CULTIVO INTENSIVO DE LARVAS DE CAMARÓN *Litopenaeus vannamei*; EN EL LABORATORIO POSTLARVAS DEL CARIBE S.A. LOMA ARENA – BOLÍVAR

INFORME FINAL DE PASANTÍA

EFRAÍN ALBERTO BUITRAGO TAPIA

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACION Y CIENCIAS
BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN BIOTECNOLOGÍA

SINCELEJO
2004

INFORME FINAL DE PASANTÍA
CULTIVO INTENSIVO DE LARVAS DE CAMARÓN *Litopenaeus vannamei*; EN EL LABORATORIO POSTLARVAS DEL CARIBE S.A. LOMA ARENA – BOLIVAR

EFRAÍN ALBERTO BUITRAGO TAPIA

INFORME FINAL DE PASANTÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIÓLOGO CON ÉNFASIS EN BIOTECNOLOGÍA

DIRECTOR:
PEDRO CARABALLO GRACÍA
BIÓLOGO MARINO M.Sc.

COODIRECTOR:
PIEDAD CARABALLO GRACÍA
DIRECTORA DE LABORATORIO

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS

BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN BIOTECNOLOGÍA

SINCELEJO

2004

Nota de aceptación:

_____

_____

_____

_____

_____

_____

_____
Firma del Presidente del Jurado

_____
Firma del jurado

_____
Firma del jurado

Sincelejo, 14 de diciembre de 2004

DEDICATORIA

A Dios.

A mi familia

A mi esposa.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa Postlarvas del Caribe S.A.

Al M.Sc. Pedro Caraballo

A mis amigos

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I

1. Área de manejo y tratamiento de aguas 4
2. Área de microbiología 5
3. Área de algas interna y externa 6
4. Área de *Artemia* *10*
5. Desinfección 14
6. Drogas y químicos 16
7. Siembra de nauplios y cosecha de postlarvas de camarón *L. Vannamei.* 19
8. Manejo y levante de la cría 21

CAPÍTULO II

ARTÍCULO DE REVISIÓN "USO DE MICROALGAS PARA EL LEVANTE DE LARVAS DE CAMARÓN MARINO"

RESUMEN 27
CONCLUSIONES 45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Células de *Chaetoceros* sp.
7
Figura 2. Área de alga interna
9
Figura 3. Tanques de cultivo masivo.
10
Figura 4. *Artemia franciscana*
10
Figura 5. Huevos de *A. franciscana* eclosionando. 12
Figura 6. Nauplio de *L. vannamei.*
23
Figirura.7. Zoea de *L. Vannamei*
24
Figura 8. Mysis de *L. vannamei.*
24
Figura 9. Larvas de *L. vannamei.*
25
Figura 10. Adultos de *L. vannamei.*
25

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Enfermedades más comunes presentadas en el Laboratorio P.L.C. y su tratamiento.
18

Tabla 2. Alimentos utilizados en el levante de larvas de camarón.
22

INTRODUCCIÓN

El sector pesquero es el que mayores problemas presenta debido a que su actividad principal es la recolección de organismos vivos del mar, lo cual deja a la naturaleza el ciclo de producción. Inicialmente, la cantidad espectacular de alimento que presentaron las capturas mundiales produjo muchas esperanzas acerca de la utilización de los recursos marinos en la solución de nutrición humana; pero durante los últimos años el problema de la pesca excesiva ha traído como consecuencia la disminución de las reservas naturales, lo que ha demostrado que estos recursos tienen una capacidad limitada como es el caso del camarón marino *Litopenaeus vannamei.* Se calcula que el 2% de la producción mundial en biomasas es de crustáceos.

El laboratorio postlarvas del Caribe S.A. (P.L.C.), tiene como objetivo principal la producción y comercialización masiva de larvas de camarón del genero *L. vannamei*, hasta el estadío comercial de postlarvas para proveer fincas camaroneras dentro y fuera del país; garantizando empleo y propiedades alimenticias a la humanidad. En la actualidad tiene una producción anual promedio de 450 millones de postlarvas, lo que representa ingresos del orden de 1.8 millones de dólares.

La creciente demanda de semillas de camarón, por parte de las fincas camaroneras ha creado la necesidad de producir esta a nivel de laboratorios. En un comienzo las fincas encargadas del engorde de larvas, utilizaban semillas del medio marino (salvajes); sin considerar los trastornos ecológicos que se estaban generando, en especial lo relacionado con la cadena alimenticia y la renovación de las poblaciones de organismos, ya que al

capturar un número elevado de posible reproductores, hace que las posibilidades de cruce de las especies disminuya; por lo tanto, su "mejoramiento genético" es menor, lo que trae como consecuencia que las

CAPÍTULO I

2. Área de manejo y tratamiento de aguas

Los cuerpos de agua marina actualmente sufren problemas de contaminación por agentes contaminantes como materiales químicos empleados en la agricultura y la industria, por lo que cada día se hace más difícil la supervivencia de especies de interés económico tales como *L. vannamei*, de allí radica, la importancia de un buen sistema de captación y filtración de agua.

Para el cultivo de *L. vannamei,* es recomendable trabajar con agua marina relativamente limpia, esta se obtiene alejada de las costas en alta mar (agua oceánica), pero dicho transporte aumenta los costos de producción notablemente, cuando se necesitan grandes volúmenes de agua, por lo tanto en nuestro caso (P.L.C.) se trabaja con agua extraídas de zonas costeras y se manejan aproximadamente 350 m^3 diariamente; por esta razón el agua debe ser tratada debido a su mala calidad, en consecuencia, de un buen tratamiento de aguas dependerá en gran parte el éxito del cultivo (Diagrama 1).

Sistema de bombeo

- La toma de agua del laboratorio P.L.C. se encuentra a 70 m de la playa en un punto medio donde aparecen mareas bajas. Se realiza mediante dos bombas centrífugas de 3 pulgadas de diámetro de succión respectivamente acopladas a tuberías del mismo diámetro, las cuales conducen el agua al sistema de decantación o sedimentador 0.

La distancia de la toma de agua a la caseta de bombeo es de 200 m aproximadamente, de la caseta de bombeo al "sedimentador 0" hay una distancia de 230 m y una altura sobre el nivel del mar de 17 m.

- **Decantador o Sedimentador 0**

Su función es muy importante dentro del sistema debido a que en él se van a sedimentar partículas de gran tamaño, que son las que le dan la turbidez al agua. El agua bombeada llega sin ningún tratamiento de tipo químico, este consta de 10 cámaras divididas entre sí por compuertas de madera; al llegar a la primera cámara, el agua inicia un recorrido, por rebose pasa a la segunda cámara; la primera ha cumplido ya su función que es la de decantar partículas grandes, al llegar a las demás cámaras se van decantando otras partículas, al finalizar la última cámara se observa la efectividad del sistema.

- **Filtración Primaria**

La función de la filtración primaria es la de un filtro mecánico, del sedimentador 0 sale el agua a tres tuberías de PVC, una de 4 pulgadas y dos de 3 pulgadas, las cuales se dirigen a cuatro compartimientos con Chuvas (Conchas), a estas cámaras cae el agua por medio de un flautin hecho de tubo de PVC de 2 pulgadas, los cuales van recubiertos con unas mangas de diferentes diámetro (30μ y 10μ). El objetivo de este proceso es tratar de purificar al máximo el agua, por lo tanto las mangas deben ser lavadas diariamente para así optimizar y lograr un mejor flujo de agua.

Las chuvas en cada cámara se encuentran sobre una malla de un micrómetro de diámetro que se encuentra sobre placas de concreto con orificios que conducen a un canal que lleva el agua a la siguiente tubería.

