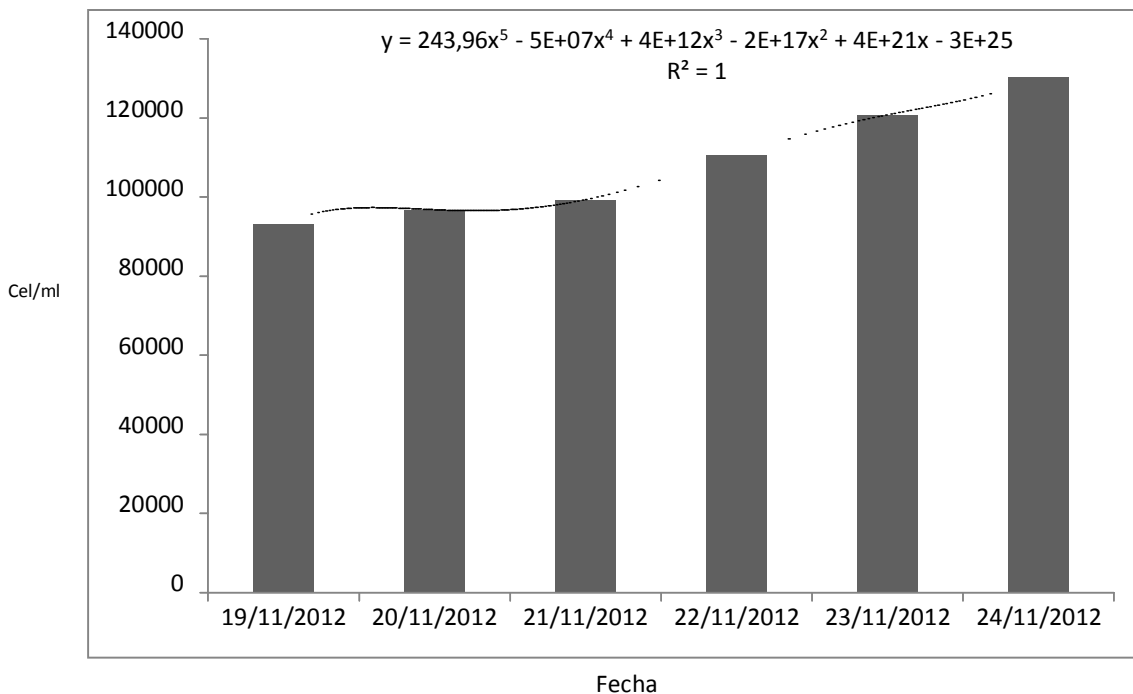
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
19/11/2012	35 ups	18,7	8,2	500ml	92370	46185000
20/11/2012	35 ups	18,3	8,2	500ml	95250	46625000
21/11/2012	35 ups	18,1	8,5	500ml	98730	49365000
22/11/2012	35 ups	18,7	8,4	500ml	115640	57820000
23/11/2012	35 ups	18,5	8,6	500ml	120910	60455000
24/11/2012	35 ups	16,8	8,6	500ml	125680	62840000



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

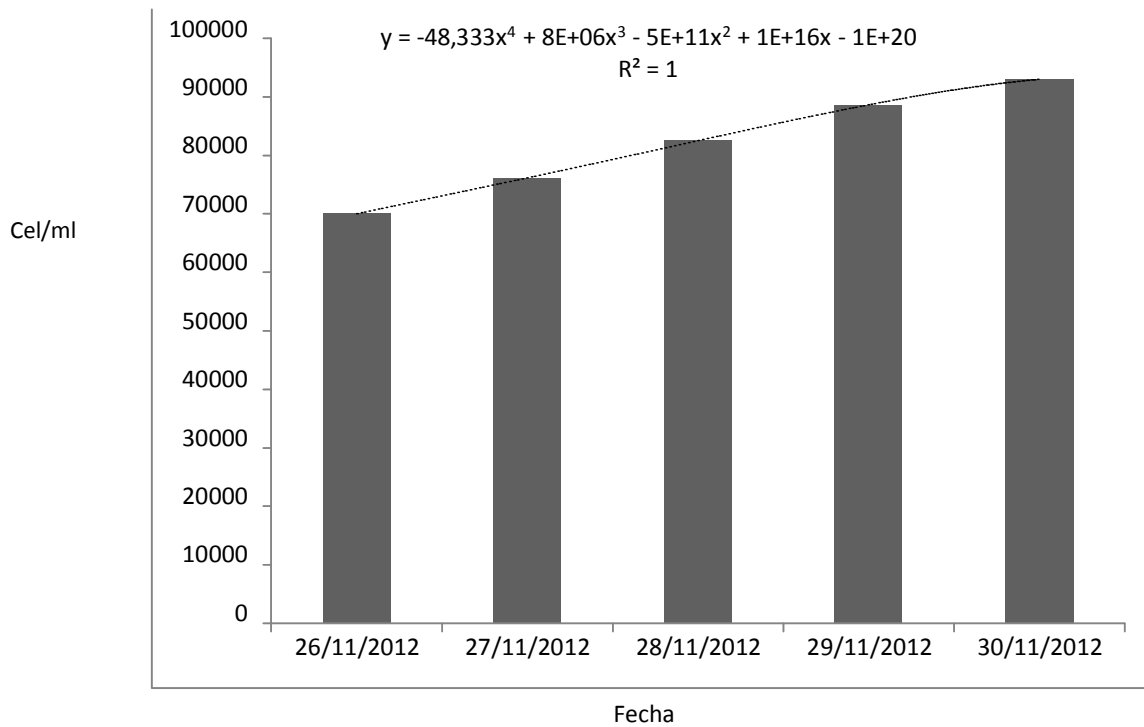
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
19/11/2012	35 ups	18,7	8,4	500ml	93125	46562500
20/11/2012	35 ups	18,3	8,4	500ml	96800	48400000
21/11/2012	35 ups	18,1	8,6	500ml	99340	49670000
22/11/2012	35 ups	18,0	8,7	500ml	110530	55265000
23/11/2012	35 ups	18,0	8,8	500ml	120780	60390000
24/11/2012	35 ups	18,5	8,9	500ml	130400	65200000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

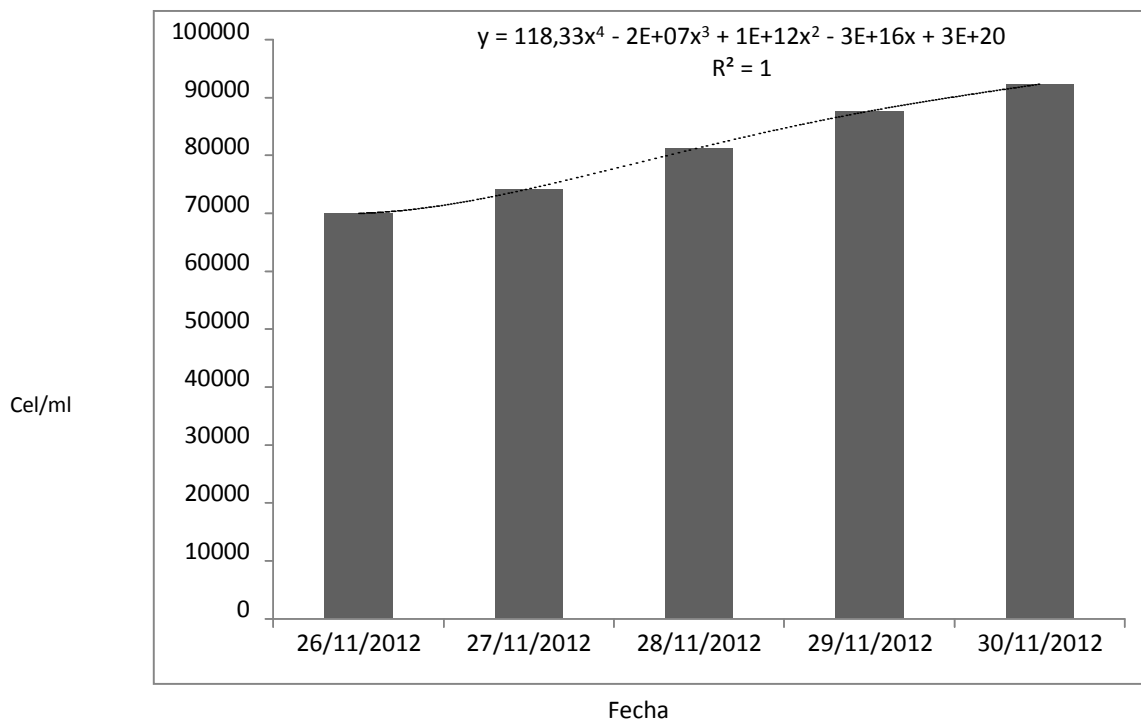
**HOJA DE REPORTE**




Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
26/11/2012	35 ups	18,6	8,5	250 ml	70000	17500000
27/11/2012	35 ups	18,4	8,6	250ml	76150	19037500
28/11/2012	35 ups	18,1	8,5	250ml	82500	20625000
29/11/2012	35 ups	18,0	8,7	250ml	88640	22160000
30/11/2012	35 ups	18,0	8,6	250ml	93000	23250000

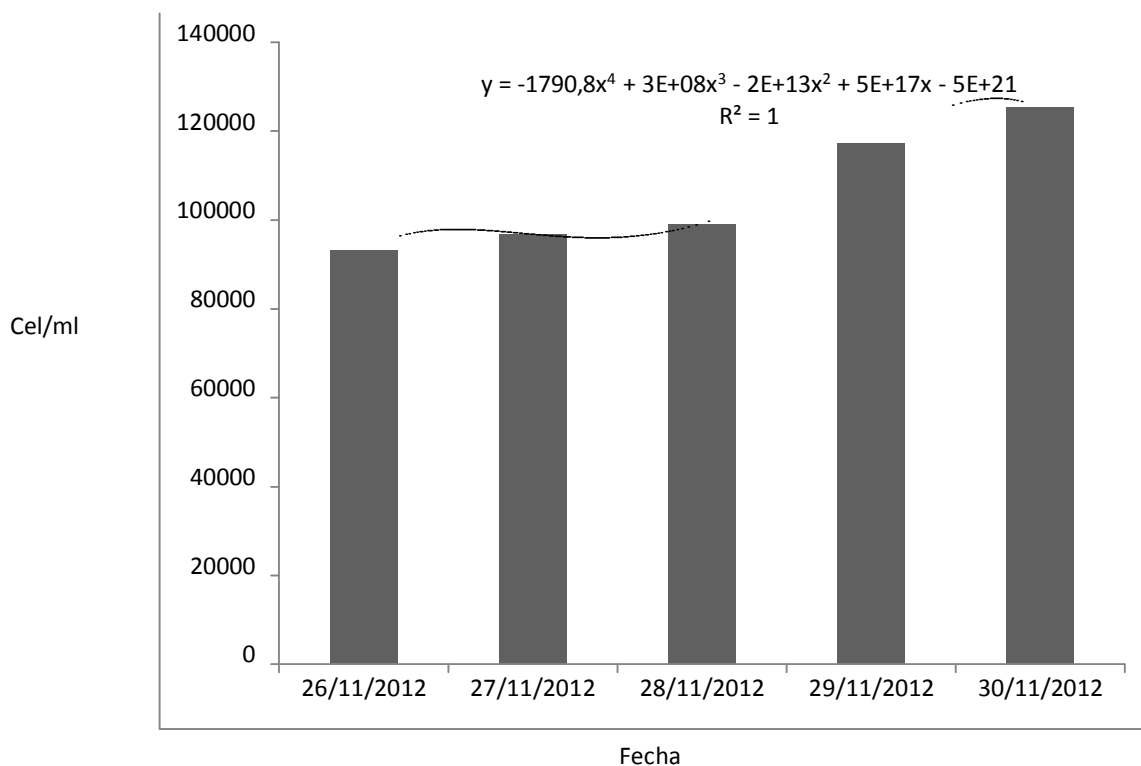




UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 2			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
26/11/2012	35 ups	18,0	8,3	250 ml	70000	17500000
27/11/2012	35 ups	18,3	8,2	250ml	74220	18555000
28/11/2012	35 ups	18,4	8,3	250ml	81330	20332500
29/11/2012	35 ups	18,3	8,4	250ml	87640	21910000
30/11/2012	35 ups	18,0	8,5	250ml	92300	23075000



