

## Alternativa de biofertilizante como medio de cultivo para el crecimiento poblacional de dos microalgas marinas empleadas en la camaronicultura

### Alternative bio-fertilizer as culture medium for the population growth of two marine microalgae used in shrimp farming

Missael Guerra Aznay,<sup>1</sup> Lourdes Pérez Jar,<sup>1</sup> Sylvia Leal Lorenzo,<sup>2</sup> Bárbarito Jaime Ceballos,<sup>1</sup> Redney Jiménez Cabrera,<sup>1</sup> Sunney Pérez Díaz<sup>1</sup> y Jorge Bobadilla González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Pesqueras. Ave. 5ta. y calle 246, Santa Fe, Playa, La Habana, Cuba, CP 19100, Teléfono: (537) 209-7852, E-mail:geneticacip@cip.telemar.cu

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Marinas. Calle 16 No. 114 entre 1ra. y 3ra., Miramar, La Habana, Cuba, CP 11300

#### RESUMEN

Con el propósito de evaluar el humus de lombriz roja californiana *Eisenia foetida* como biofertilizante para el crecimiento poblacional de dos microalgas marinas, fueron cultivadas *Tetraselmis tetraphyle* y *Chaetoceros muelleri* en agua de mar enriquecida con cuatro diluciones (50; 200; 350 y 500 mL) de extracto líquido de humus. La especie *T. tetraphyle*, cultivada en la dilución de 200 mL, no mostró diferencias con el patrón medio f/2 Guillard para los parámetros: concentración celular, velocidad de crecimiento, tiempo de duplicación y productividad. *C. muelleri* cultivado en el mismo biofertilizante a las diluciones antes descritas, mostró un comportamiento productivo inferior al patrón, por lo que fueron evaluadas dos nuevas diluciones (550 y 650 mL). Las concentraciones celulares alcanzadas con 550 y 650 mL del fertilizante orgánico y el patrón, no mostraron diferencias ( $p > 0,05$ ) hasta el tercer día del cultivo, sin embargo, al evaluar el indicador productividad se obtuvieron los mejores valores con 550 mL del extracto líquido de humus. Por los resultados obtenidos en este estudio con el biofertilizante y su bajo costo de producción se concluyó que resulta una alternativa viable para la producción de las microalgas *C. muelleri* y *T. tetraphyle* hasta volúmenes de 2 L.

*Palabras clave:* humus, biofertilizante, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis tetraphyle*.

#### ABSTRACT

To evaluate the humus of red worm californian *Eisenia foetida* were cultured microalgae *Tetraselmis tetraphyle* and *Chaetoceros muelleri* in seawater enriched with four dilutions (50; 200; 350 and 500 mL) of liquid extract of humus of red worm californian *Eisenia foetida*. The *T. tetraphyle* specie, grown at a dilution of 200 mL, showed no differences with the standard f/2 Guillard for the parameters: cell concentration, growth rate, doubling time and productivity. *C. muelleri* grown in the same biofertilizer to dilutions as described above, showed a lower productive performance pattern, so that two further dilutions were evaluated (550 and 650 mL). The cell concentrations reached with 550 and 650 mL of organic fertilizer and the pattern did not differ ( $p > 0,05$ ) until the third day of culture, however, in assessing the productivity indicator the best values were obtained with 550 mL of liquid extract humus. From the results obtained in this study with the alternative means and low cost of production is concluded that it is a viable alternative for the production of microalgae *C. muelleri* and *T. tetraphyle* up to volumes of 2 L.

*Keywords:* humus, biofertilizer, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis tetraphyle*.

#### INTRODUCCIÓN

Las microalgas son importantes en la acuicultura, ya que constituyen el primer alimento para las fases tempranas de desarrollo de casi todos los organismos cultivados,

principalmente moluscos, peces y crustáceos, así como para algunas especies intermedias como son copépodos, rotíferos y artemias, siendo altamente nutritivas y fáciles de ingerir debido al tamaño que poseen (Ritar *et al.*, 2004).