En este paso se logra oxigenar el agua y por gravedad se dirige hacia 10 sedimentadores de 70 m^3 y a uno de 180 m^3 mediante una tubería de 4 pulgadas. En ellos el agua es clorinada según su calidad por un tiempo de tres días, con el fin de lograr sedimentar partículas que se han filtrado por los anteriores sistemas, el cloro actúa disminuyendo la posibilidad de encontrar bacterias, protozoarios, entre otros microorganismos.

Transcurrido este tiempo el agua es bombeada de los sedimentadores a un sistema de filtración compuesta por una carcaza con filtros de hilo de 5 micrómetros y otra de 1 micrómetro, por último el agua llega a un sistema de alta eficiencia que consta de 12 tubos de luz ultravioleta para garantizar la calidad del agua y eliminar todos los microorganismos que sobrevivieron a los sistemas anteriores.

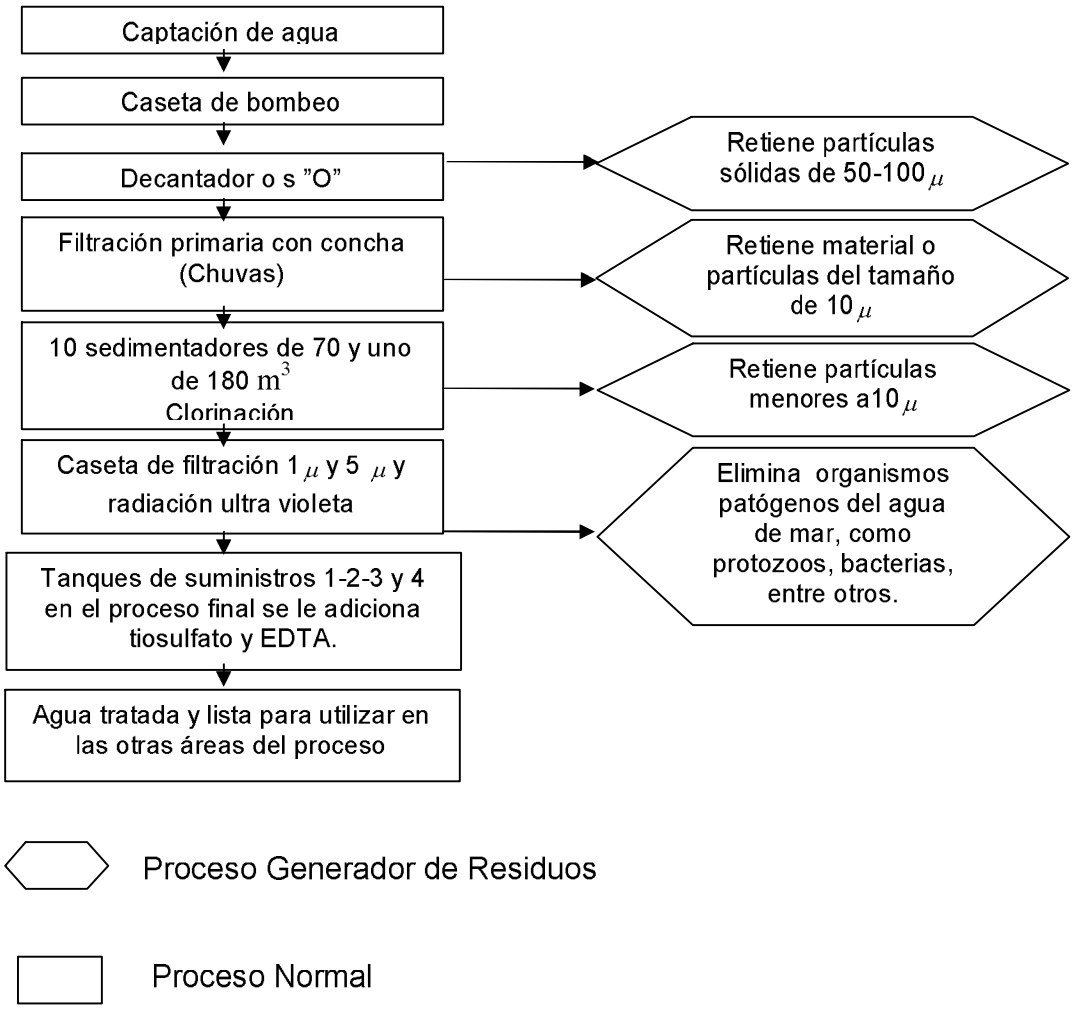
Luego de que el agua es filtrada se almacena en 4 tanques así:

Suministro 1 = 26 m^3.
Suministro 2 = 198 m^3.
Suministro 3 y 4= 104 m^3.

Los tanques tienen un sistema de aireación para garantizar una mejor homogenización al momento de neutralizar el cloro que no fue volatilizado en los tres días de sedimentación, esto se realiza con un químico llamado tiosulfato, en este proceso también se utiliza EDTA que va a cumplir la función de quelar metales pesados, después de estos tratamientos el agua está lista para ser utilizada en la producción. Cabe resaltar que a

partir de esta área se empiezan a medir los parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos, mediante monitoreo de temperatura, pH, salinidad, los cuales son los que van a condicionar el proceso de producción.

Diagrama 1. Proceso de Tratamiento de Aguas



2. Área de microbiología

Son muy pocos los laboratorios de larvicultura en Colombia que cuentan con ésta área, que es muy importante para determinar cuando un sistema se encuentra relativamente aséptico después de culminar el proceso de desinfección, para lo cual se tienen puntos establecidos en las diferentes áreas como son: *Artemia*, algas, zona de alimentación, sistema de captación y filtración de agua, tanques de larvicultura, así como tuberías en general.

Son en estos puntos donde se toman frotis, se enriquecen a peptona por 24 horas, para luego ser sembrados en cajas petry con medio de cultivo de agar verde TCBS. Transcurridas 24 y 48 horas se hacen lecturas para verificar formación de bacterias (flora normal o patógena). En el laboratorio P.L.C. se maneja el criterio de bacterias verdes (flora normal), bacterias amarillas en concentraciones altas (flora patógena) y bacteria negra (ataque de un *vibrio* patógeno); estas fueron clasificadas mediante una capacitación dirigida por CENIACUA. Este manejo dentro del laboratorio es para hacer un seguimiento contínuo, ya que las pruebas específicas de determinación de unidades formadoras de colonias y clases de *vibrios* que atacan a las larvas las realiza CENIACUA, entidad que cuenta con el personal capacitado, así como reactivos y equipos de alta resolución. Lo más recomendable es hacer todas las pruebas de laboratorio en esta entidad; sin embargo, su alto precio elevaría los costos de producción.

Todo el proceso antes mencionado se hace también con macerados de los nauplios que llegan al laboratorio, antes y después del lavado con yodo; este es un proceso de desinfección que se practica rutinariamente. En muchas ocasiones ha dado resultado, que se reflejan en las lecturas microbiológicas.

El agua utilizada en el transporte de los nauplios hasta el laboratorio y el agua de los tanques donde éstos van a ser sembrados se les toma muestra, para tener datos que indiquen si la contaminación llegó con los animales o se encontraba en el laboratorio y así tomar las medidas de control respectivas para prevenir la proliferación de contaminantes en los tanques. Estas pruebas se realizan en los diferentes estadíos que presentan los camarones (nauplio, zoea, mysis, postlarva). La toma de muestras se hace también a los tanques de producción masiva de microalgas que van a ser utilizadas para la alimentación de la cría, con el objetivo de cubrir todos los puntos o vectores de posibles enfermedades.

Otra medida que se realiza en ésta área, es el MIC (concentraciones mínimas de inhibición con antibióticos), el objeto de esta prueba es saber a qué concentración en partes por millón (ppm) de antibiótico resisten o disminuyen el crecimiento de las bacterias aisladas de los diferentes macerados de los estadíos.