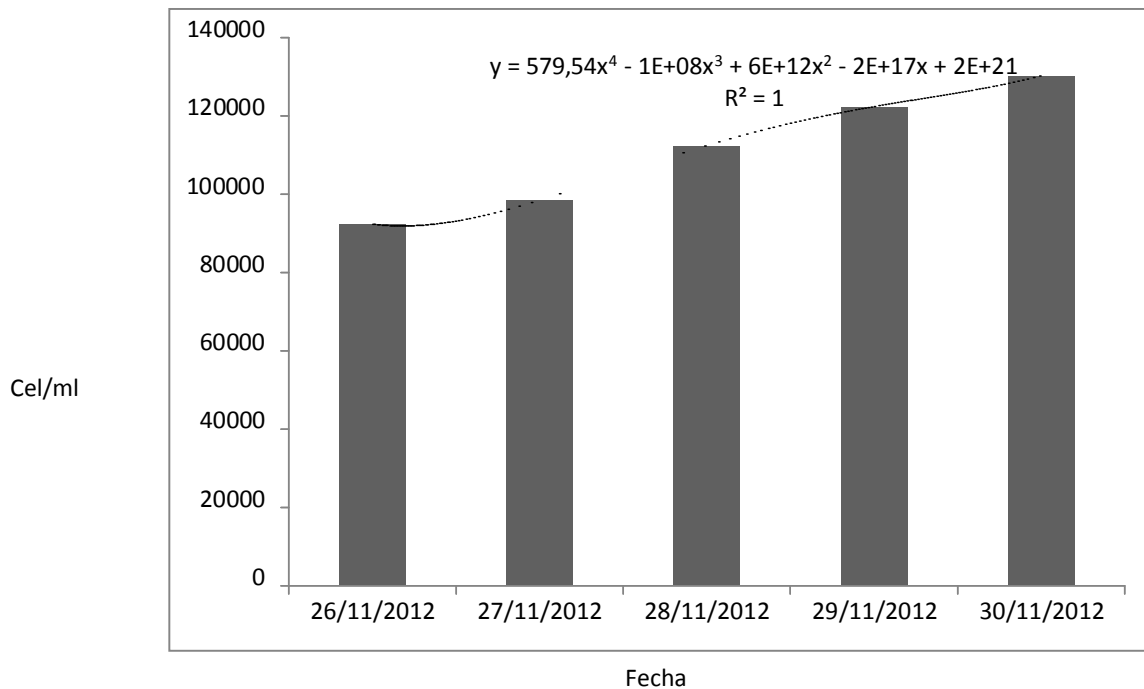
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar				Especialidad: Biología Pesquera		
Fiola 1				Laboratorio de Plancton		
Especie: Clorofita				Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>		
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON					
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
26/11/2012	35 ups	18,6	8,6	500ml	93220	46610000
27/11/2012	35 ups	18,3	8,6	500ml	96800	48400000
28/11/2012	35 ups	18,4	8,8	500ml	99250	49625000
29/11/2012	35 ups	18,7	8,7	500ml	117460	58730000
30/11/2012	35 ups	18,5	8,8	500ml	125340	62670000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

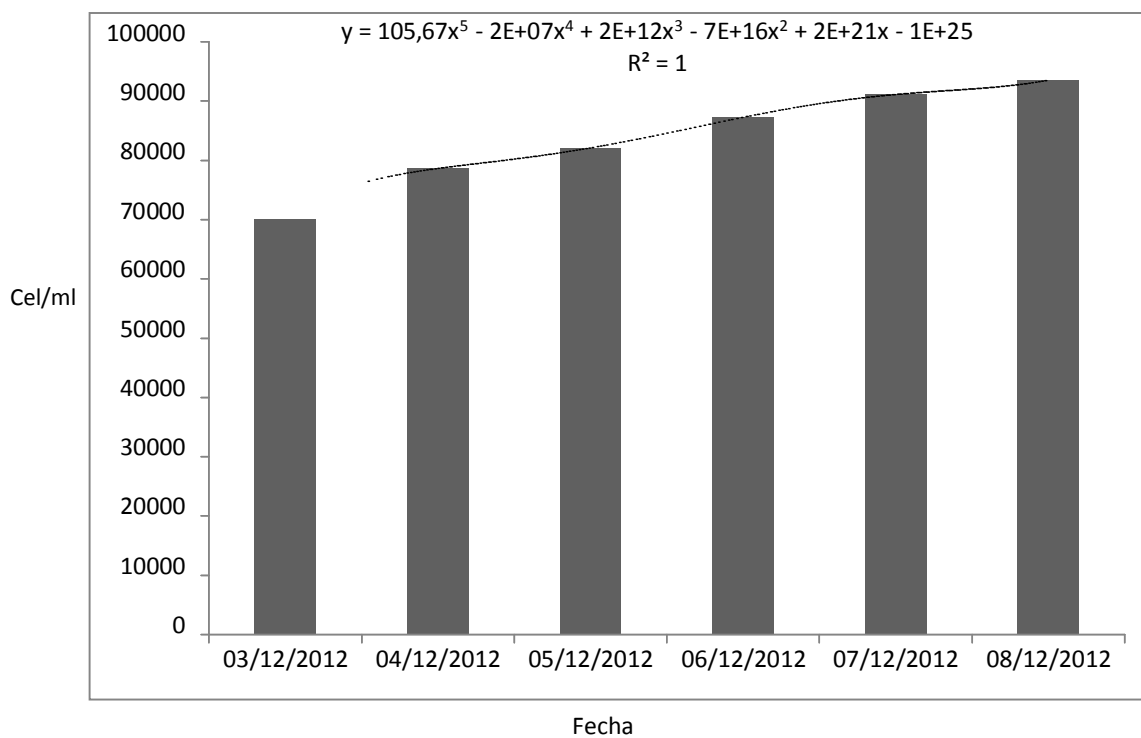
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
26/11/2012	35 ups	18,6	8,3	500ml	92347	46173500
27/11/2012	35 ups	18,5	8,5	500ml	98450	49225000
28/11/2012	35 ups	18,4	8,8	500ml	112428	56214000
29/11/2012	35 ups	18,7	8,7	500ml	122360	61180000
30/11/2012	35 ups	18,6	8,8	500ml	130234	65117000





<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			

**HOJA DE REPORTE**

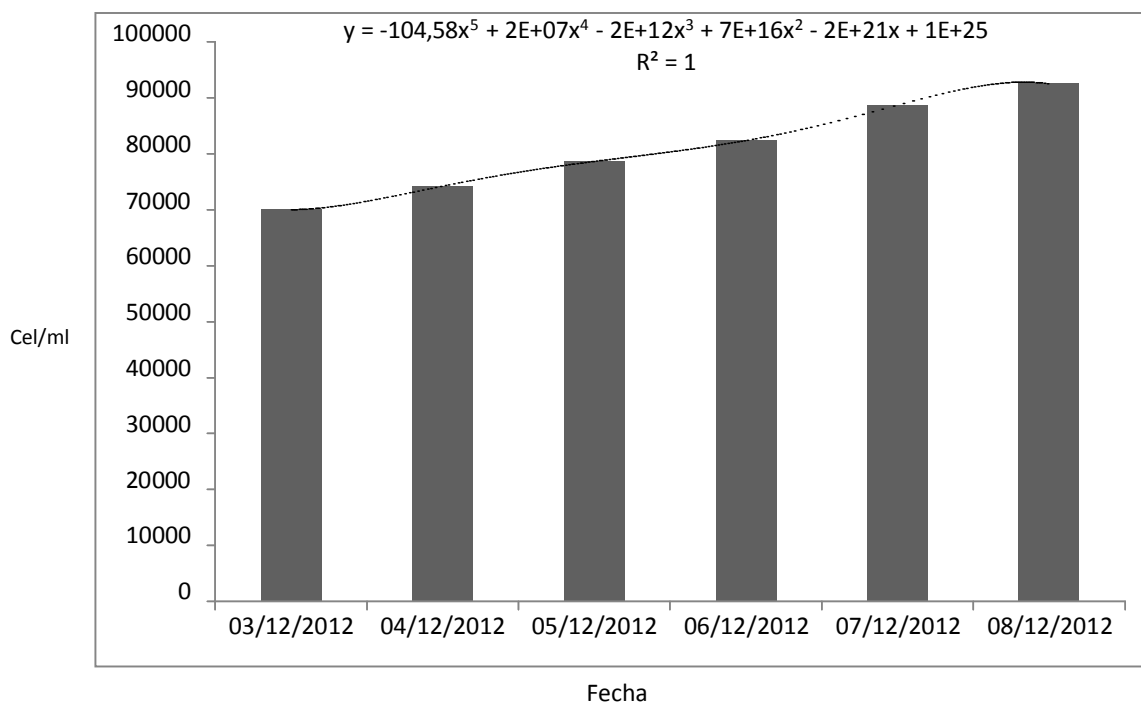
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
03/12/2012	35 ups	18,6	8,3	250 ml	70000	17500000
04/12/2012	35 ups	18,4	8,6	250ml	78630	19657500
05/12/2012	35 ups	18,5	8,8	250ml	82100	20525000
06/12/2012	35 ups	18,4	8,7	250ml	87250	21812500
07/12/2012	35 ups	18,3	8,8	250ml	91100	22775000
08/12/2012	35 ups	18,0	8,5	250ml	93530	23382500



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

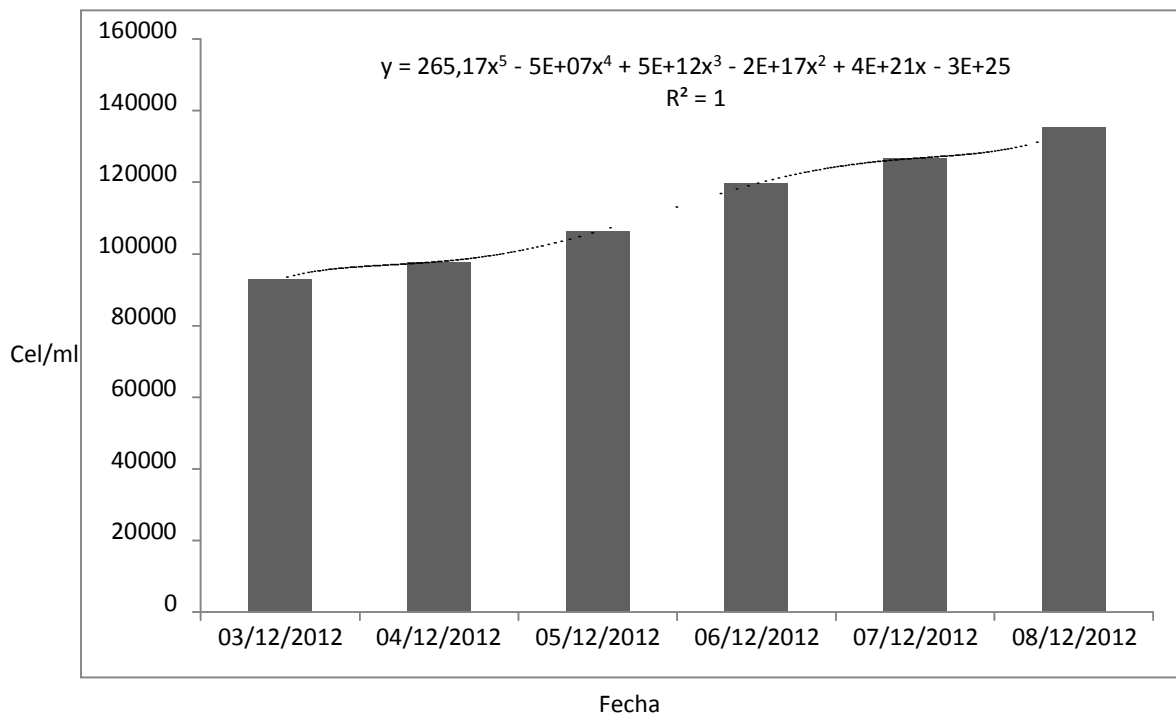
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
03/12/2012	35 ups	18,6	8,2	250 ml	70000	17500000
04/12/2012	35 ups	18,6	8,4	250ml	74200	18550000
05/12/2012	35 ups	18,5	8,8	250ml	78620	19655000
06/12/2012	35 ups	18,7	8,7	250ml	82350	20587500
07/12/2012	35 ups	18,4	8,5	250ml	88670	22167500
08/12/2012	35 ups	18,6	8,2	250ml	92500	23125000





UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 1		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

### HOJA DE REPORTE

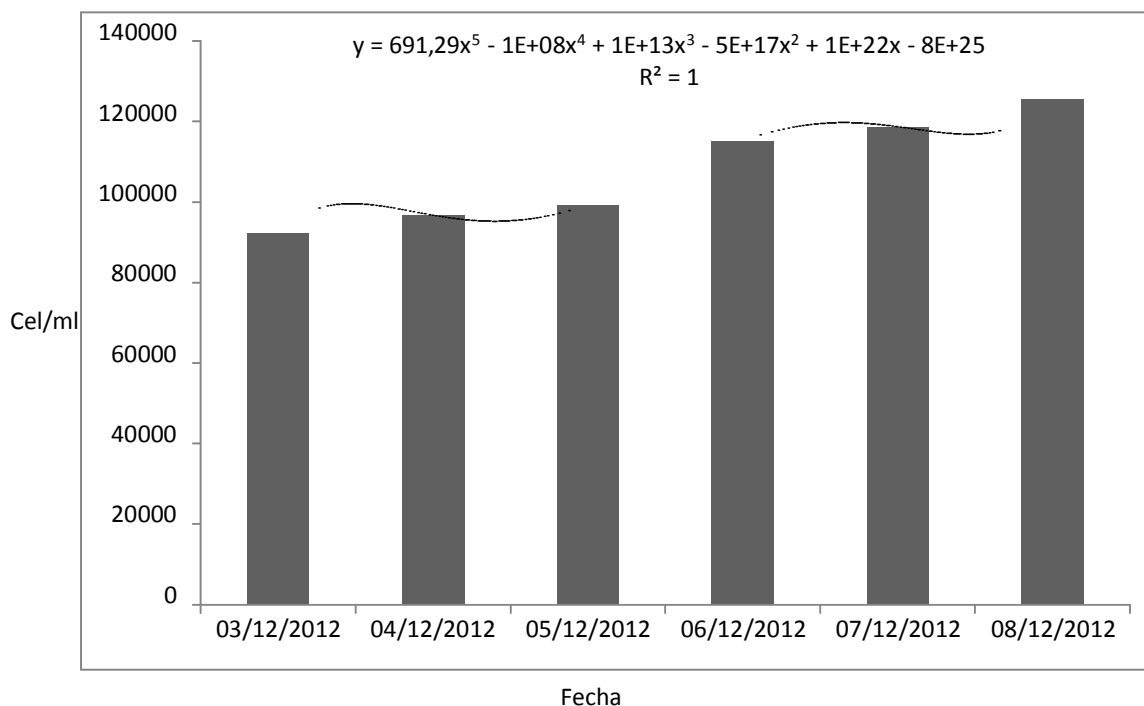
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
03/12/2012	35 ups	18,0	8,4	500ml	93000	46500000
04/12/2012	35 ups	18,3	8,6	500ml	97.870	48935000
05/12/2012	35 ups	18,3	8,8	500ml	106265	53132500
06/12/2012	35 ups	18,5	8,6	500ml	119635	59817500
07/12/2012	35 ups	18,4	8,8	500ml	126700	63350000
08/12/2012	35 ups	18,6	8,5	500ml	135270	67635000