Dos de las especies de microalgas más comúnmente utilizadas en el maricultivo son *Chaetoceros* sp. y

*Tetraselmis* sp. por su excelente aceptación y elevado contenido proteico y de ácidos grasos poliinsaturados (Brown, 1991; Piña *et al.*, 2006), con las cuales a su vez, se han obtenido altas tasas de sobrevivencia en las larvas de camarón (Valenzuela *et al.*, 1999; Pacheco-Vega, 2003; López-Elías, *et al.*, 2005). Por este motivo, en todos los laboratorios productores de larvas de camarón se encuentra una sección especial, diseñada y operada con el fin exclusivo de producir una o varias especies de microalgas a nivel masivo. El mantenimiento de estas instalaciones unido al empleo de variantes del medio f/2 (Guillard, 1975) que contiene sales nutritivas (reactivos puros para laboratorios) para el cultivo de las algas, hacen que se incrementen notablemente los costos de producción en la camaronicultura (Martínez-Córdova, 1999; López-Elías, 2002).

Con el propósito de reducir los costos de operación por concepto de reactivos en las instalaciones que producen fitoplancton, diversos autores han evaluado el crecimiento de microalgas en medios de cultivo alternativos preparados con fertilizantes agrícolas (López-Elías & Voltolina, 1993; Nieves *et al.*, 1994; Valenzuela-Espinoza *et al.*, 1999; Simental-Trinidad & Sánchez-Saavedra, 2003). Otros han investigado cómo varía la composición bioquímica de diferentes especies de microalgas al cultivarlas en medios preparados con fertilizantes orgánicos (Simental-Trinidad *et al.*, 2001). Estos estudios mencionan que la cantidad y calidad de la biomasa producida no se afecta por el uso de estas fuentes de nutrientes.

Recientemente Ruiz (2009), recomendó la aplicación en estanques de engorde, antes de la siembra de poslarvas de camarón, un fertilizante orgánico llamado vermicompost fabricado a base de líquido de humus de lombriz roja californiana *Eisenia foetida* (té de humus), cuyo elevado contenido y producción de hormonas estimulan el crecimiento y funciones vitales de microalgas, fundamentalmente diatomeas.

El humus de lombriz no es más que los excrementos de las mismas que transforman los residuos orgánicos como restos de cosechas, excrementos de animales de cría (vacas, cerdos, gallinas, entre otros), restos de cocina o papelería en desuso. Entre los componentes fundamentales del humus de lombriz están el nitrógeno, fósforo, potasio y el calcio. Esta composición de los nutrientes es altamente variable, dependiendo de los factores bióticos y abióticos (Caro, 2004).

En Cuba los reactivos puros de laboratorio requeridos para el cultivo progresivo de las microalgas marinas son en su gran mayoría de importación y de difícil adquisición, por lo que teniendo en cuenta los antecedentes sobre la utilización de fertilizantes orgánicos en la acuicultura, el propósito del presente trabajo fue la evaluación de un extracto líquido del humus de lombriz roja californiana *Eisenia foetida* como biofertilizante, para determinar su

efecto en el crecimiento poblacional de células de las microalgas marinas *Chaetoceros muelleri* y *Tetraselmis tetrahele*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se desarrolló en el Centro Genético de Camarón, Municipio Mariel, perteneciente al Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP), MINAL. El diseño consistió en la obtención de un extracto líquido a partir de humus de lombriz roja californiana *Eisenia foetida* cultivada con vacaza, para probarlo como medio de cultivo de dos microalgas marinas.