3. Área de algas interna y externa

Toda alimentación para un sistema de cultivo es muy importante, ya que en gran parte es la que va a marcar la relación costo-beneficio en un momento dado para la viabilidad de un proyecto.

En el caso del alga *Chaetoceros* sp, especie cultivada en el laboratorio P.L.C. para la alimentación de los primeros estadíos del camarón (zoea y mysis). El proceso de producción comienza a partir de cepas puras y los requerimientos en cuanto a costo son aceptables y se ha comprobado su calidad en la sobrevivencia obtenida en varios ciclos de cría.

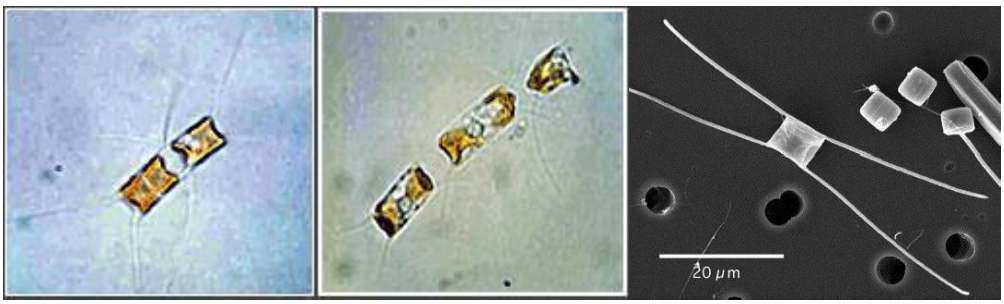


Figura 1. Células de *Chaetoceros* sp.

Cabe resaltar que este fitoplancton forma parte de la dieta preferida de los primeros subestadíos del camarón *L. vannamei,* gracias a su pequeño tamaño que lo hace digerir mucho más fácil, evitando un gasto de energía adicional. Ésta también le proporciona a los animales proteínas y vitaminas que ayudan a una rápida respuesta enzimática requerida para garantizar una buena alimentación que se refleja en los difíciles cambios fisiológicos y morfológicos.

A continuación se describe el proceso de producción masiva de microalgas *Chaetoceros* sp, sus necesidades, parámetros físicos, químicos, fisicoquímicos y reactivos utilizados en cada uno de los procesos, buscando siempre obtener células de algas de buena calidad, densidad, uniformes y limpias de protozoarios, para evitar los riesgos durante la cría o en los primeros estadíos que son los más críticos.

- **Área Interna**: Es la parte del proceso donde se requieren mayores controles de asepsia y manejo de parámetros, en esta área se encuentra un cuarto de cepas puras que mantiene una temperatura de 20º-25ºC, esto con el objetivo de no proporcionarles a los microorganismos patógenos, condiciones de reproducción.

De la cepa pura se hacen inóculos en tubos de ensayo previamente esterilizados en autoclave, utilizando medios de cultivo "F/2" de GUILLARD, (nitrato de sodio, metales trazas, metasilicato y vitaminas), adicionando 1 ml de cepa a cada tubo. Estos tubos se les proporciona luz artificial con lámparas de neón y agitación manual para lograr que todas las células reciban luz, lo cual ayuda a la división celular.

- Cada inóculo de la cepa es sometido a revisión microscópica para determinar si está libre de protozoarios y con buen proceso de división. Posteriormente son sembrados en botellas de 500ml, las cuales son llamadas cepas madre con iguales condiciones de medios, pero en mayor cantidad; de igual forma, son sometidas a luz y agitación manual.

- Transcurrido 3 a 5 días los inóculos son tomados previa revisión microscópica y preparación de medios, se siembran en erlenmeyer, donde alcanzan una buena división celular; posteriormente son sembradas en botellones de 20 L, clorinados y declorinados previamente y se le adicionan sus respectivos medios de cultivo, estos son llamados botellones de cepas puras; en este paso los cultivos también son expuestos a luz y aireación constante.

- A los 3 ó 4 días se escogen los mejores botellones basado en limpieza, densidad, división celular y tamaño de la célula para realizar repliques en otros botellones con igual procedimiento.

- Posteriormente los repliques son transferidos a cilindros acrílicos de 200 L con medios de cultivo, se les dá el tiempo requerido para que las células alcancen una mayor división.

Todos los procesos anteriores mantienen parámetros controlados de luz, temperatura, salinidad, aireación y nutrientes.

Figura 2. Área de alga interna

- **Área Externa:** Es el área de menor control en cuanto a algunas condiciones, ya que se encuentra expuesta al ambiente, aquí se encuentran tanques de producción masiva de 3.5 y 5.5 m^3, que son los que después van a servir para alimentar la cría.

La salinidad utilizada en este proceso es la misma a la que se encuentre el agua de mar (32 a 36 partes por mil de salinidad); la luz es proporcionada por los rayos solares, de igual forma se mantienen con aireación constante.

Es aquí a donde pasan los tubos provenientes del área interna, previa revisión microscópica y preparación de los tanques de producción masiva con medios o reactivos industriales, su tiempo es de 48-72 horas para su uso en la producción y se alcanzan densidades de 700 mil a 1 millón de cell/ml, las cuales son escogidas por calidad,

resultado de rango microbiológico, división celular, tamaño de la célula y limpieza.

Figura 3. Tanques de cultivo masivo.

4. Área de *Artemia*

Artemia salina o *Artemia franciscana*, tal como lo indica su nombre, no es un habitante directo del mar, sino de las salinas que son lagunas y estuarios cercados, cercanos a las costas marinas y en ocasiones se les puede hallar en masas de agua salada atrapadas dentro de los continentes como el caso del famoso lago Salt lake, el cual es uno de los principales centros de acopio de este crustáceo, junto a la bahía de San francisco en Estados Unidos. Su uso en la industria acuícola se remonta a muchas décadas atrás, cuando se descubrieron las grandes bondades de este pequeño crustáceo; actualmente es usada mundialmente en los grandes centros de acuicultura y larvicultura de camarón.

Figura 4. *Artemia franciscana*

El nauplio de *A. franciscana* puede duplicar su tamaño corporal en menos de 24 horas, esto se debe a una hormona de crecimiento que ella misma sintetiza, dicha hormona puede producir la misma actividad biológica en el camarón cuando es digerida y asimilada; además, contiene cantidades importantes de proteínas altamente digeribles, vitaminas y beta-carotenones (sustancia que realza e intensifica los colores en los animales que la consumen), estas propiedades convierten a esta especie en un alimento clave e insustituible para el óptimo desarrollo de larvas de camarón *L. vannamei*. En el laboratorio P.L.C. los especímenes de *Artemia* se tienen como un complemento alimenticio junto a una variedad de alimento microencapsulado, ya que su precio es muy elevado.

Este tipo de dieta se importa en forma de quistes o huevos de *Artemia* envasados al vacío, de los cuales se cosecha *Artemia* como se describe a continuación.

Se tienen cepas de alto porcentaje de eclosión (entre 85 a 95%), siendo usadas las de Salt Creack y San Francisco, éstas garantizan una mayor producción de nauplios de *Artemia* ya que la demanda de alimentación de la cría dentro del laboratorio es alta. La tasa de eclosión depende de la calidad de los quistes y podemos encontrar aproximadamente de 300 a 350 mil

nauplios por gramo, esto varía de acuerdo a la cepa, salinidad, temperatura, calidad de agua, pH, aireación, así como luz artificial en horas nocturnas con lámparas de neón.