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

### HOJA DE REPORTE

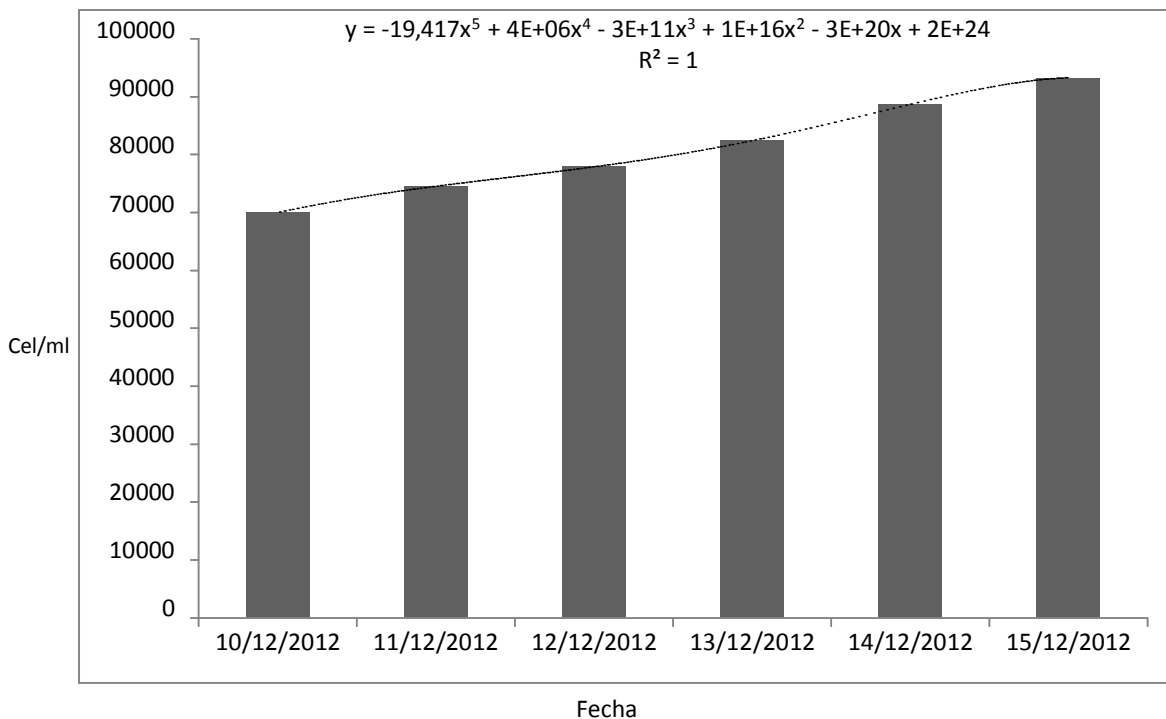
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
03/12/2012	35 ups	18,6	8,2	500ml	92300	46150000
04/12/2012	35 ups	18,4	8,3	500ml	96.735	48367500
05/12/2012	35 ups	18,5	8,4	500ml	99270	496359000
06/12/2012	35 ups	18,4	8,5	500ml	115220	57610000
07/12/2012	35 ups	18,2	8,0	500ml	118720	59360000
08/12/2012	35 ups	18,1	8,3	500ml	125680	62840000



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			

**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
10/12/2012	35 ups	18,4	8,5	250 ml	70000	17500000
11/12/2012	35 ups	18,4	8,5	250ml	74530	18632500
12/12/2012	35 ups	18,6	8,8	250ml	77890	19472500
13/12/2012	35 ups	18,7	8,7	250ml	82400	20600000
14/12/2012	35 ups	18,5	8,8	250ml	88670	21167500
15/12/2012	35 ups	18,5	8,6	250ml	93270	23317500

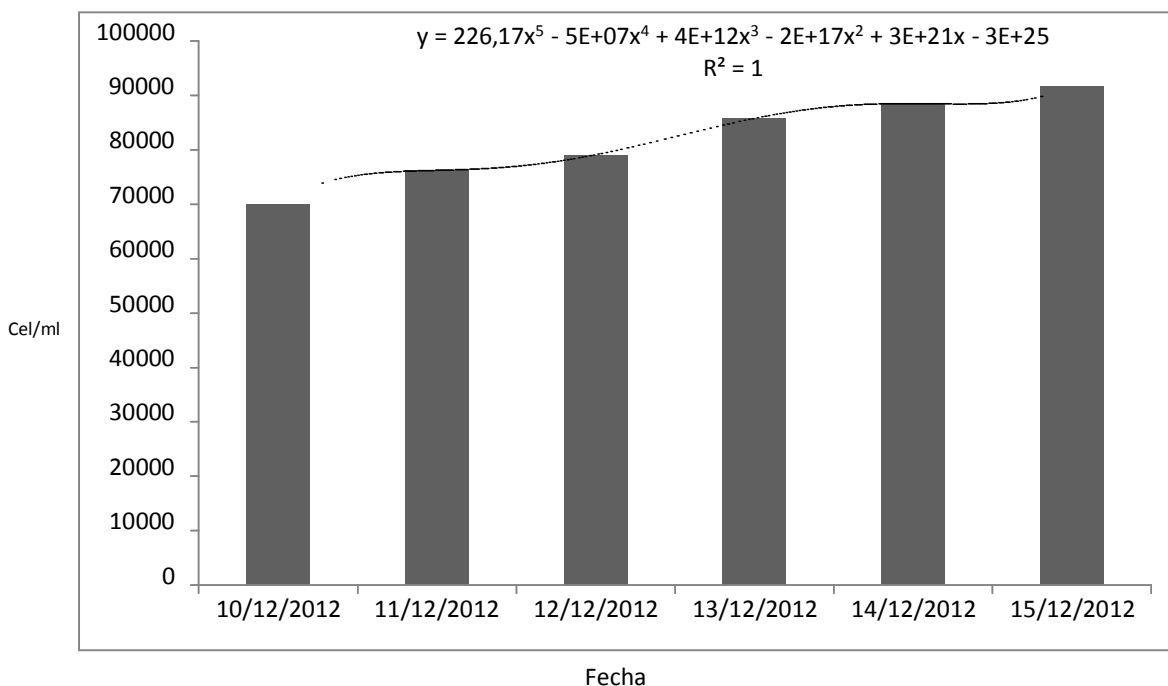





UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 2			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			

**HOJA DE REPORTE**

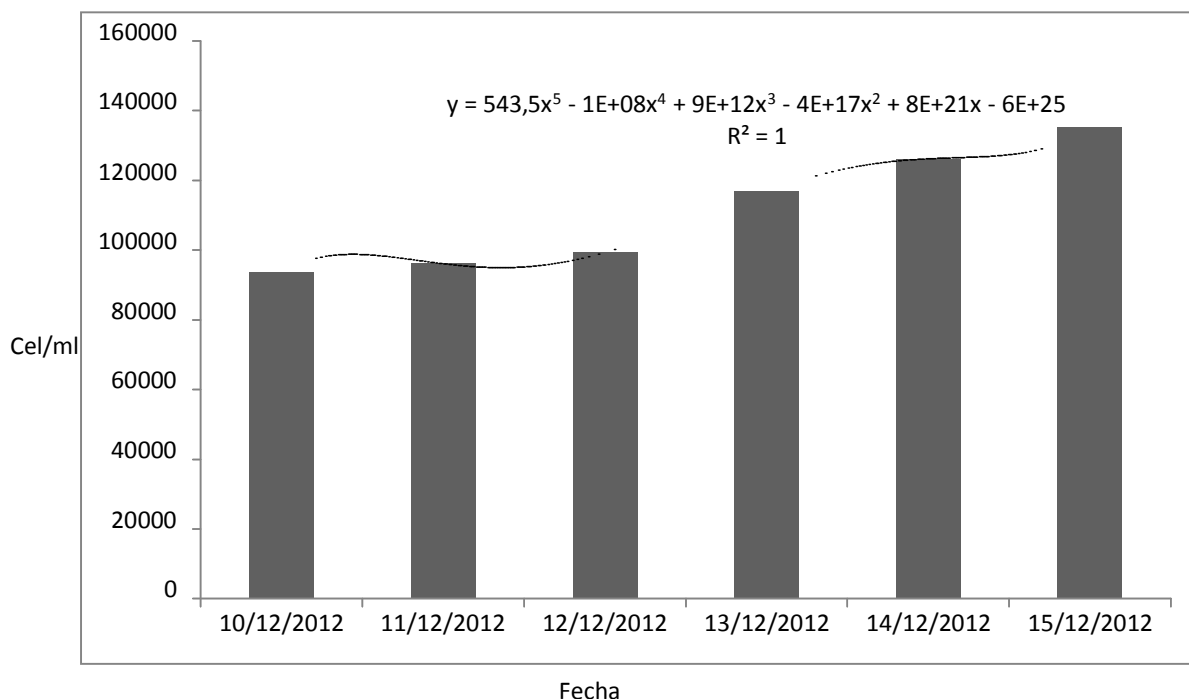
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
10/12/2012	35 ups	18,6	8,6	250 ml	70000	17500000
11/12/2012	35 ups	18,6	8,6	250ml	76230	19057500
12/12/2012	35 ups	18,5	8,8	250ml	79100	19775000
13/12/2012	35 ups	18,5	8,6	250ml	85770	21442500
14/12/2012	35 ups	18,8	8,8	250ml	88490	21122500
15/12/2012	35 ups	18,8	8,6	250ml	91740	22935000



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

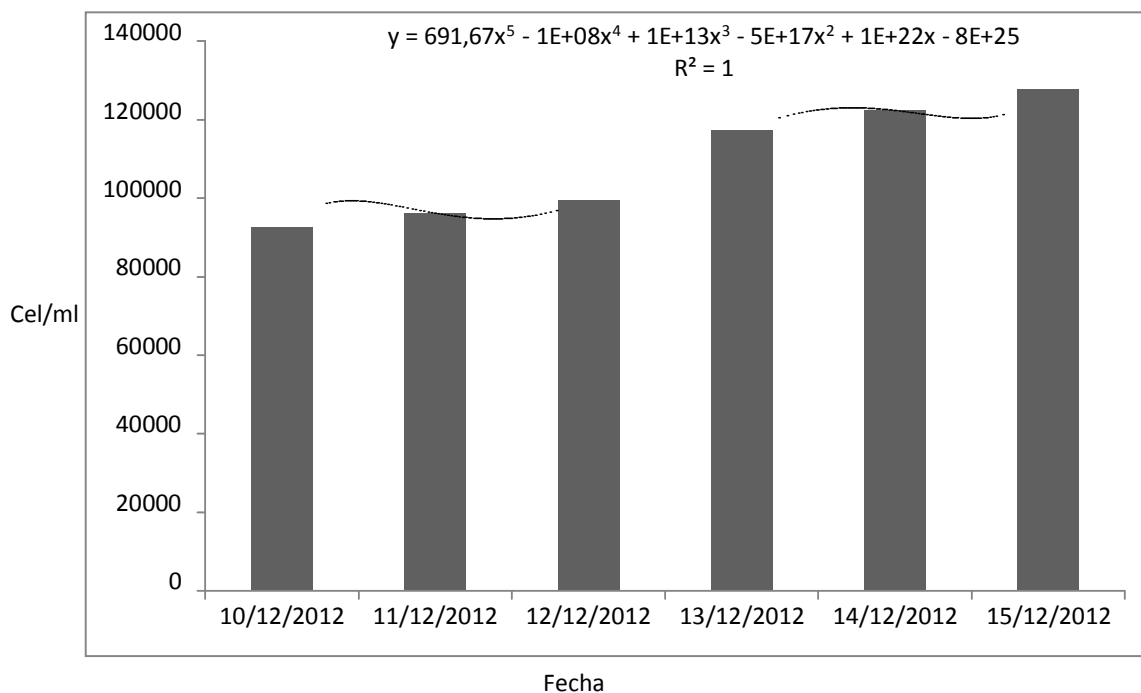
Fecha	Parametros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
10/12/2012	35 ups	18,6	8,7	500ml	93530	23382500
11/12/2012	35 ups	18,4	8,7	500ml	96100	24025000
12/12/2012	35 ups	18,3	8,8	500ml	99330	24832500
13/12/2012	35 ups	18,7	8,7	500ml	116730	29182500
14/12/2012	35 ups	18,5	8,5	500ml	126200	31550000
15/12/2012	35 ups	18,5	8,6	500ml	135250	33812500