### **Obtención del extracto líquido de humus de lombriz**

La obtención del extracto se hizo a partir de una modificación de la metodología de preparación de biofertilizantes líquidos a partir de humus de lombriz, según lo describen Casco & Iglesias (2005). Se tomó un frasco de 1 L de capacidad que contenía agua de mar pasada por filtros de: 20; 10; 5; 1 y 0,32 µm, y posteriormente por lámpara UV. Una vez pesado el humus de lombriz se añadió al frasco con agua de mar filtrada, se mezcló vigorosamente por unos segundos. Se utilizó la proporción de: 50 g de humus por cada litro de agua de mar.

El frasco con la mezcla se colocó en una autoclave con capacidad de 3 L durante 1 ½ h a 120 °C y 1,5 ATM, para su esterilización (las bacterias contaminan los inóculos de microalgas impidiendo su crecimiento celular) y promover la extracción de las sales nutritivas contenidas en el humus. Terminado este proceso, se dejó reposar la mezcla durante 24 h para que sedimentara el material sólido. Se extrajo el frasco de la autoclave y con cuidado se separó el extracto filtrándolo por una malla de 100 µm. La preparación del medio de cultivo Guillard f/2 se realizó según lo descrito por Guillard (1975).

### **Preparación de los inóculos de las dos microalgas**

Las cepas de las microalgas utilizadas, *Chaetoceros muelleri* y *Tetraselmis tetrahele*, provinieron del algario del Centro de Investigaciones Pesqueras, donde fueron mantenidas con medio Guillard f/2 según está descrito por Guillard (1975).

Los experimentos de cultivo de microalgas se desarrollaron en el algario del Centro Genético de Camarón en Mariel, ubicado en un local cerrado con iluminación fluorescente y temperatura controlada (2000 Lux y 23 °C

respectivamente), donde los frascos fueron mantenidos con aireación constante.

Se prepararon previamente los inóculos de cada microalga a evaluar ya adaptadas a las condiciones del algario, las mismas fueron utilizadas cuando alcanzaron la fase de crecimiento exponencial (2-3 días). Se les realizó conteo a cada frasco preparado con el medio de cultivo correspondiente (Guillard f/2 o el extracto líquido de humus) para calcular la cantidad de mililitros que debían emplearse para el inicio del ensayo experimental. La concentración celular inicial fue similar en todos los frascos experimentales. Fueron empleados para los conteos un microscopio biológico y una cámara de Neubauer (hematocitómetro de 0,1 mm de profundidad).

### **Ensayo experimental. Cultivo de microalgas**

Para los cultivos la temperatura se mantuvo controlada en 24 °C, la salinidad del agua se ajustó a 35 ups y la iluminación fue constante proveniente de cuatro lámparas fluorescentes de luz blanca fría de 40 W, en estantes preparados para el mantenimiento y crecimiento progresivo de microalgas.

Se emplearon cuatro diluciones del extracto líquido de humus (EH50, EH200, EH350, y EH500 mL) para evaluar el crecimiento celular de las microalgas en estudio (*C. muelleri* y *T. tetraethale*). Como patrón en ambos cultivos monoalgares fue utilizado el medio Guillard f/2 (MG). Para los ensayos experimentales se usaron recipientes de cristal transparente de 2 L de capacidad. Se trabajó con tres réplicas por cada tratamiento. Los conteos de crecimiento poblacional se realizaron cada 24 h para determinar posteriormente los indicadores poblacionales velocidad de crecimiento (K), tasa de producción diaria (PD) y tiempo de duplicación (TD).

En el caso específico de *C. muelleri* cultivado con extracto líquido de humus, se añadió 1 mL/L de Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O según propuesta de Guillard (1975) para el desarrollo de las diatomeas.

Se realizó un segundo bioensayo para evaluar otras diluciones del extracto líquido de humus en caso de que no se alcanzaran concentraciones de células cercanas al patrón. Este estudio tuvo lugar con la microalga *C. muelleri*, por lo cual se aplicó el mismo diseño experimental probando dos nuevas diluciones (EH550 y EH650 mL del extracto).