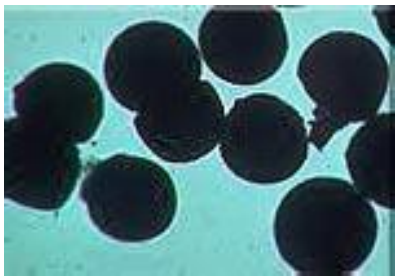


Figura 5. Huevos de *A. franciscana* eclosionando.

En el laboratorio P.L.C. se cuenta con una sala de *Artemia* donde se tienen tanques cónicos que terminan en un embudo transparente, con sus respectivas llaves de cosecha, el objeto de la transparencia del embudo es agrupar la mayor cantidad de nauplios para ser cosechados, el agrupamiento en la parte transparente se debe a que ésta es fototrópica (organismos que buscan la luz). La aireación es importante para agitar el agua y mantener los niveles de oxígeno.

La cantidad de quistes que se van a incubar dentro del laboratorio depende de los estadíos en que se encuentre la cría, también sí el proceso de muda de la larva presenta problemas y de la capacidad operacional en la que se encuentre el laboratorio. Es importante coordinar la eclosión y cosecha con el momento de alimentación, ya que el nauplio tiene su máximo nivel nutritivo en ese momento, después de 2 mudas se pierde el 20% de su contenido energético, para evitar esto, se recomienda adicionar hielo y así disminuir el metabolismo de los nauplios.

Hoy en día en muchos laboratorios donde se cosecha *Artemia* se utiliza el proceso de decapsulación previo al de incubación. En este paso se acelera el

proceso de decapsulación del quiste con disolventes químicos como hipoclorito comercial y luego se enjuaga con abundante agua; la ventaja de éste proceso es que aumenta la tasa de eclosión, disminuyendo así el riesgo de que se acumulen huevos sin eclosionar, que después se puedan convertir en un foco de infección dentro del tanque de cría. Cuando se sospecha que hay problemas con los nauplios de *Artemia*, se hacen revisiones microscópicas para descartarla como un vector de bacterias patógenas. La alimentación con *Artemia* dentro del manejo productivo del laboratorio se puede dividir en dos etapas:

I Etapa: La cosecha de *Artemia* es sometida a altas temperaturas con el fin de matar los nauplios, éstos posteriormente sufren un proceso de congelación y luego son suministrados como complemento alimenticio durante el estadío de zoea III hasta el estadío de mysis II; durante éstos estadíos la cosecha de *Artemia* se suministra congelada para facilitar su consumo ya que no han desarrollado los hábitos de caza, puesto que cuando se adiciona viva se corre el riesgo de que crezca, se reproduzca y pase a competir por oxígeno, alimento y espacio con la cría, lo cual trae consecuencias graves a nivel productivo y económico.

II Etapa: Aquí *Artemia* pasa a ser un suplemento alimenticio vivo y fundamental en la dieta de los estadíos de mysis II-III, pero en bajas raciones para ir estimulando el instinto cazador que se presenta en los estadíos más avanzados. Cuando la población a mudado a los estadíos de mysis III – postlarva, las raciones se aumentan y se proporciona a las horas establecidas por el sistema de alimentación, para evitar mortalidad por canibalismo. Los animales en estos estadíos necesitan que los nauplios de *Artemia* se muevan para ser un alimento más atractivo, ya que su hábito cazador está mucho más desarrollado; a partir de aquí se sigue alimentando

con *Artemia* viva hasta que los animales estén listos para salir a las fincas camaroneras.

5. Desinfección

Es la etapa previa al proceso de producción de postlarvas de camarón marino *L. vannamei,* es importante porque se busca eliminar o inactivar patógenos, puesto que la acción del desinfectante sobre microorganismos y/o parásitos depende de varios factores entre los cuales vale la pena destacar los siguientes:

- Poder microbicida del desinfectante.
- Características físicas, químicas y fisicoquímicas del agua, como: temperatura, dureza, pH, entre otros.
- Concentración del desinfectante.
- Duración del tiempo de la exposición al desinfectante.
- Dosis o cantidad a usar del desinfectante.
- Método de aplicación.
- Resistencia del patógeno a la acción del agente químico o desinfectante.

Cabe resaltar que una buena desinfección garantiza una mejor producción, debido a que se disminuye la probabilidad de un posible ataque patógeno en los primeros estadíos larvarios (nauplio, zoea y mysis); los cuales son más susceptibles a los ataques patógenos.

Como consecuencia de las enfermedades y otros factores, la industria acuícola ha sido afectada y más específicamente el sector camaronicultor dedicado a la cría y comercialización masiva de larvas de camarón marino, ocasionándoles graves pérdidas económicas; porque la densidad que se

maneja es alta (intensiva), lo que ha obligado a dedicar mayor atención al aspecto de sanidad animal. De aquí la importancia que reviste para cualquier laboratorio de larvicultura el proceso de desinfección.

Toda empresa privada se sostiene económicamente de la venta de su producto; en el caso del laboratorio P.L.C., de la venta de larvas de camarón marino (*L. vannamei*) a nivel nacional e internacional, por lo que hay que tener en cuenta procesos de desinfección que garanticen dicho producto.

Todas las áreas que hacen parte de un laboratorio de larvicultura deben ser desinfectadas una vez haya finalizado el ciclo de producción.

- **Tratamientos y filtración de aguas**: La desinfección está comprendida por lavado con cloro a todo el sistema.

- **Salas de larvicultura**: El laboratorio cuenta con las siguientes salas.

  Sala 1: Con dos tanques de 17 m^3 cada uno.
  Sala 2: Con seis tanques de 20 m^3 cada uno.
  Sala 3: Con siete tanques de 10 m^3 cada uno.
  Sala 4: Con siete tanques de 10 m^3 cada uno.
  Sala 5: Con seis tanques de 40 m^3 cada uno.

  La desinfección de estos tanques después de un lavado con detergente y enjuague con agua dulce; se realiza con cuatro desinfectantes; cloro, soda, ácido e yodo.

- **Sala de *Artemia*:** Cuenta con tanques cónicos de 300, 600 y 1.000 litros, aquí sólo intervienen tres desinfectantes: cloro, soda y ácido.

- **Alga Interna**: En esta área encontramos botellones y cilindros de 20 y 200 litros, que son desinfectados con cloro y ácido.

- **Alga Externa**: Se encuentran tanques de producción masiva de 3.5 y 5.5 m^3 que son desinfectados con cloro, soda y ácido.

Todas las tuberías de los anteriores sistemas también son desinfectadas con cloro por 48 horas, este tiempo es el que se deja entre cada desinfectante; menos en el caso del yodo, cuyo tiempo es de 2 horas para no manchar los tanques, cada proceso o acción del desinfectante va precedida por un buen enjuague con agua dulce; luego de culminada la desinfección se procede a tomar muestras microbiológicas para ver si los sistemas están óptimos para su uso, dependiendo de estos resultados se repite la desinfección.

6. Drogas y químicos

Son indispensables para el tratamiento de enfermedades y conservación del medio acuático. Los avances de la acuicultura industrial son inseparables de los procesos usados en el tratamiento de enfermedades y de productos tales como antibióticos, coopercontrol, treflan, verde malaquita y formol, que son importantes en el levante de la cría de camarón.

Los antibióticos entran al cuerpo del animal mediante baños a través del epitelio y branquias y con el alimento a través del sistema digestivo. Por lo general en el laboratorio P.L.C. (Tabla 1), se trabaja con dos antibióticos (oxitetraciclina y ciprofloxacina) y cuatro químicos como coopercontrol, treflan, verde malaquita y formol. Cuando llegan nuevos lotes de antibióticos y químicos, siempre se verifica su fecha de vencimiento, coloración al diluirlos en agua dulce y salada, así como las concentraciones a las que

lleguen; luego se proceden a hacer bioensayos en botellones de 3 L, para analizar el comportamiento del animal y su sobrevivencia, esto por lo general se hace por 24 horas. Puesto que el objetivo y la clave de todo sistema de producción es prevenir antes que tratar una enfermedad.