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

**HOJA DE REPORTE**

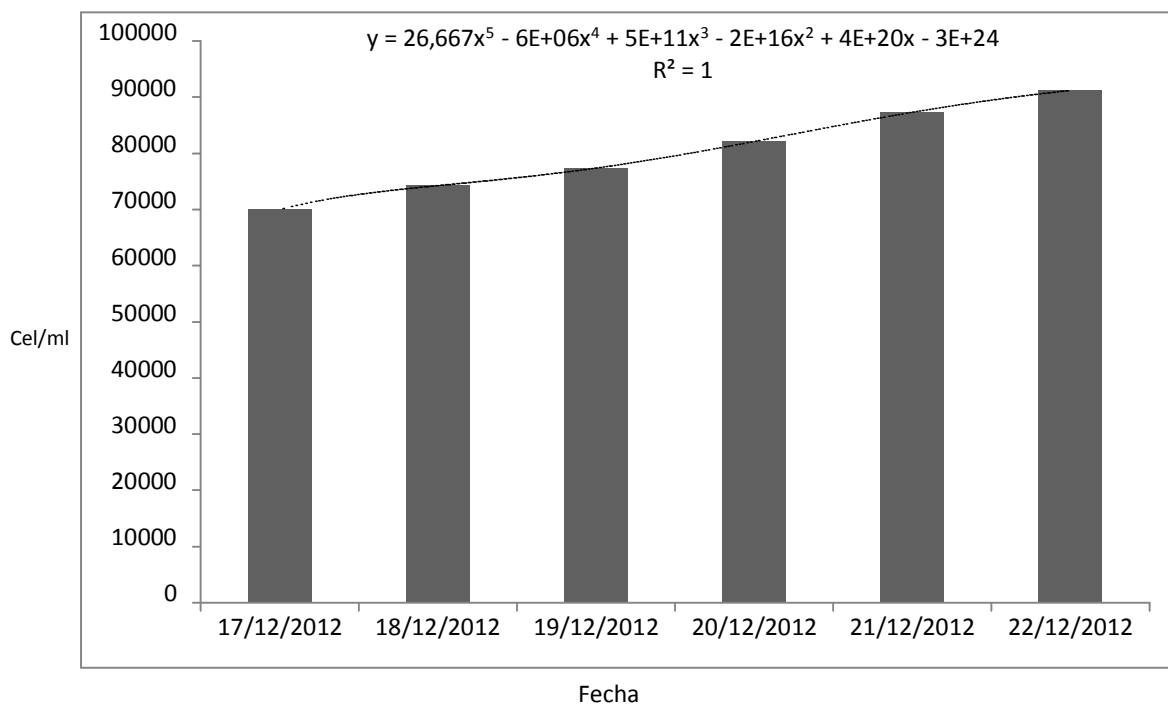
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
10/12/2012	35 ups	18,6	8,7	500ml	92500	46250000
11/12/2012	35 ups	18,7	8,7	500ml	96175	48087500
12/12/2012	35 ups	18,4	8,8	500ml	99345	49672500
13/12/2012	35 ups	18,7	8,5	500ml	117200	58600000
14/12/2012	35 ups	18,6	8,8	500ml	122315	61157500
15/12/2012	35 ups	18,6	8,5	500ml	127650	63825000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 1		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

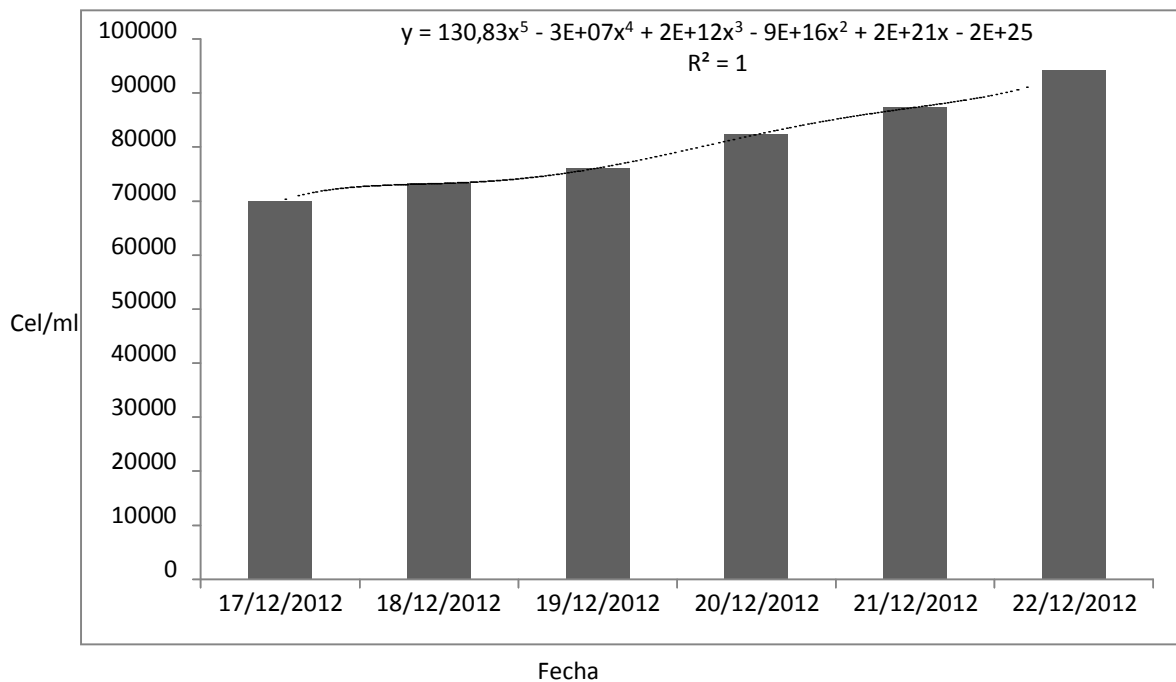
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
17/12/2012	35 ups	18,0	8,6	250 ml	70000	17500000
18/12/2012	35 ups	18,2	8,6	250ml	74250	18562500
19/12/2012	35 ups	18,1	8,8	250ml	77375	19343750
20/12/2012	35 ups	18,0	8,7	250ml	82100	20525000
21/12/2012	35 ups	18,4	8,5	250ml	87300	21825000
22/12/2012	35 ups	18,4	8,5	250ml	91200	22800000





<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	 Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

**HOJA DE REPORTE**

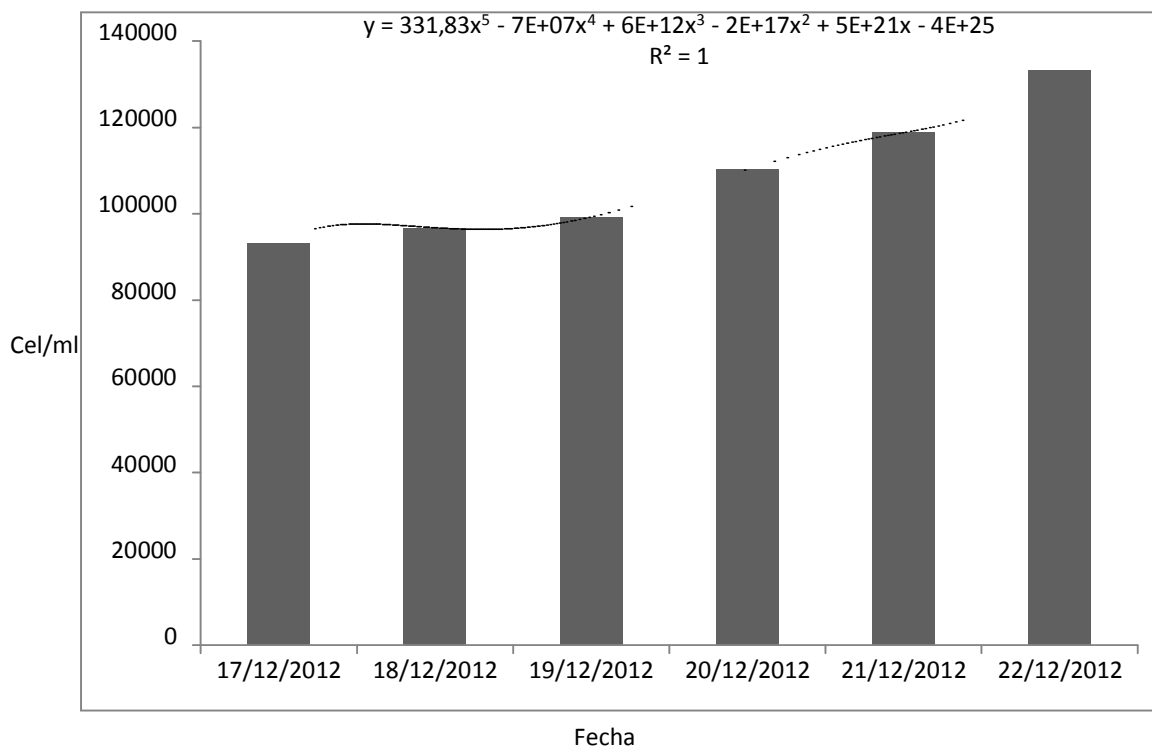
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
17/12/2012	35 ups	18,6	8,3	250 ml	70000	17500000
18/12/2012	35 ups	18,4	8,6	250ml	73240	18310000
19/12/2012	35 ups	18,4	8,8	250ml	76100	19025000
20/12/2012	35 ups	18,7	8,7	250ml	82300	20575000
21/12/2012	35 ups	18,6	8,5	250ml	87340	21835000
22/12/2012	35 ups	18,6	8,4	250ml	94200	23550000





UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

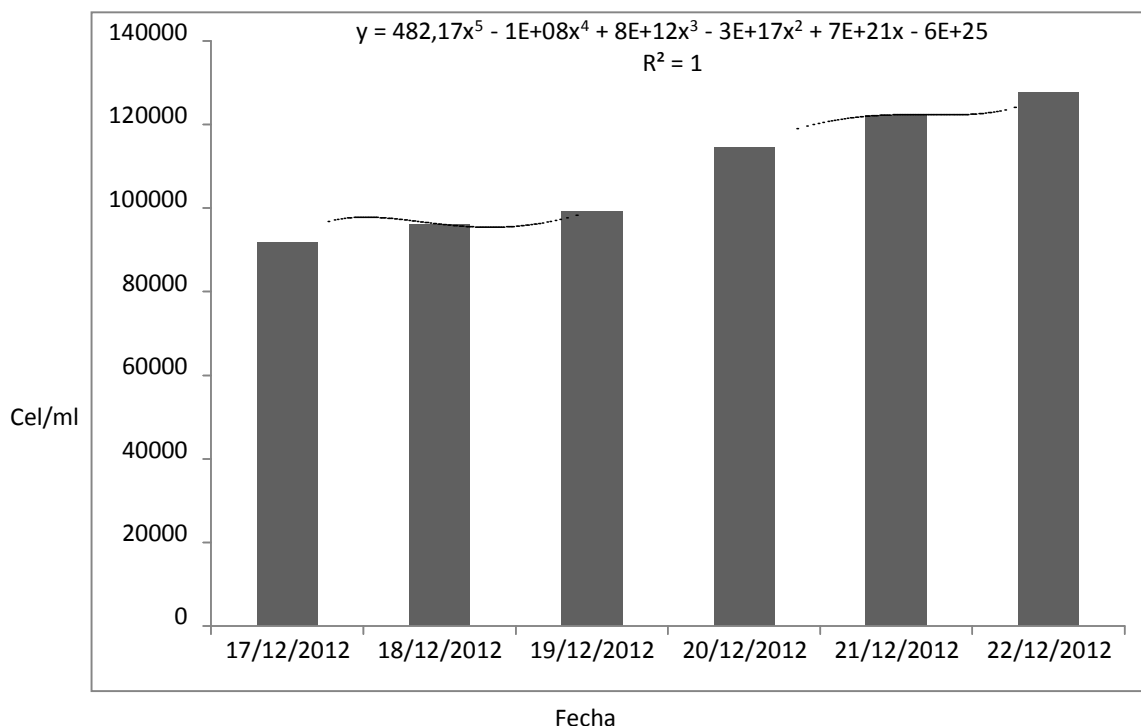
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
17/12/2012	35 ups	18,2	8,5	500ml	93270	46635000
18/12/2012	35 ups	18,3	8,3	500ml	96750	48375000
19/12/2012	35 ups	18,1	8,6	500ml	99230	49615000
20/12/2012	35 ups	18,5	8,7	500ml	110220	55110000
21/12/2012	35 ups	18,4	8,5	500ml	118760	59380000
22/12/2012	35 ups	18,4	8,3	500ml	133240	66620000



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 2		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

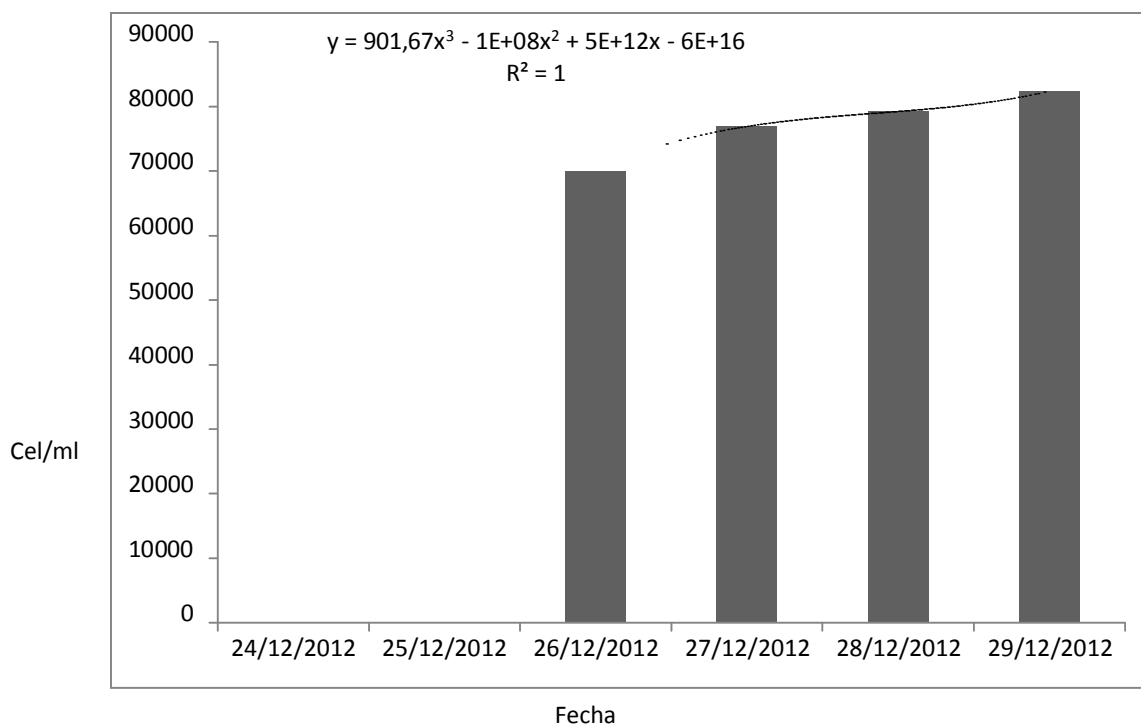
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
17/12/2012	35 ups	18,3	8,4	500ml	91740	45870000
18/12/2012	35 ups	18,2	8,4	500ml	96200	48100000
19/12/2012	35 ups	18,0	8,8	500ml	99350	49675000
20/12/2012	35 ups	18,5	8,5	500ml	114600	57300000
21/12/2012	35 ups	18,6	8,5	500ml	122340	61170000
22/12/2012	35 ups	18,6	8,4	500ml	127800	63900000