Todos los datos fueron analizados estadísticamente mediante el Programa SigmaStat 3.5.2.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El desarrollo eficiente de un cultivo microalgal en el laboratorio depende dentro de otros factores, de las

condiciones físico-químicas del medio en que se desarrollan, al igual que en el medio natural (Leal & Bonaechea, 1994). Las variables físico-químicas en este estudio se mantuvieron controladas dentro de lo reportado como óptimos para el cultivo de estas especies, lo cual favoreció que las dos microalgas, bajo estas condiciones, crecieran dentro del intervalo esperado para su especie en número de células y similar al reportado por otros autores (Pacheco & Sánchez-Saavedra, 2003; López-Elías *et al.*, 2008).

Al analizar el comportamiento de las curvas de crecimiento exponencial de cada tratamiento, en cada microalga evaluada, se sugiere que la cinética algal pudo haber estado influenciada por la composición del medio de cultivo. En el primer bioensayo realizado con la diatomea *C. muelleri*, la baja densidad celular obtenida con las cuatro diluciones del extracto líquido de humus (EH50, EH200, EH350 y EH500 mL), repercutió en la implementación de un nuevo ensayo con dos diluciones más concentradas (EH550 y EH650 mL), lográndose con las mismas un crecimiento celular que no difiere ( $p > 0,05$ ) del patrón hasta el tercer día de cultivo, superándose los  $600 \times 10^4$  de cel. $\text{mL}^{-1}$  (Fig. 1), valores similares a los que se obtienen a nivel comercial en la Empresa de Desove de Camarones YAGUACAM, Cienfuegos.

Las altas concentraciones celulares alcanzadas en la fase exponencial de los cultivos de *C. muelleri* donde fueron evaluadas las diluciones EH550 y EH650 mL del biofertilizante (Fig. 1), provocaron en el tercer día de cultivo un salto hacia la fase de decaimiento sin pasar por la fase estacionaria, como bien se observa en el tratamiento con medio f/2 Guillard. Este comportamiento pudo estar inducido por un efecto sombra (densidad celular alta + ligera turbidez provocada por el extracto líquido de humus) que impidió la penetración homogénea de la luz, inhibiendo el proceso de fotosíntesis y acelerando la llegada del cultivo a la fase de muerte celular.

Los indicadores poblacionales evaluados, velocidad de crecimiento celular (K), producción diaria (PD) y tiempo de duplicación (TD) que describen el comportamiento de los cultivos de *C. muelleri* (TABLA 1), muestran la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos, lográndose los mejores resultados con la dilución EH550 mL.

Para *T. tetraethale* (Fig. 2) no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en las concentraciones celulares de EH50 mL, EH200 mL con respecto al patrón durante los tres primeros días del cultivo, tendencia que se mantuvo solamente para la dilución EH200 mL hasta el séptimo día de cultivo donde se lograron concentraciones celulares de  $173 \pm 5,8 \times 10^4$  cel. $\text{mL}^{-1}$  y de  $175 \pm 1,0 \times 10^4$  cel. $\text{mL}^{-1}$  con Guillard. Igualmente no difirieron los parámetros poblacionales (TABLA 1) entre ambos tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Las otras dos diluciones evaluadas EH350 y EH500 mL mantuvieron prácticamente durante todo el tiempo una baja concentración celular. Este comportamiento se pudo atribuir a un marcado efecto de autosombreado, pero esta vez

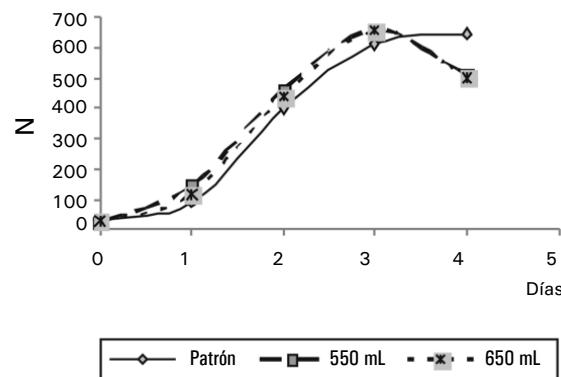


Fig. 1 Concentración celular acumulada de *Chaetoceros muelleri* cultivada con el medio Guillard f/2 (patrón) y en dos diluciones concentradas del extracto de humus de lombriz *Eisenia foetida* (EH550 y EH650 mL). N: No. de células  $\times 10^4$  cel. $\cdot$ mL $^{-1}$