En el caso del laboratorio P.L.C., se inicia un tratamiento preventivo con concentraciones mínimas de antibióticos, iniciando con oxitetraciclina a partir del estadío de ZI y siguiendo el tratamiento con ciprofloxacina a partir de los estadíos de mysis II-III, siempre y cuando no se presente ningún problema de tipo patógeno; si este es el caso, las concentraciones aumentarían y se procede a una revisión microscópica para determinar las causas de la enfermedad y, según criterio, hacer cambios de drogas si así lo amerita el tratamiento; muchas veces estos tratamientos van acompañados de químicos preventivos en concentraciones tolerables por el estadío donde se presente la sintomatología, éstos, así como la droga pueden cambiar a curativos aumentando las cantidades empleadas.

Gran variedad de agentes biológicos y ambientales son causantes de las enfermedades más comunes que afectan a la cría. Las primeras como bacterias filamentosas, *Vibrios*, hongos, protozoarios y gregarinas. Las segundas, como calidad del agua, biotoxinas; además, una mala nutrición son factores que inciden altamente en la salud de estos organismos.

Tabla 1: Enfermedades más comunes presentadas en el Laboratorio P.L.C. y su tratamiento.

Enfermedad o Ataques por Microorganismos	***Tratamiento***
Hongo laguinidium Zoea I y Zoea II	Treflan y Oxitetraciclina
Muda pegada o Retraso en la muda (Puede darse en todos los estadíos)	Oxitetraciclina + Recambio fuerte + Verde malaquita
Protozoarios: Endoparásitos (amebas y gregarinas). Ectoparásito (Vortillela)	Recambio fuerte + Verde malaquita y Formol.
Necrosis por canibalismo – por ataque bacteriano y necrosis volcánica	Ciprofloxacina + recambio de agua
Melanosis (por ataque bacteriano)	Ciprofloxacina
Vibrio luminiscente(bacterias Gran – Negativas.	Oxitetraciclina

Métodos de uso de drogas y químicos

- **Drogas:** Las cantidades de droga a usar son pesadas exactamente en una balanza analítica, a éstas se le adiciona cierta cantidad de alimento, para que el animal la consuma mejor, posteriormente esta mezcla se hidrata por varios minutos, y se pasa a través de tamices de 100 y 200 micrómetros, con el fin de facilitar su ingestión y digestión.

  Se recomienda adicionarla al tanque en niveles bajos una vez finalice el recambio de agua, el cual se hace diariamente, esto para que esté más concentrada en el medio.

- **Químicos:** Son medidos lo más exactamente posible con pipetas y probetas volumétricas, para luego repartirse con regaderas en los tanques de larvicultura previamente diluidos en tres o más litros de agua; se recomienda aplicar éstos, en volúmenes altos y después de un intervalo de más o menos una hora entre droga y químico.

Cabe anotar que sin el uso de éstos sería muy difícil la consecución de altas producciones, siempre y cuando su uso no sea indiscriminado o elevado, ya que también pueden traerles consecuencias graves a la cría, como retraso en el crecimiento, estrés y posterior muerte.

Muchos antibióticos han sido prohibidos debido a que causan efectos a la humanidad que es el consumidor final. Actualmente los controles nacionales e internacionales se han intensificado con el fin de no permitir la entrada de productos alimenticios que presenten concentraciones mínimas de antibióticos prohibidos.

7. Siembra de nauplios y cosecha de postlarvas de camarón *L. vannamei*

Siembra: Es la etapa inicial dentro del proceso de producción, su importancia radica en la recepción de nauplios que provienen de los diferentes laboratorios de maduración; en la actualidad se reciben nauplios de los siguientes orígenes: Tigua, Barú, Idelcalao, Ceniacua y Caicsa. Anteriormente esta semilla era importada de diferentes países como Panamá, Venezuela y Ecuador; por lo que este proceso era mucho más complejo y de cuidado, ya que en diferentes ocasiones los nauplios no llegaban en óptimas condiciones debido al estrés que produce un empaque de varias horas.

En esta fase es donde se realiza una de las mayores revisiones macro y microscópica con el fin de evaluar las condiciones morfológicas, fisiológicas, alimentación (vitelial), fototropismo, actividad y limpieza, dependiendo de los resultados de la evaluación representada en altos porcentajes de deformidad o mortalidad y, cuando los porcentajes obtenidos superan los valores

normales, no se siembra y se desechan los animales previo acuerdo con el laboratorio de maduración.

También es importante evaluar el estadío de llegada de los nauplios, para hacer un buen seguimiento de la cría, y así no cometer errores de atraso en el proceso de muda; por lo general el laboratorio recibe la semilla en los estadios de nauplio IV y V.

Las deformidades más comunes presentadas en los nauplios que pueden causar mortalidad son: ausencia parcial o total de urópodos, espinas caudales incrustadas o dobladas, tracto digestivo torcido y zetas dobladas.

Luego de la revisión macro y microscópica se procede a igualar parámetros de llegada de los nauplios con los del laboratorio, como temperatura y salinidad, en un proceso llamado aclimatación. Una vez aclimatados los nauplios, se procede a verificar mediante conteos con métodos volumétricos y estadísticos, que se utilizan para sembrar en los tanques de larvicultura a una densidad de 200 a 250 nauplios por litro, éstos se encuentran preparados con químicos y microalgas a una densidad de 50 a 60 mil células/mililitro.

La siembra es una de las etapas más críticas donde se requiere mucho cuidado, debido al estadío del animal; entre más pequeño, mayores riesgos; por esto de una buena semilla y de una adecuada siembra depende el resultado final de la producción.

Cosecha: Es la etapa final de la cría, en donde después de una serie de cambios morfológicos, el nauplio alcanza su estado de postlarva que es el estadío comercial y, después de realizar conteos volumétricos basados en análisis estadísticos, las larvas son entregadas a las fincas camaroneras.

Uno de los parámetros morfológicos tenidos en cuenta por los compradores es la ramificación branquial de las larvas, este carácter es un buen indicador de fortaleza, puesto que cuando está presente, las larvas pueden sobrevivir a cambios bruscos en la concentración de oxígeno y adaptarse a estas condiciones con mayor facilidad, estos cambios generalmente ocurren en los estanques de las fincas camaroneras, que tienen menores concentraciones de oxígeno que en el laboratorio y porque no cuentan con eficientes sistemas de aireación.

La importancia de la cosecha radica en garantizar todo el proceso de aclimatación a temperaturas bajas (18-19°C) y empaque en bolsas dobles con oxígeno saturado y *Artemia*, para evitar canibalismo y mortalidad producida por anoxia, esto con el fin de asegurar la calidad de las larvas para que la entrega sea satisfactoria, puesto que ésta es la que garantiza un mercado.

8. Manejo y levante de la cría

Se realiza en las salas de larvicultura, las cuales deben disponer de luz natural para facilitar el desarrollo de las microalgas, sistemas de aireación constante para mantener niveles de oxígeno; además ayuda a mantener el alimento en movimiento para evitar su precipitación y posterior deterioro que pueda causar un foco de infección. Este sistema también mantiene a los animales en constante movimiento, lo cual minimiza la adherencia de partículas de alimento, materia orgánica y residuos a la cutícula de las larvas, esto es importante porque la adherencia de partículas puede afectar el proceso de muda.