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	Especialidad: biología Pesquera
Fiola 1	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY      ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

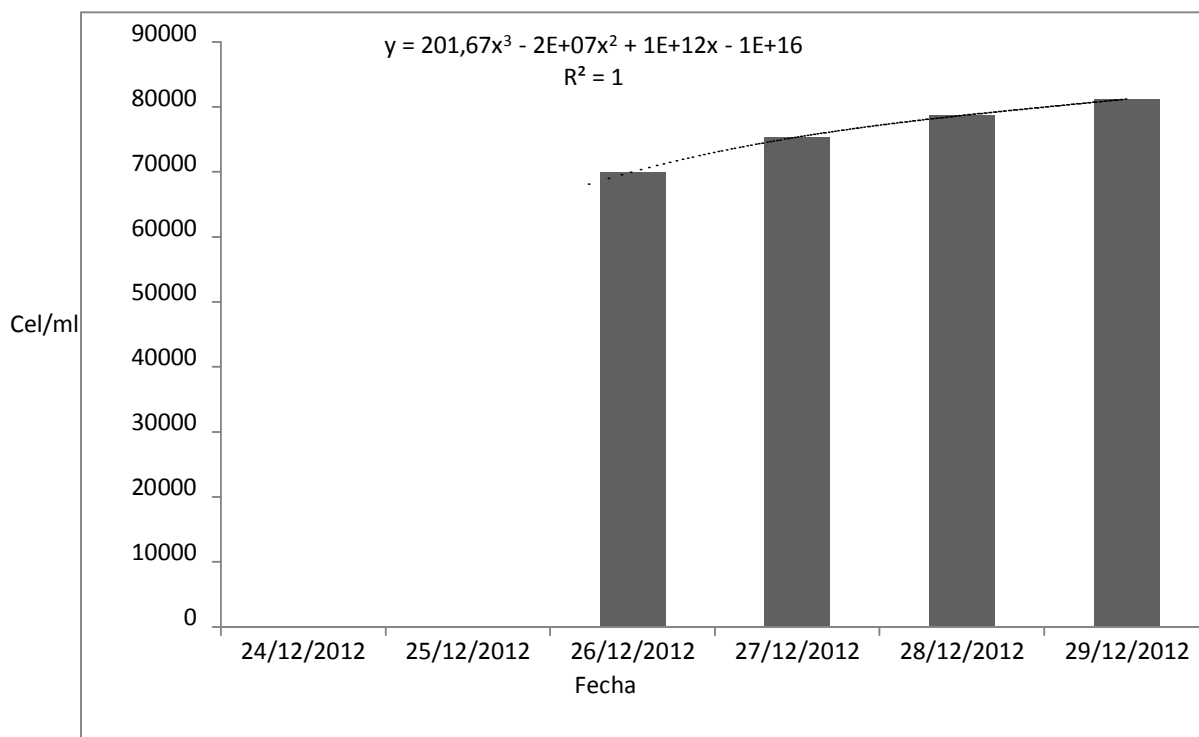
**HOJA DE REPORTE**



Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
24/12/2012						
25/12/2012						
26/12/2012	35 ups	18,1	8,8	250ml	70000	17500000
27/12/2012	35 ups	18,5	8,6	250ml	76890	19222500
28/12/2012	35 ups	18,2	8,4	250ml	79200	19800000
29/12/2012	35 ups	18,2	8,0	250ml	82340	20585000





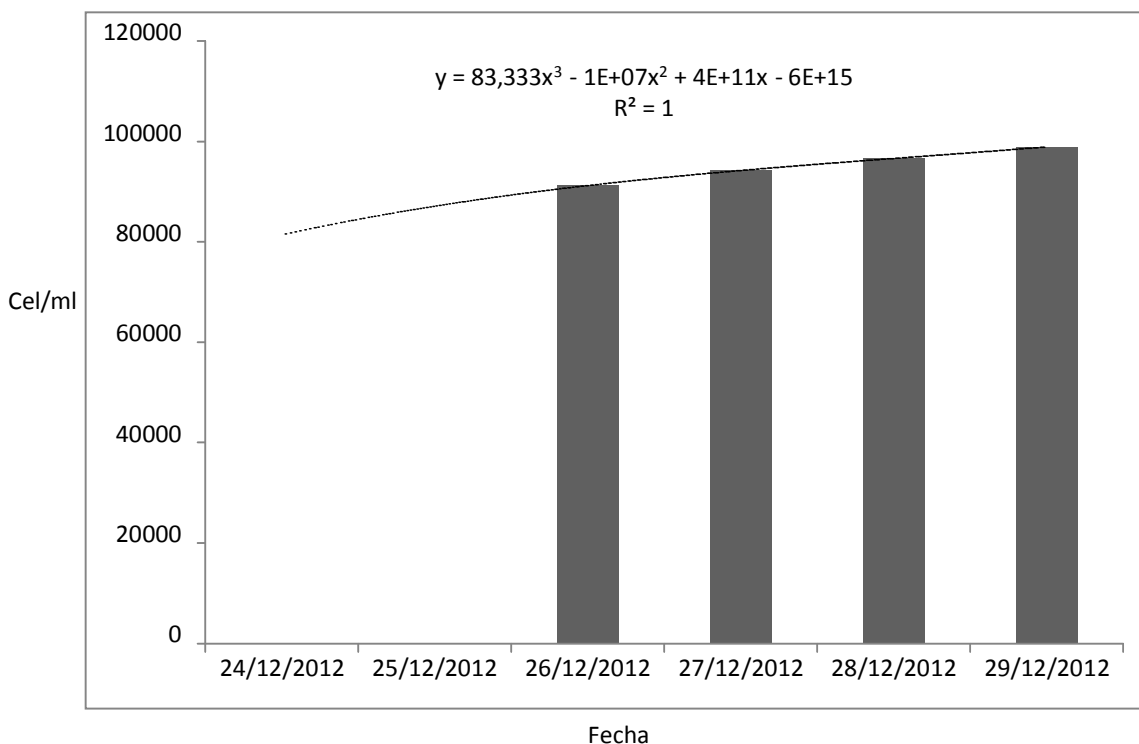
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar				Especialidad: biología Pesquera		
Fiola 2				Laboratorio de Plancton		
Especie: Clorofita				Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>		
Integrantes:		JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY		ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		
HOJA DE REPORTE						
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
24/12/2012						
25/12/2012						
26/12/2012	35 ups	18,1	8,5	250ml	70000	17500000
27/12/2012	35 ups	18,4	8,5	250ml	75340	18835000
28/12/2012	35 ups	18,0	8,3	250ml	78670	19667500
29/12/2012	35 ups	18,3	8,2	250ml	81200	20300000






UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI			
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera	
Fiola 1		Laboratorio de Plancton	
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>	
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

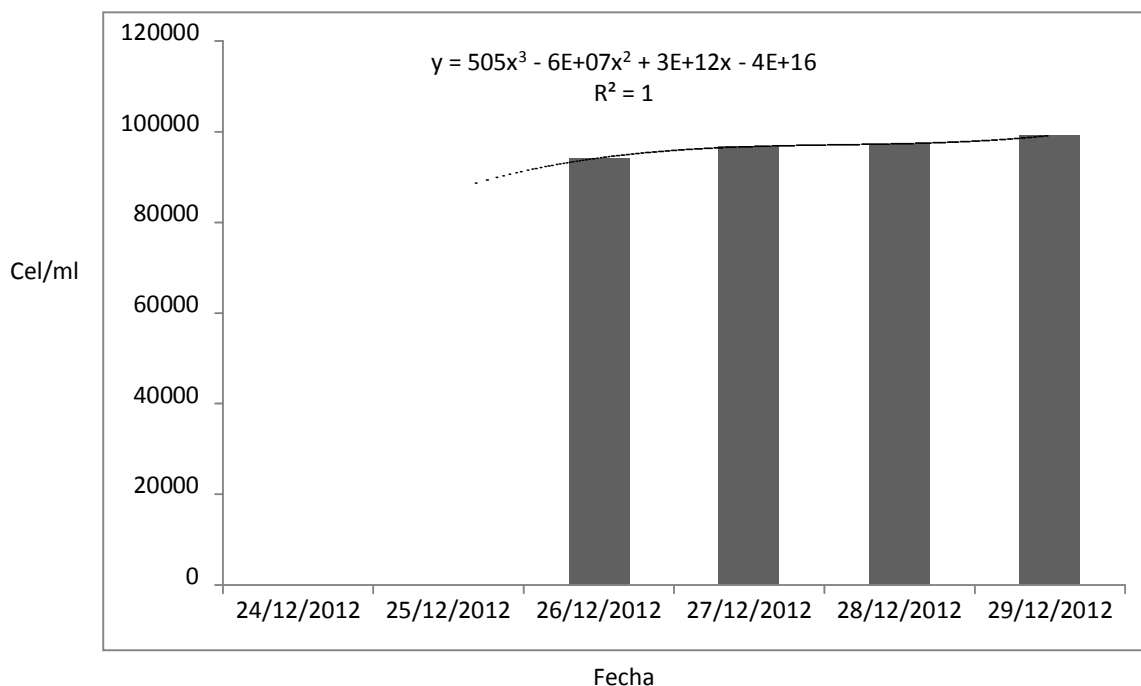
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
24/12/2012						
25/12/2012						
26/12/2012	35 ups	18,4	8,5	500ml	91200	45600000
27/12/2012	35 ups	18,4	8,5	500ml	94200	47100000
28/12/2012	35 ups	18,3	8,6	500ml	96600	48300000
29/12/2012	35 ups	18,5	8,2	500ml	98900	49450000




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2		Laboratorio de Plancton 
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i> 
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

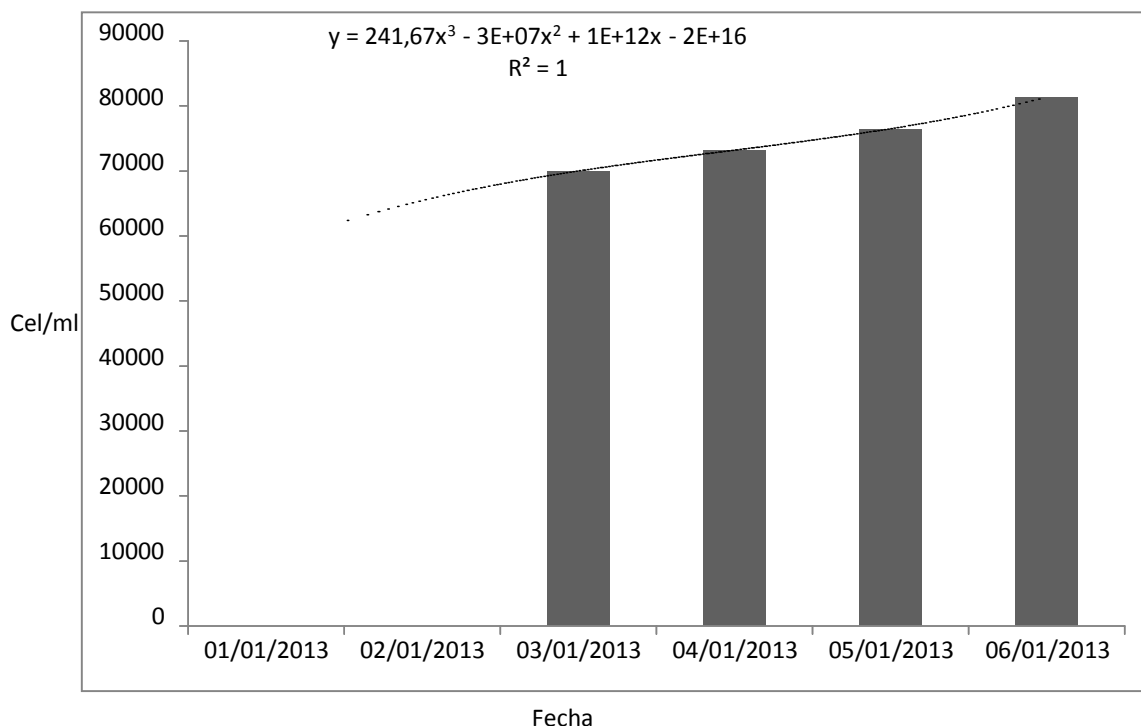
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
24/12/2012						
25/12/2012						
26/12/2012	35 ups	18,3	8,6	500ml	94200	47100000
27/12/2012	35 ups	18,5	8,5	500ml	96700	48350000
28/12/2012	35 ups	18,6	8,5	500ml	97340	48670000
29/12/2012	35 ups	18,6	8,3	500ml	99150	49575000




UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 1		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

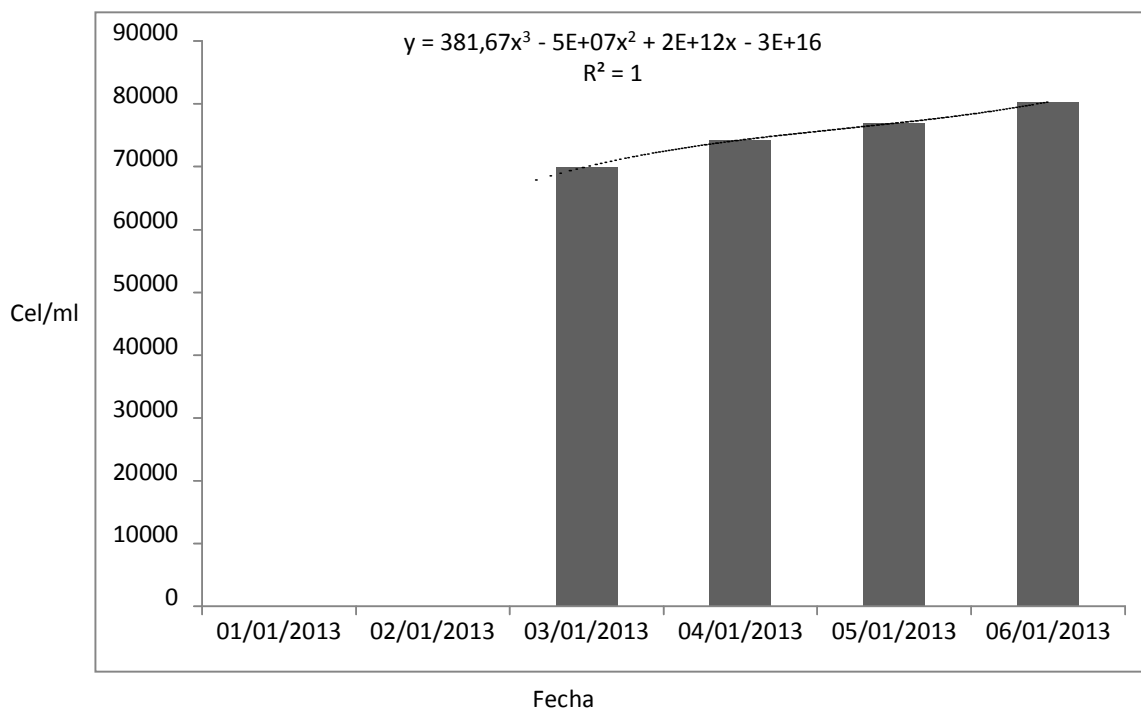
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
01/01/2013						
02/01/2013						
03/01/2013	35 ups	18,5	8,8	250ml	70000	17500000
04/01/2013	35 ups	18,6	8,7	250ml	73200	18300000
05/01/2013	35 ups	18,5	8,8	250ml	76500	19125000
06/01/2013	35 ups	18,2	8,5	250ml	81350	20337500



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI					
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera		
Fiola 2		Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>		
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY		ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON		

**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
01/01/2013						
02/01/2013						
03/01/2013	35 ups	18,4	8,8	250ml	70000	17500000
04/01/2013	35 ups	18,6	8,7	250ml	74230	18580000
05/01/2013	35 ups	18,5	8,5	250ml	76900	19225000
06/01/2013	35 ups	18,6	8,3	250ml	80300	20075000

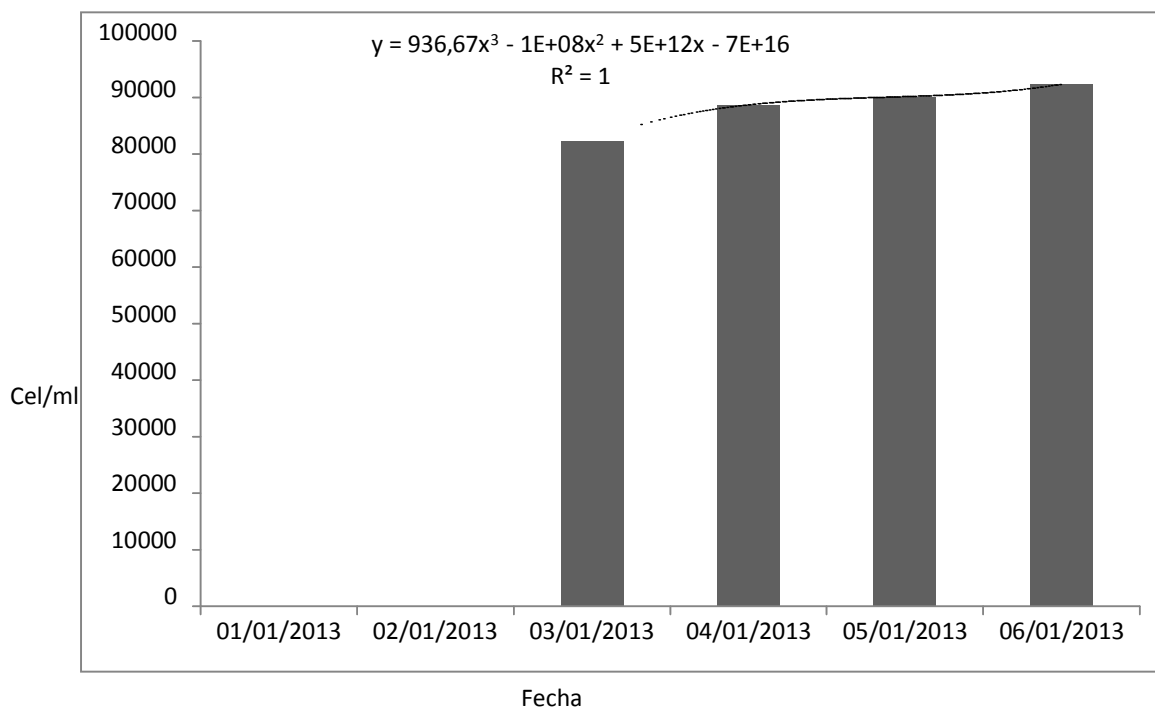


UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:		JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY      ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON				



### HOJA DE REPORTE

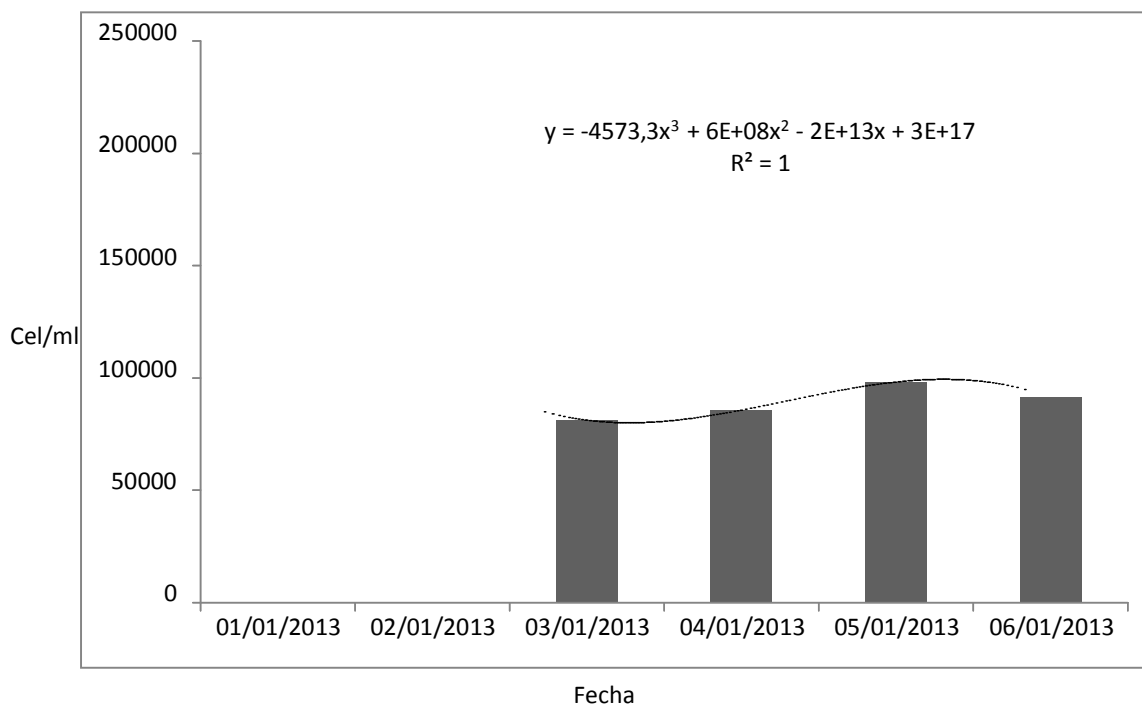
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
01/01/2013						
02/01/2013						
03/01/2013	35 ups	18,4	8,8	500ml	82340	41170000
04/01/2013	35 ups	18,6	8,6	500ml	88700	44350000
05/01/2013	35 ups	18,5	8,6	500ml	90160	45080000
06/01/2013	35 ups	18,3	8,4	500ml	92340	46170000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

**HOJA DE REPORTE**

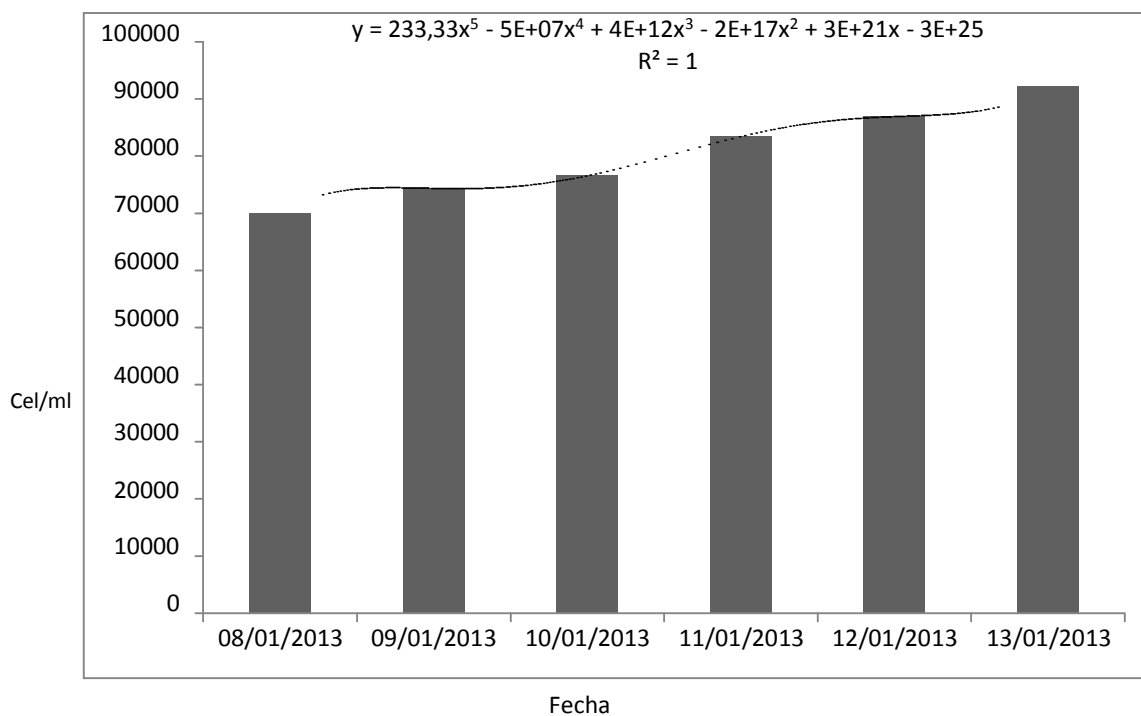
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
01/01/2013						
02/01/2013						
03/01/2013	35 ups	18,6	8,8	500ml	81200	40600000
04/01/2013	35 ups	18,6	8,6	500ml	85700	42850000
05/01/2013	35 ups	18,5	8,8	500ml	98200	49100000
06/01/2013	35 ups	18,4	8,5	500ml	91260	45630000




<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 1	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY      ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
08/01/2013	35 ups	18,6	8,5	250 ml	70000	17500000
09/01/2012	35 ups	18,3	8,4	250ml	74650	18662500
10/01/2013	35 ups	18,1	8,8	250ml	77540	19385000
11/01/2013	35 ups	18,7	8,7	250ml	82100	20525000
12/01/2013	35 ups	18,6	8,8	250ml	88540	22135000
13/01/2013	35 ups	18,3	8,6	250ml	93170	23292500