causado por la coloración del medio que impidió la penetración y distribución homogénea de la luz, inhibiéndose así el proceso de fotosíntesis y por consiguiente el desarrollo del cultivo.

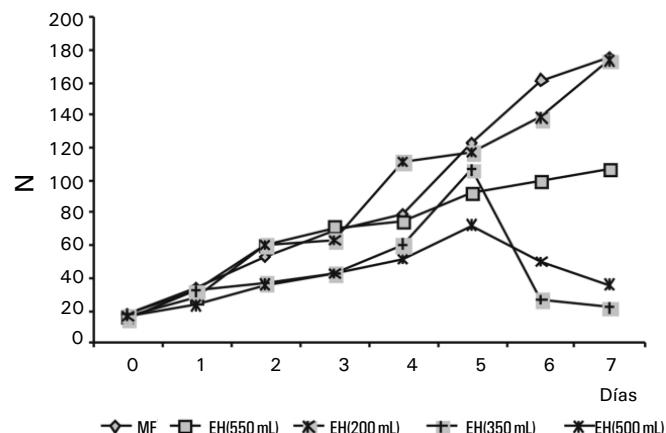


Fig. 2 Concentración celular acumulada de *Tetraselmis tetraethale* cultivada con el medio Guillard f/2 (MG) y en diferentes diluciones del extracto de humus de lombriz *Eisenia foetida* (EH50, EH200, EH350 y EH500 mL). N: No. de células  $\times 10^4$  cel. $\cdot$ mL $^{-1}$

TABLA 1. Valores promedios de la velocidad de crecimiento celular ( $K$ ) acumulada, producción diaria (PD) y tiempo de duplicación (TD) de las especies de microalgas cultivadas en el medio Guillard (MG) y en diferentes diluciones del extracto líquido de humus de lombriz *Eisenia foetida*

Especies	Parámetro	MG	EH (50 mL)	EH (200 mL)	EH (350 mL)	EH (500 mL)	EH (550 mL)	EH (650 mL)
<i>Tetraselmis tetraethale</i>	K	3,1a	3,0a	3,1a	2,5b	2,5b		
	PD	80,6a	5,5b	80,9a	6,7b	32,8c		
	TD	0,34a	0,37a	0,30a	0,42b	1,34c		
<i>Chaetoceros muelleri</i>	K	0,5a					0,84b	0,76c
	PD	41,24a					115,4b	82,3c
	TD	4,74a					2,58b	2,28c

Estos resultados son similares a los reportados por Godínez (2000), al evaluar el crecimiento de las microalgas *C. muelleri* y *T. suecica* en doce extractos líquidos de fertilizantes orgánicos, lográndose concentraciones celulares 3,3 % superiores para la diatomea cultivada en el medio orgánico y en el caso de la flagelada valores que no difieren a los del control. Este autor alcanzó concentraciones celulares inferiores a los obtenidos en este trabajo, lo cual puede deberse, entre otros factores, a la composición química de los biofertilizantes empleados. En este estudio las altas concentraciones reportadas de nitrato (TABLA 2) al evaluar la composición química de la dilución EH550 mL del extracto líquido de humus, pudo haber favorecido el rápido crecimiento de *C. muelleri*.