Durante el desarrollo de la cría, es muy importante la cantidad y calidad del alimento, ya que de ello depende la supervivencia de los animales. En el

laboratorio P.L.C. se utilizan dos tipos de alimento: líquido y seco [(Epifeat LHF 1-2-3) (Fripack CD N°1 Microfeast My 100, Pl 200 y Pl 400), respectivamente]; además la dieta se acompaña de *Artemia*, algas y un antiestresante (Procura-Efinol).

La cantidad de alimento varía según los estadíos, el comportamiento de la cría, y a la disponibilidad de alimento con la que cuente el laboratorio; otro parámetro que también se tiene en cuenta para la alimentación, es la cantidad de animales presentes en el tanque, esta se evalúa mediante la sobrevivencia por conteos que se realizan de forma volumétrica al tomar al azar varias muestras de los tanques, en los estadíos de ZI, ZIII y PLI. Cada alimento le proporciona a los animales los requerimientos nutritivos necesarios (proteína, lípidos, aminoácidos esenciales, vitaminas, enzimas, entre otros), de vital importancia para un buen desarrollo larvario (Tabla 2).

La dosificación, forma de suministro y la hora de alimentación se hace según criterio y protocolo de cada laboratorio.

Tabla 2. Alimentos utilizados en el levante de larvas de camarón.

Estadíos	Alimento líquido	Alimento seco
Zoea I-II y III	CD No. 1	LHF1
Zoea III – Mysis I	CD No. 1 + My 100	LHF2
Mysis I-II-III y PL I a PL IV	My100	LHF2
PL V a PL X	PL 200	LHF3
PL X en adelante	PL 400	LHF3

PL: Postlarvas.

Nota: Estos alimentos se hidratan por varios minutos y luego se hacen pasar por tamices de diferente diámetro, dependiendo del estadío al cual se le suministrará el alimento.

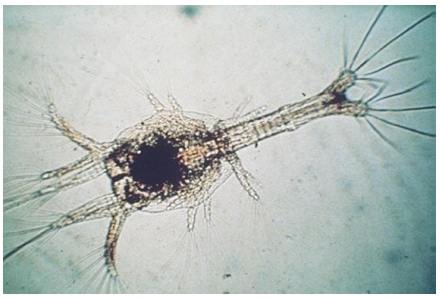
- **Generalidades sobre los estadíos larvarios:** El primer estadío larval o nauplio, se caracteriza por su fototropismo, cuerpo periforme, con tres pares de apéndices que cumplen una función natatoria. El nauplio no se alimenta del medio externo, ya que consume las reservas vitelinas; consta de cinco subestadíos, durante los dos últimos se desarrollan los apéndices bucales, entre otros, en el último estadío de nauplio V se puede evidenciar microscópicamente la formación del tracto digestivo.

Figura 6. Nauplio de *L. vannamei*.

La eficiencia en esta primera etapa de la cría depende de la cuidadosa observación e identificación de los diferentes estadíos larvales, es así como en el estadío de nauplio IV-V, se suplementa el tanque de cultivo con microalgas alrededor de 50 a 60 mil células/mililitro, ya que el tiempo de metamorfosis entre este estadío y el de zoea I es de muy pocas horas.

El segundo estadío o protozoea (zoea), se caracteriza por tener el cuerpo divido en cefalotórax y abdomen, en este aparecen tres subestadíos, el caparazón de esta fase larval sólo cubre la porción cefálica, las anténulas y antenas son los principales órganos locomotores, su desplazamiento es vertical describiendo círculos; los ojos son compuestos y pedunculados en el estadío de zoea II; el telson se halla unido al sexto somite abdominal y el número de espinas furcales permanece en un número constante de

siete. La presencia de urópodos y de espinas sobre los segmentos abdominales son característica del último estadío (zoea III).



Figirura.7. Zoea de *L. vannamei*

Después de zoea III, la larva se transforma en mysis, esta fase consta de tres subestadíos, se caracteriza fundamentalmente por el desarrollo de los periópodos provistos de setas muy largas cuya agitación permanente permite el desplazamiento del animal, que nada dorsalmente hacia atrás y boca arriba; en el estadío de mysis I, aparecen las yemas germinales de los pleópodos (apéndices nadadores), en los primeros cinco segmentos abdominales; en el estadío siguiente (mysis II) se observan pleópodos rudimentarios (no segmentados). El siguiente estadío (mysis III) se caracteriza por la presencia de un par de espinas localizadas lateralmente sobre y en la mitad del telson, el animal adquiere la forma de un pequeño camarón y desarrollan pleópodos largos (segmentados) y la primera espina rostral (Fig. 7).

Figura 8. Mysis de *L. vannamei.*

Inmediatamente después del último subestadío de mysis III, se puede observar las primeras postlarvas; aquí se evidencia un rostro largo y de extremo agudo que sobrepasa los ojos, 2-3 dientes dorsales, pleópodos birrameos (endo y exopoditos) provistos de setas muy largas que están en constante agitación, lo que le permite nadar con la cabeza hacia adelante, una de las características importante de este estadío es su condición bentónica (busca el fondo).

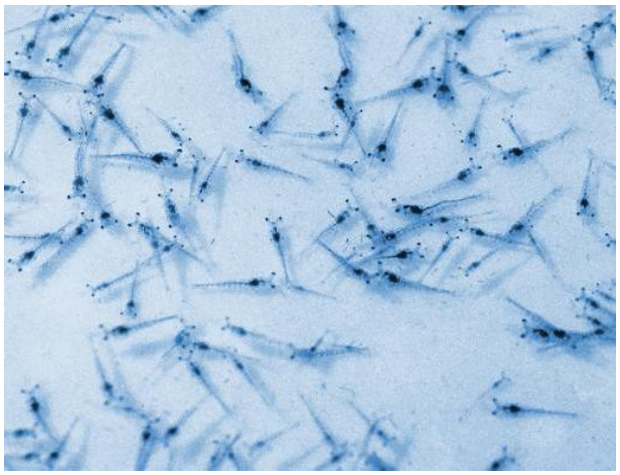


Figura 9. Larvas de *L. vannamei.*

Figura 10. Adultos de *L. vannamei.*

Durante estos estadíos (algunos más críticos que otros) se mantiene una minuciosa observación macro y microscópica del estado sanitario de la

cría y de la calidad del agua, por lo que se realizan recambios de agua diarios entre el 30% y el 50% por varios minutos dependiendo del estadío en que se encuentre la cría, para esto se utilizan filtros de 250 micrómetros hasta zoea III y de 350 micrómetros en los siguientes estadíos.

CAPÍTULO II
ARTÍCULO DE REVISIÓN

USO DE MICROALGAS PARA EL LEVANTE DE LARVAS DE CAMARÓN MARINO

Pedro Caraballo Gracia., Piedad Caraballo Gracia., Efraín Buitrago Tapía. Postlarvas del Caribe S.A., Universidad de Sucre. 2004.

RESUMEN

Para el cultivo de larvas de las distintas especies de camarón marino usualmente se requiere la producción de microalgas bajo condiciones controladas. Las microalgas más utilizadas en los primeros estadíos del camarón son: *Isochrysis, Nannochloropsis, Tetraselmis* y *Chaetoceros*, entre otras especies de tipo bentónico como *Navicula* sp. la cual se suministra a postlarvas y juveniles de camarón.

Las microalgas son un componente primordial en la dieta de muchos crustáceos, su importancia radica en la capacidad de algunas especies para producir proteínas de alta calidad, ácidos grasos polinsaturados (PUFA) e insaturados (HUFA), también proveen de pigmentos esenciales como astaxantina y carotenos, los que no son sintetizados por los crustáceos y permiten regular el crecimiento y la reproducción.