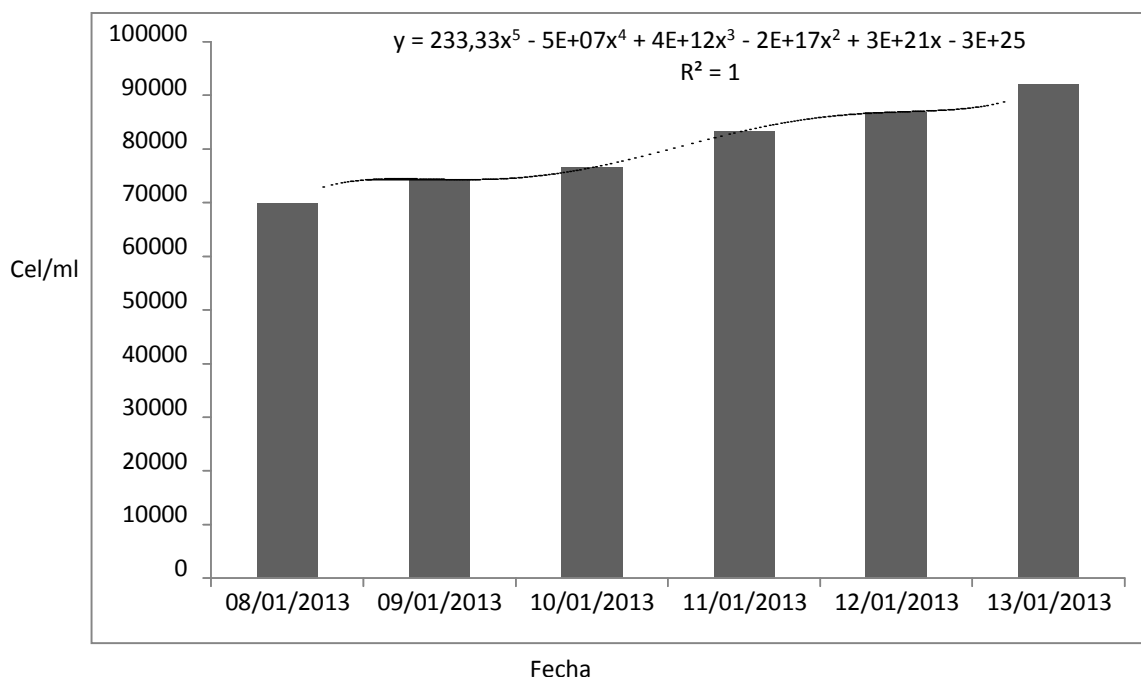




UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI		
Facultad: Ciencias del Mar		Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2		Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita		Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON	

**HOJA DE REPORTE**

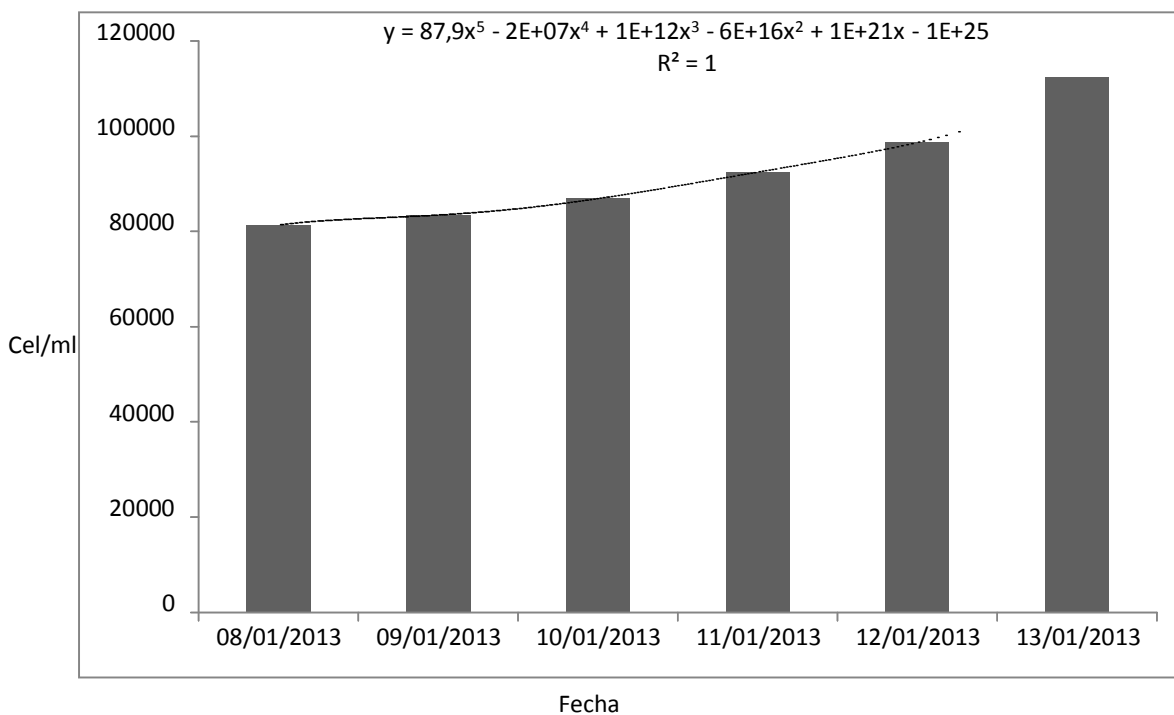
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
08/01/2013	35 ups	18,6	8,6	250 ml	70000	17500000
09/01/2012	35 ups	18,4	8,6	250ml	74350	18587500
10/01/2013	35 ups	18,3	8,6	250ml	76540	19135000
11/01/2013	35 ups	18,4	7,7	250ml	83400	20850000
12/01/2013	35 ups	18,4	8,7	250ml	86900	21725000
13/01/2013	35 ups	18,5	8,6	250ml	92150	23037500



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI						
Facultad: Ciencias del Mar			Especialidad: Biología Pesquera			
Fiola 1			Laboratorio de Plancton			
Especie: Clorofita			Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>			
Integrantes:			JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON			

**HOJA DE REPORTE**

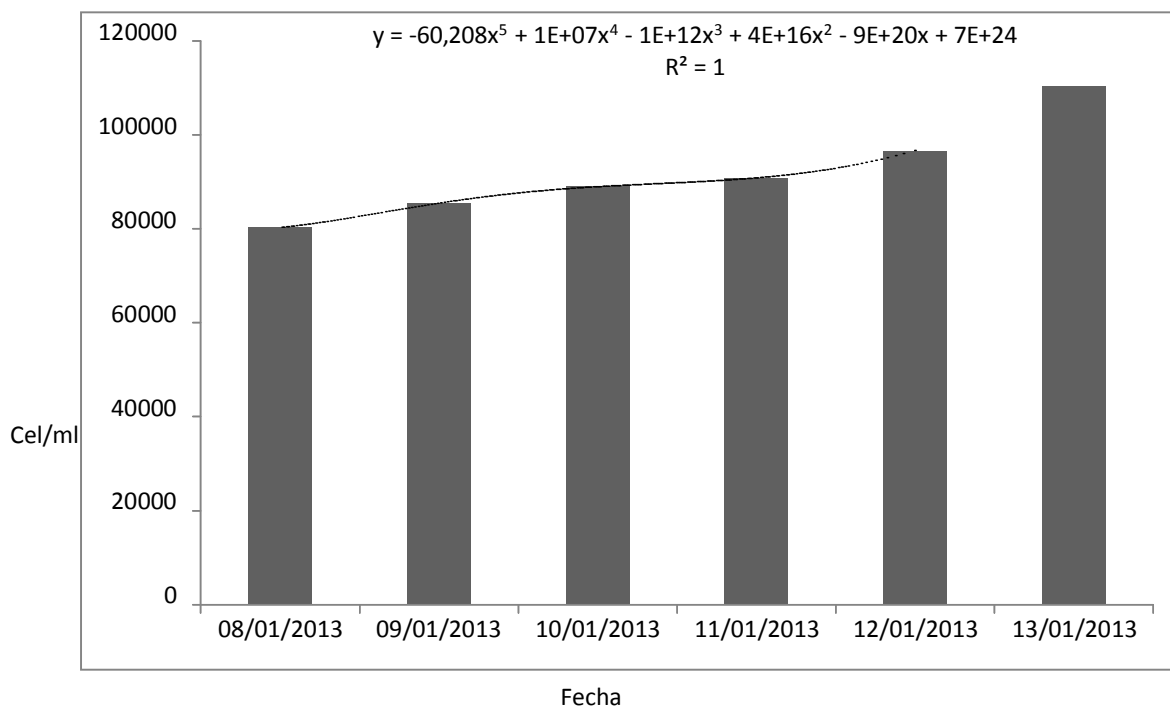
Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
08/01/2013	35 ups	18,5	8,5	500ml	81350	40675000
09/01/2012	35 ups	18,6	8,5	500ml	83450	41725000
10/01/2013	35 ups	18,5	8,6	500ml	86900	43450000
11/01/2013	35 ups	18,7	8,8	500ml	92456	46228000
12/01/2013	35 ups	18,6	8,8	500ml	98678	49339000
13/01/2013	35 ups	18,4	8,6	500ml	112478	56239000



<b>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI</b>	
Facultad: Ciencias del Mar	Especialidad: Biología Pesquera
Fiola 2	Laboratorio de Plancton
Especie: Clorofita	Nombre Científico: <i>Tetraselmis chuii</i>
Integrantes:	JENNIFER ELIZABETH ACOSTA PINCAY    ROQUE ALBERTO MOREIRA ANTON

**HOJA DE REPORTE**

Fecha	Parámetros Abióticos			Volumen de agua	Población	
	Salinidad	T °C	pH		cel/ml	Densidad Total
08/01/2013	35 ups	18,6	8,7	500ml	80300	40150000
09/01/2012	35 ups	18,7	8,7	500ml	85467	42733500
10/01/2013	35 ups	18,5	8,8	500ml	88976	44488000
11/01/2013	35 ups	18,7	8,7	500ml	90856	45428000
12/01/2013	35 ups	18,6	8,8	500ml	96678	48339000
13/01/2013	35 ups	18,3	8,6	500ml	110330	55165000



## 5.2 ANALISIS ESTADISTICO

De la semana del 08/10/2012 se comenzaron los cultivos con una densidad poblacional de 70.000 cel/ml, para fiolas de 250ml con una densidad final media de 65.340 para la fertilización del medio se pesaron 10 gr del Fertilizante orgánico sólido, este se lo disolvió en 500ml de agua previamente destilada. Esta cantidad de fertilizante se la llevó al agitador magnético en donde se la procedió a disolver, para luego utilizarla en relación 1:1 desde la semana del 08/10/2012 hasta la semana del 27/10/2012 se obtuve un crecimiento muy por debajo de lo estimado, se consideró esto debido a que no se tamizaba el fertilizante se lo incorporaba directamente para verificar su efecto dentro del cultivo, sin embargo este incidió en el crecimiento de bacterias y protozoarios, lo que provoco que el cultivo bajara un su producción algal.

Desde la semana del 29/10/2012 se comenzó a tamizar el fertilizante por medio de papel filtro, separando las partículas más grandes (medio solido) del líquido, consiguiendo así un mejor efecto al fertilizar el medio de cultivo. Desde esta fecha hasta el final del cultivo hubo un crecimiento más representativo, pero similar al que se tiene al utilizar fertilizante químicamente puro, lo que provoco un aumento del número de cel/ml.

Los cultivos concluyeron el 13/01/2013 con una densidad poblacional inicial para fiolas 250 de 70.000cel/ml y final media de 92.660 y para fiolas de 500ml inicial media de 80.825 y final media de 111.404 cel/ml

### 5.3 CONCLUSIONES

- Los fertilizantes orgánicos por tener un alto contenido en fosforo, hierro y aminoácido son fuente potencial para el cultivo potencial de tetraselmis, sin embargo se necesitan más investigaciones al respecto.
- La Temperatura se mantuvo en un promedio de 18,5 18,7 valores determinante en el cultivo de estas especies.
- El potencial Hidrogeno se mantuvo en un promedio de 8,5 8,6 valores óptimos dentro del desarrollo de estas especies.
- En cultivos axénicos de microalga tetraselmis chuii los fertilizantes orgánicos no contienen todos los macro-micro nutrientes requerido, en un sistema de cultivo controlado como la que se usa de manera estándar por ejemplo Guillard f/2

#### **5.4 RECOMENDACIONES**

- La adquisición de bióxido de carbono ( CO<sub>2</sub>) en la facultad para realizar y mejorar éste tipo de cultivo.
- Considerar el fotoperiodo durante el desarrollo del cultivo.
- Probar fertilizantes orgánicos con otras especies de microalgas, para realizar estudios comparativos en su crecimiento.
- Socializar este tema con los estudiantes de la Facultad, para que estos tomen en cuenta la importancia de los fertilizantes orgánico como medio para el desarrollo de especies acuáticas.

## 5.6 BIBLIOGRAFÍA

Abalde A. & Cid A. & Fidalgo P. & Torres E. & Herrero C. 1995. Microalgas: Cultivos y Aplicaciones. Universidad de Da Coruña. 1- 210.

Alfonso, E., Martínez, L. (1988), Medio de cultivo para microalgas marinas. Rev. Invest. Mar. 9: 39 - 46.

Annabel Mireya González Reyes ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. ALTERNATIVAS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS GUAYAQUIL – ECUADOR 2000.

Arredondo, V., Voltolina, D. (2007), Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. pp. 21-24, En: Manual de métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Manual de Prácticas, La Paz, Baja California Sur, México, 25 pp.

Casco, C., Iglesias, M.C. (2005), Producción de biofertilizantes líquidos a base de lombri-compuesto. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Resumen, A-063, 4 pp.

García, P., Jiménez, A. (1990), Evaluación de una mezcla de fertilizantes agrícolas inorgánicos para su utilización en el cultivo masivo de *Isochrysis galbana* Tahitiana, Green (Clon T-ISO). Resúmenes del VIII Congreso Nacional de Oceanografía, 57 pp.

González, B. (1999), Evaluación de medios nutritivos para el crecimiento de tres microalgas marinas de uso común en acuicultura. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Tomo LIX, No. 151, pp: 5 -10, enero/junio, 1999. Universidad del Zulia, Venezuela.

Jaime-Ceballos, B., Galindo-López, J., Nodar-Pérez. R. (2007), Efecto de la fertilización orgánica e inorgánica sobre el comportamiento del fitoplancton en la estación acuícola de Boca Ambuila (Cuba). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 8 (7): 1-6 pp.

Leal, S., Bonaechea, I. (1994), Concentración óptima de nutrientes de tres especies de microalgas marinas en cultivo. Rev. Invest. Mar. 15 (1): 73 – 79.