El comportamiento en el crecimiento celular de las microalgas cuando el nitrógeno está disponible en exceso en cualquiera de las formas asimilables, fue observado por García & Jiménez (1990), cuando evaluaron una mezcla de fertilizantes agrícolas para el cultivo de *Isochrysis galbana*, al usar tres concentraciones de fertilizantes basados en urea, para dar valores de 60,75; 27,0 y 6,75 mg/L de nitrógeno. Su tratamiento control fue una modificación del medio f, con 6,75 mg/L de N. Estos autores reportaron que el medio que mejor resultados alcanzó fue el que contenía la mayor concentración de nitrógeno y que las dosis menores de este elemento eran limitantes para el crecimiento de la microalga evaluada.

**TABLA 2.** Concentraciones de nitrito, amonio y fósforo presentes en el extracto líquido de humus de la lombriz *Eisenia foetida* y el medio Guillard (f/2)

Species	Parámetro	MG	EH(50 mL)	EH(200mL)	EH(350 mL)	EH(500 mL)	EH(550 mL)	EH(650 mL)
<i>Tetraselmis tetrathele</i>	K	3,1a	3,0a	3,1a	2,5b	2,5b		
	PD	80,6a	5,5b	80,9a	6,7b	32,8c		
	TD	0,34a	0,37a	0,30a	0,42b	1,34c		
<i>Chaetoceros muelleri</i>	K	0,5a					0,84b	0,76c
	PD	41,24a					115,4b	82,3c
	TD	4,74a					2,58b	2,28c

Cook & Clifford (1998) plantearon que es importante mantener el balance correcto entre los nutrientes y que la cantidad relativa de N y P disponible en el agua ejerce una influencia sobre el tipo de alga que domina. Cuando la tasa de estos dos elementos es muy cercana ( $N:P < 5:1$ ) favorece el crecimiento de los dinoflagelados y flagelados, cuando es alta 15-20:1 es promovido el crecimiento de diatomeas, lo que coincide con el trabajo de Lourenco *et al.* (1997) cuando probaron un fertilizante con proporción N:P de 5,5:1, que modificaron adicionando nitrógeno para obtener una relación similar al medio Conway (9,2:1) utilizado como control, encontrando un mayor crecimiento celular de *C. gracilis* en los dos medios con la razón N: P más elevada.

Otro factor reportado recientemente por Ruiz (2009), al trabajar con lombricompost como biofertilizante en estanques de tierra y que pudo incidir en los favorables resultados obtenidos en cuanto a concentración celular en las algas cultivadas con el extracto líquido de humus, es el elevado porcentaje de ácidos húmicos, fulvicos y de fitohormonas como el ácido indolacético y giberelico que posee este fertilizante orgánico y que estimulan el crecimiento y funciones vitales de las algas.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, se concluyó que el extracto líquido de humus evaluado como medio de cultivo alternativo en el Centro Genético de Camarón en Mariel, fue fácilmente asimilado por las dos especies de microalgas estudiadas, lográndose concentraciones celulares para el tercer día de cultivo de *C. muelleri* con la dilución EH550 mL y para el séptimo día de cultivo de *T. tetrathele* con la dilución EH200 mL comparables con las concentraciones alcanzadas con el tratamiento control.

## REFERENCIAS

- Brown, M. R. (1991). The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 145, 79-99.
- Caro, I. (2004). *Caracterización de algunos parámetros químico-físicos del Liplant, humus líquido obtenido a partir del vermicompost de estiércol vacuno*. Tesis presentada en opción al grado académico de Máster en Química aplicada a la Agricultura, UNAH, La Habana, Cuba, p. 90.
- Casco, C. & Iglesias, M. C. (2005). *Producción de biofertilizantes líquidos a base de lombricomposto*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Resumen, A-063, 4 pp.
- Cook, C. I. & Clifford, H. C. (1998). Fertilization of shrimp ponds and nursery tanks. *Aquaculture Magazine*, 24 (3), 52-62.
- García-Rodríguez, E. & Jiménez, S. (1999). The use of some agricultural fertilizer for the mass production of marine algae. *Aquaculture*, 36, 245-256.
- Godínez, D. E. (2000). *Evaluación de dos fertilizantes orgánicos como medios alternativos para la producción de Tetraselmis suecica y Chaetoceros muelleri*. Tesis de Maestría. Postgrado Interinstitucional de Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, Tecomán, México, 65 pp.
- Guillard, R. R. L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In L. Smith & M. H. Chanley (Eds.), *Culture marine invertebrate animals*, New York, pp. 29-59.