Otros aspectos importantes que hay que tener en cuenta son los parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos, así como los medios de cultivo empleados para la producción de microalgas.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la producción acuícola y la necesidad de cultivo de nuevas especies implican la producción masiva de microalgas, que son un complemento imprescindible para el desarrollo de la acuicultura puesto que sirven como alimento y también como probióticos.

La importancia de las microalgas en acuicultura no es sorprendente, ya que son la fuente de alimentación natural de muchas especies cuyo cultivo en cautividad está creciendo rápidamente como alternativa a la pesca tradicional. El contenido y calidad de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos o vitaminas de las microalgas influye enormemente en su valor nutricional (Borowitzka, 1997). Resulta especialmente significativo el contenido en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) y en carotenoides. Las microalgas enriquecidas en carotenoides como astaxantina o beta-caroteno (pro-vitamina A) son un aditivo imprescindible para la alimentación de *Litopenaeus vannamei*, puesto que la astaxantina es un carotenoide que no puede ser sintetizado por los crustáceos, por lo tanto debe ser incluido en su dieta mediante el suministro de microalgas. En el caso de los crustáceos, la astaxantina se une a una proteína formando un complejo carotenoprotéico, el cual durante el cocinado se rompe, liberando la astaxantina que es la que proporciona el color característico de los crustáceos cocinados (Lorenz, 2000).

Así mismo, muchas especies de microalgas del género *Chaetoceros* son consideradas como unas de las mejores fuentes nutritivas, gracias a su pequeño tamaño y su alto contenido de ácidos grasos insaturados (HUFA), los cuales influyen directamente en el desarrollo del sistema nervioso del camarón. También son precursores de muchos compuestos biológicos como

las prostaglandinas, que actúan directamente en la regulación del crecimiento y la reproducción (Jory, 1997).

La mayor parte de los laboratorios de producción de postlarvas, y en especial el laboratorio Postlarvas del Caribe S..A. utilizan una mezcla de alimento vivo en combinación con dietas inertes. Los principales géneros de microalgas empleadas en la alimentación de camarón marino son: *Skeletonema, Chaetoceros, Tetraselmis, Chlorella* e *Isochrysis* (Treece y Yates, 1993; Rosenberry, 1997). Cuando las larvas modifican su alimentación de herbívoros a omnívoros se han observado mejores resultados con la incorporación de rotíferos y/o *Artemia* en la dieta (Puello,1998).

Dado que los camarones peneidos son omnívoros bentónicos a partir del estadío de postlarva consumen diatomeas bentónicas como *Navicula* sp. directa o indirectamente (a través de consumidores primarios como nemátodos, rotíferos, entre otros), estas juegan un papel muy importante en la nutrición de postlarvas y juveniles de camarón (Curbelo *et al.*, 2003).

Según Alfonso y Coelho (1996), la mayoría de los laboratorios productores de postlarvas a gran escala inician los ciclos de larvicultura con la creación de un bloom de microalgas. Sin embargo, en las etapas finales del ciclo, cuando los animales alcanzan los hábitos bentónicos, se puede trabajar también con un bloom de diatomeas bentónicas; de esta manera, los animales tendrían acceso a un alimento vegetal de alta calidad en los estadíos de postlarva y se aprovecharía su alto valor nutricional; además de emplear diatomeas como *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp. y *Chaetoceros* sp. en la alimentación de la cría, también se utilizan algunas especies de fitoflagelados como *Isochrysis* sp. y *Tetraselmis* sp. (Hudinaga, 1942; Bardach *et al.,.* 1972; Kuban *et al.,* 1983; Cook y Murphy, 1966; Emerson, 1980).

Los beneficios obtenidos a partir del suplemento con alimentos de origen vegetal han hecho que se aumente el interés por mejorar los sistemas de cultivo de microalgas, con la finalidad de obtener más biomasa con menor costo.

Importancia de los medios de cultivo en la producción de microalgas

Uno de los principales factores que influyen en el mantenimiento de los cultivos masivos de microalgas en los laboratorios de producción es la utilización de medios de cultivo adecuados, económicos y de fácil preparación. Existen diferentes tipos de medios para el cultivo de microalgas, en el laboratorio P.L.C.: se utiliza el medio químico más común ("F/2" de Guillard) en él se utilizan reactivos y vitaminas de alto valor económico, pero esta inversión es de vital importancia en la producción de microalgas, por lo que hay que tener en cuenta las concentraciones de cada uno de los nutrientes que lo componen, ya que son factores limitantes para el crecimiento celular.

La mayoría de los autores coinciden en que lo más importante a la hora de obtener el bloom de algas deseado, es llevar a cabo un manejo controlado, tomando en cuenta los niveles de nutrientes y el radio de concentración hecho que ha sido demostrado por la similitud de concentraciones obtenidas en diferentes estudios realizados por Riva y Lelong (1981), Rodhouse *et al.,* (1981) y De Pauw *et al.*(1983).

En la actualidad, el "F/2" ha dado buenos resultados en la división celular de *Chatoceros* sp. en el laboratorio P.L.C., esto se puede evidenciar en los diferentes procesos desde la obtención de cepas puras hasta llegar a cultivos masivos, donde los reactivos utilizados son industriales más un fertilizante (superfosfato triple).

En el laboratorio P.L.C. se han presentado problemas con la baja producción asociadas a condiciones ambientales físicas, humanas y biológicas como contaminación por protozoarios, lo que disminuye el tiempo de retención (TR) 1 a 2 días cuando lo normal es de 3 a 4 días. Lo cual es consistente con estudios realizados por Romero *et al.* (2002), donde se reportó la disminución del TR por problemas de contaminación con protozoarios.

Por lo general el TR en el laboratorio P.L.C. es de tres días; sin embargo, cuando la producción está en su máximo nivel éste, puede ser de 1 a 2 días, debido a limitaciones espaciales de la infraestructura en tanques de cultivo masivo y del área interna (Caraballo, comunicación personal 2001); además, el TR también está sujeto a la cantidad de nutrientes requeridos por las microalgas para que alcancen su máxima división, puesto que las observaciones realizadas en el laboratorio P.L.C., muestran que la división celular de *Chaetoceros* sp. disminuye después de un TR de 4 días, como consecuencia de una deficiencia en la concentración de nutrientes producida por el consumo de las células, por lo tanto estas observaciones confirman que la disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo actúa como un factor limitante de la división celular. Estas observaciones son consistentes con estudios realizados por Romero *et al.* (2002), donde se demostró que *Tetraselmis tetartele* y *Chaetoceros carastosporum*, alcanzan la concentración máxima a los seis días de retención en los cultivos masivos; de igual forma, se determinó que la curva de crecimiento diaria para *C. carastosporum* se alcanza con un TR de 4 días, mientras que para *T. tetártele* fue mayor a 4 días.

Es de resaltar que las condiciones del medio de cultivo empleadas por Romero *et al.* (2002), difieren de las utilizadas normalmente en el laboratorio P.L.C., ya que sólo utilizan un medio de cultivo para el crecimiento en condiciones controladas y en cultivos masivos; además, estos difieren en su

composición y concentración. Por ejemplo, Griffith *et al* (1973), señalan que una proporción de 200 mg/l de nitrato de potasio en la constitución del fertilizante aumenta la concentración de *T. tetrathele* hasta 2 750 cel/mm^3 en volúmenes de 300 L. Por su parte Aquacop (1983), utilizó el fertilizante agrícola GROPLUS, en una proporción de 200 mg/L y logró concentraciones de 1 500 cel/mm^3 para este flagelado; también en recipientes de 300 L. Alfonso y Martínez (1992), señalan que se pueden esperar concentraciones de 300 cel/mm^3 al cabo de 8 ó 9 días de cultivo, con una proporción de nitrato o sulfato de amonio / superfosfato simple de 200:20 en volúmenes de 1 m^3.