Paniagua J. & Granados M. et al. 1989. Manual de Metodología y Alternativas para el Cultivo de Microalgas. Cicese. Baja California México. 1-60.

D<sup>a</sup>. Ruth Gabriela Ulloa Mercado para optar al grado de Doctora por la Universidad de Santiago de Compostela Santiago de Compostela, 2011 Inducción de Productos Bioactivos en la Microalga Marina *Tetraselmis suecica*.

Nieves, M., Vega, P. (1994), Tasa de crecimiento, biomasa y costo de producción de *Tetraselmis suecica* (Chlorophyceae) y *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae), cultivadas con el medio f y tres medios alternativos. Rev. Ciencias del Mar, UAS, Época I, 13: 39 – 53.

Trujillo, V. M. 1997. Manual de Técnicas de Aislamiento de cepas de microalgas. Informe Técnico. Comunicaciones Académicas, Serie Acuicultura, 29. CTA9701.

Velasco, M. 1995. Manual de Cultivo de Fitoplancton, Guayaquil-Ecuador, 1-45.

## **WEBGRAFIA**

<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S02.htm>

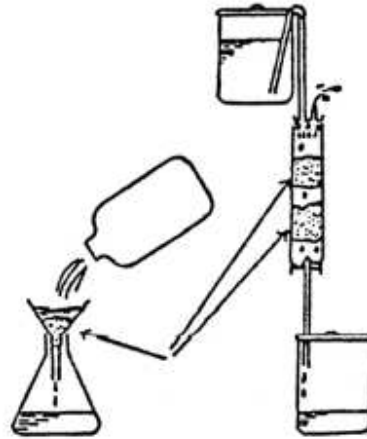
[http://www.aulados.net/Botanica/Curso\\_Botanica/Algas\\_verdes/9\\_Chlorophyta\\_texto.pdf](http://www.aulados.net/Botanica/Curso_Botanica/Algas_verdes/9_Chlorophyta_texto.pdf)

<http://es.scribd.com/doc/60935196/Planta-piloto-de-cultivo-de-microalgas>

Mar alga <http://www.mgar.net/mar/algas2.htm>

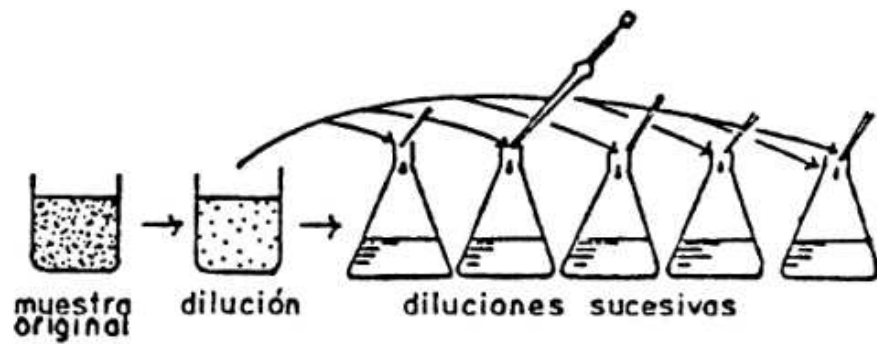


## 5.7 ANEXOS



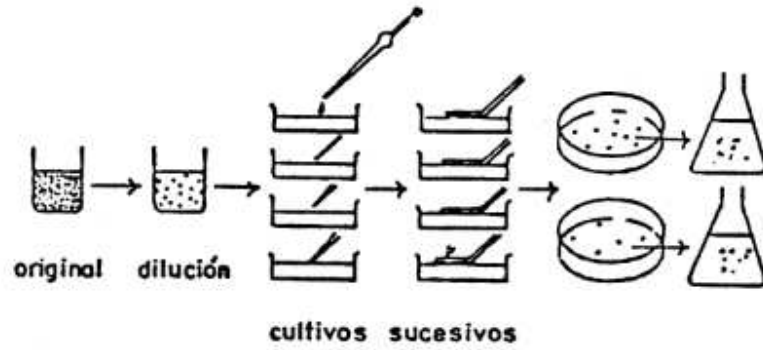
Método de filtración a través de una columna empacada con algodón.

### Anexo1.



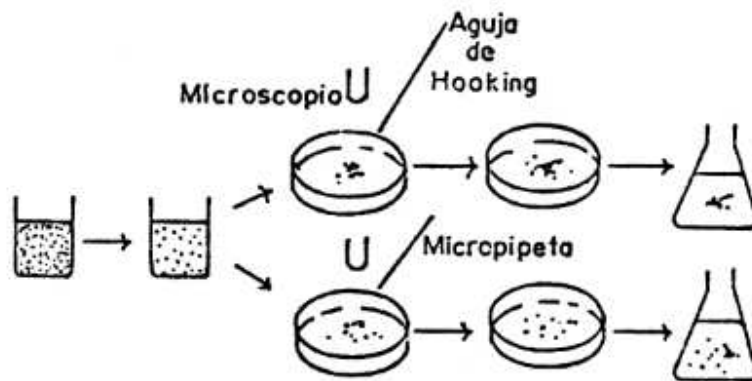
Aislamiento y purificación de microalgas por el método de diluciones sucesivas y subcultivos repetidos.

### Anexo2.



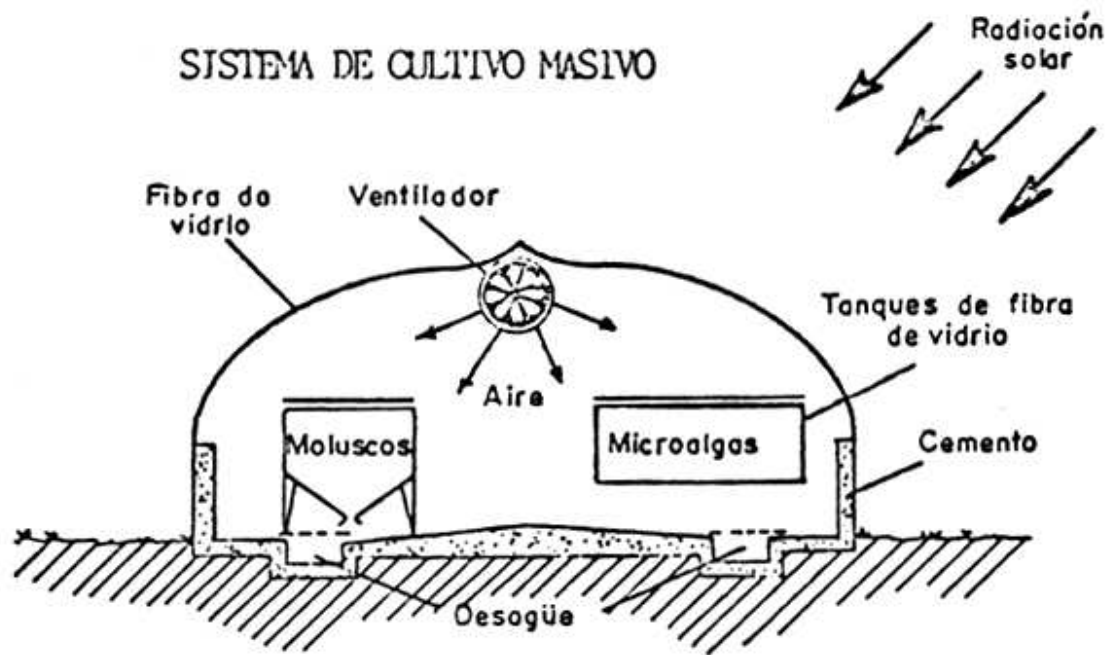
Método de aislamiento y purificación de microalgas en placa de agar.

### Anexo3.

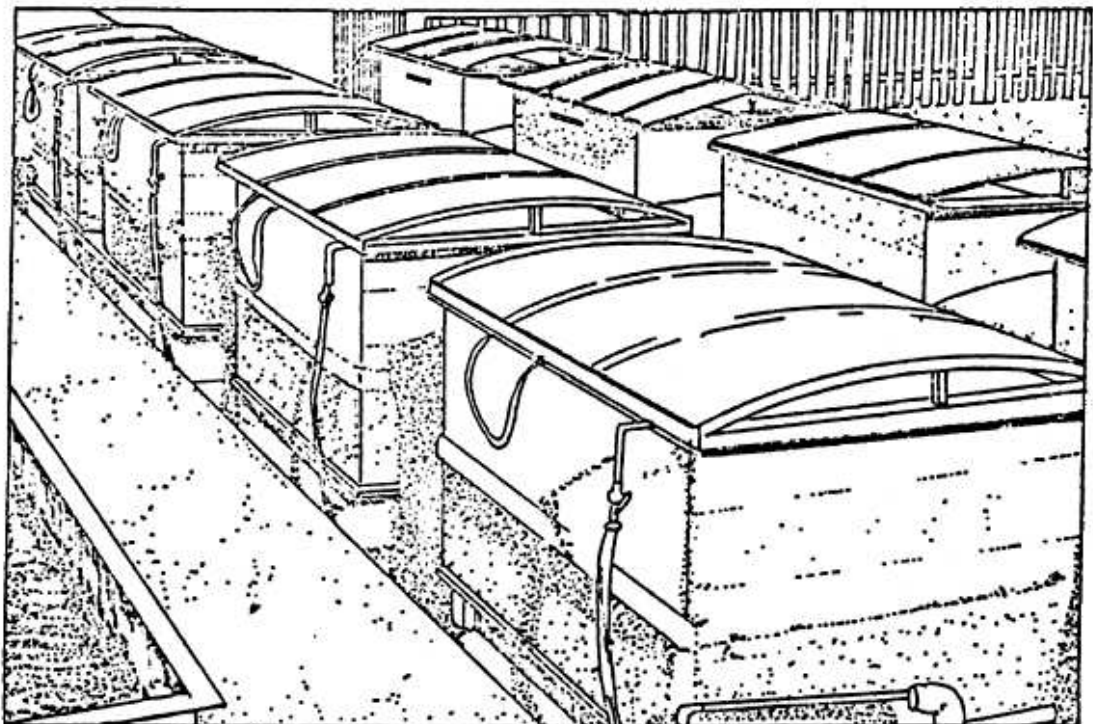


Aislamiento mediante micropipeta y el uso de microscopio.

### Anexo4.



**Anexo 5.**



**Anexo 6.**



**Anexo 7. Cultivo de microalgas *Tetraselmis chuii***



**Anexo 8. Materiales utilizados en el cultivo de microalgas *Tetraselmis chuii***





**Anexo 9. Sistema de calibración de balanza en el laboratorio**



**Anexo 11. Preparación de fertilizante para el cultivo.**



**Anexo 12. Peso del fertilizante orgánico en el laboratorio**



**Anexo 13. Peso del fertilizante orgánico**





**Anexo 14. Fertilizante orgánico medio líquido**



**Anexo 15. Microalga Tetraselmis chuii fertilización**



**Anexo 16. Preparación del fertilizante orgánico, preparación agua destilada**



**Anexo 17. Método de filtración del fertilizante orgánico**

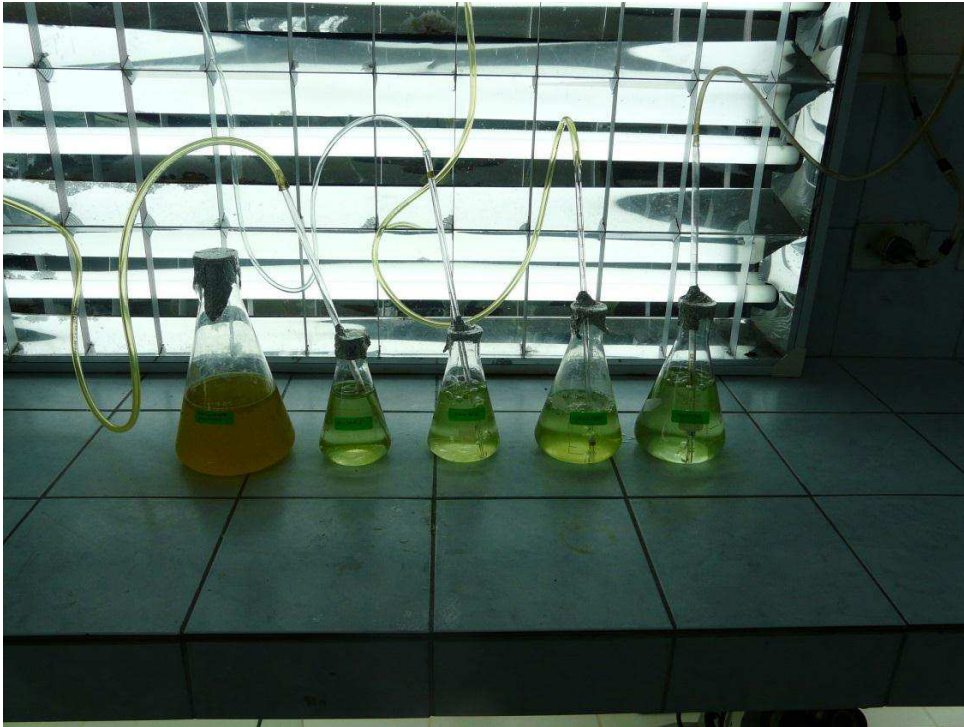




**Anexo 18. Método de filtración del fertilizante**



**Anexo 19. Preparación del fertilizante orgánico**



**Anexo 20. Cultivo de microalgas con fertilizante orgánico sólido.**



**Anexo 21. Toma de parámetros dentro del cultivo**





**Anexo 22. Conteo al microscopio con la cámara de Neubauerg cel/ml  
Tetraselmis chuii**



**Anexo 23. Conteo al microscopio con la cámara de Neubauerg cel/ml  
Tetraselmis chuii**