- Leal, S. & Bonaechea, I. (1994). Concentración óptima de nutrientes de tres especies de microalgas marinas en cultivo. *Rev. Inv. Mar.*, 15 (1), 73-79.
- López-Elías, J. & Voltolina, D. (1993). Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con un medio no convencional. *Ciencias Marinas*, 19 (2), 168-180.
- Lourenco, S. A., Barbarino, E., Lanfer, U. M. & Aidar, E. (1997). Distribution of intracellular nitrogen in marine microalgae: basis for calculation of specific nitrogen-to-protein conversion factors. *J. Phycol.*, 34, 798-811.
- López-Elías, J. A. (2002). *Evaluación cuantitativa y cualitativa de los sistemas de producción de microalgas de seis laboratorios comerciales del Noroeste de México*. Tesis Doctoral. Postgrado Interinstitucional de Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, Tecomán, México, 117 pp.
- López-Elías, J. A., Voltolina, D., Ávila-Mercado, I. S., Nieves, M. & Cordero-Esquível, B. (2005). Growth, composition and biomass yields of *Chaetoceros muelleri* mass cultures with different routines and tank depths. *Rev. Inv. Mar.*, 26 (1), 67-72.
- López-Elías, J. A., Enríquez-Ocaña, F., Pablos-Mitre, M., Huerta-Aldaz, N., Leal, S., Miranda-Baeza *et al.* (2008). Growth and biomass production of *Chaetoceros muelleri* in mass outdoor cultures: effect of the hours of the inoculation, size of the inoculum and culture medium. *Rev. Inv. Mar.*, 29 (2), 171-177.
- Martínez-Córdova, L. R. (1999). *Cultivo de Camarones Peneidos. Principios y Prácticas*. AGT Editores, S. A., México, 283 pp.
- 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.
- Piña, P., Voltolina, D., Nieves, M. & Robles, M. (2006). Survival, development and growth of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* protozoa larvae, fed with monoalgal and mixed diets. *Aquaculture*, 253, 523-530.
- Pacheco-Vega, J. M. (2003). Evaluación del valor nutrimental de la microalga *Chaetoceros muelleri* cultivada en un medio no convencional para alimentar a larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada Baja California, México, 85 pp.
- Ruiz, M. (2009). *Camaronicultura Orgánica*. Disponible en <http://www.cesasin.com.mx>
- Ritar, A. J., Dunstan, G. A., Nelson, M. M., Brown, M. R., Nichols P. D., Thomas, C. W. *et al.* (2004). Nutritional and bacterial profiles of juvenile Artemia fed different enrichments and during starvation. *Aquaculture*, 239, (1-4), 351-373.
- Simental-Trinidad, J. A. & Sánchez-Saavedra, M. P. (2003). The effect of agricultural fertilizer on growth rate of benthic diatoms. *Aquac. Engin.*, 27, 265-272.
- Simental-Trinidad, J. A., Sánchez-Saavedra, M. P. & Correa-Reyes, J. G. (2001). Biochemical composition of benthic marine diatoms using as culture medium a common agricultural fertilizer. *J. Shellfish Res.*, 20, 611-617.
- Valenzuela-Espinoza, E., Gendrop-Funes, V., Pérez Castañeda, R. & Wilburn-González, J. G. (1999). Supervivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei* (Boone) alimentadas con *Chaetoceros muelleri* producido con fertilizantes agrícolas. *Ciencias Marinas*, 25 (3), 423.