Actualmente existe una gran cantidad de formulaciones de medios de cultivo para microalgas marinas, que van desde recetas sencillas hasta mezclas complejas desarrolladas recientemente (Sánchez-Saavedra, 1986). Dentro de los medios más utilizados se encuentra el "F/2" que ha mostrado ser el que mejor resultados muestra en el cultivo masivo de microalgas para la alimentación de camarones (Curbelo *et al.,* 2003; Pacheco y Sánchez, 2003; Godínez *et al.,* 2003; Naranjo *et al.*, 1999) y datos no publicados observados en el laboratorio P.L.C..

Existen varios antecedentes acerca del uso de fertilizantes agrícolas en el cultivo de microalgas marinas (Simental-Trinidad, 1999); no obstante es poco lo que se sabe sobre la calidad y rendimiento de las larvas de camarón obtenidas al ser alimentadas con microalgas cultivadas bajo estas condiciones. El uso de fertilizantes agrícolas como aporte de nutrientes ha sido utilizados para disminuir los costos económicos asociados al cultivo de microalgas; estudios realizados han determinado la eficiencia de medios de cultivo agrícola sobre el crecimiento de distintas especies de microalgas utilizadas como alimento para camarones; Pacheco y Sánchez (2003) evaluaron la calidad de la larva de *L. vannamei* al suministrar como alimento

la microalga *Chaetoceros muelleri* cultivadas en medio agrícola. En este trabajo se confirmó la posibilidad de realizar cultivos de microalgas *Chaetoceros muelleri* mediante el uso de nutrientes mayores (nitratos, fosfatos y silicatos), obtenidos a partir de fertilizantes agrícolas y además plantean que es posible obtener larvas de camarón blanco (*L. vannamei*) con alta calidad y rendimiento; sin embargo, estas larvas presentaron una menor talla (diferencia significativa) en cuanto a la longitud del cefalotórax respecto a las larvas alimentadas con fitoplancton cultivado en medio "F/2". Haciendo un balance costo-beneficio podemos darnos cuenta que el ahorro económico en medio de cultivo se ve disminuido al aumentar los costos de mantenimiento originado por el aumento del TR que se necesita para que las larvas alcancen un tamaño adecuado para su comercialización.

Manejo de parámetros físicos, químicos y físico-químicos para la producción de microalgas

- **Luz, temperatura y aireación**

  Estos son factores básicos que influyen en la vida y producción de las microalgas, la temperatura actúa como factor limitante y determina los requerimientos metabólicos, la mayoría de especies presentan un rápido crecimiento con el aumento de la temperatura hasta cierto punto (temperatura óptima), pasado el cual el crecimiento desciende precipitadamente, por lo que las altas temperaturas resultan adversas (Calderer, 2001).

  El límite de la actividad fotosintética se encuentra en los ecosistemas naturales en la línea de compensación, a donde llega el 1% de la luz de la superficie. El valor crítico es de 300 lux, un buen desarrollo comienza con 1000 lux y alcanza su máximo según la temperatura; el

rendimiento óptimo de la actividad fotosintética se logra con 5000 lux aproximadamente; por lo que hay que adaptar la temperatura al rango óptimo del hábitat natural de las microalgas, para que ésta no se convierta en un factor limitante (Wedler, 1998).

Las condiciones controladas de temperatura y luz empleadas en el área interna de la sección de microalgas del laboratorio P.L.C. están de acuerdo a los estudios realizados (Curbelo *et al.*, 2003; Pacheco y Sánchez, 2003; Godínez *et al.,* 2003; Naranjo *et al.*, 1999), en donde la temperatura está comprendida entre los 20 y 25 ºC y una intensidad de luz entre 3000 y 5000 lux; mientras que para los cultivos masivos se trabaja a temperatura ambiente, donde la fuente de luz es solar y durante la noche este factor no se proporciona, lo cual frena el proceso de fotosíntesis; en contraste encontramos estudios realizados con periodos de intensidad lumínica permanentes (Romero *et al.,* 2003) donde se proporcionan 5 lux de intensidad lumínica durante la noche. Comparando los resultados de la concentración de células obtenidas por cosecha con los del laboratorio P.L.C., se observa una diferencia de 700 a 500 células por mm^3. Estos resultados sugieren que la luz noche (5 Lux) puede jugar un papel importante en el desarrollo y crecimiento de las células cultivadas, puesto que con un TR de 6 días se estarían suministrando 30 lux adicionales al proceso de fotosíntesis; sin embargo hay que tener en cuenta que en el laboratorio P.L.C. se trabaja con un TR de 3 días.

Durante el día en el laboratorio P.L.C., la temperatura en los tanques de cultivo masivo se controla con malla sombra ubicadas en forma de techo, con el fin de disminuir el calentamiento superficial del agua producido por la incidencia directa de los rayos del Sol. Ensayos realizados (P.LC. datos no publicados) indican que un aumento en la

temperatura por encima de los 30 ºC produce una disminución en el número de células; por estas razones se recomienda que para el cultivo de microalgas se debe utilizar sistemas de aireación que permitan un constante intercambio gaseoso que ayude a mantener las células en suspensión para evitar la formación de agregados celulares que puedan dificultar el acceso a los nutrientes y a la luz de tal forma que se evite la estratificación termal y la prevalencia de condiciones de anaerobiosis (Romero *et al.,* 2002).

- **Altura de la columna de agua en los tanques de cultivo masivo.**

Estudio realizados por De Pauw *et al.* (1980) y Riva y Lelong (1981) sugieren que la profundidad de los tanques para obtener óptimos resultados puede estar entre 0.25 m y 1 m; sin embargo, los resultados obtenidos por Romero *et al.* (2002) demuestran que los mejores resultados (1283, 1285 y 1302 cel/mm^3) en el desarrollo fitoplanctónico se produjo donde se sembró a una altura de 50 cm, esto se debe a que a menor profundidad se facilita el contacto con la luz.

Actualmente, en el laboratorio P.L.C. no se tienen en cuenta estas variables, aun así, los niveles de productividad son aceptables; por lo tanto sería bueno realizar ensayos variando la altura de la columna de agua, como lo recomienda Romero *et al.* (2002), y verificar si la cantidad de biomasa celular aumenta, esto puede permitir un ahorro de reactivos y nutrientes al final de cada ciclo, ya que la cantidad de medio está relacionada con el volumen de siembra. Estas pruebas se pueden hacer en los periodos de menor producción, debido a la infraestructura y a la demanda de fitoplancton en el área de cría.

- **Potencial de Hidrógeno (pH) y Dióxido de Carbono (CO2)**

Estos son factores limitantes en la producción de microalgas, el pH se debe mantener cercano a 8, que es el rango óptimo para especies de algas marinas, este se puede variar mediante aireación con dióxido de carbono y con nutrientes a base de nitrógeno (KNO_3, hacia alcalino y $(NH4)_2SO_4$ hacia ácido) (Wedler, 1998).

Puesto que el CO_2 es la molécula que aporta el átomo de carbono para la fotosíntesis de las microalgas, en el laboratorio P.L.C., se puede evaluar el efecto de la concentración de CO_2 sobre el número de células producidas suministrándolo en pequeñas cantidades a través de los sistemas de aireación (Romero *et al.,* 2002), el suministro se debe hacer teniendo en cuenta el ritmo diurno de la fotosíntesis y la respiración de las microalgas, ya que en la noche domina la producción de CO_2 (Wedler, 1998).

- **Salinidad**

La presión osmótica interna de los fluidos de las microalgas difiere en mayor o menor grado de la del agua que los rodea. En las algas marinas las sales de su fluido celular se encuentran más diluidas que el agua de mar, por lo tanto, mediante la osmoregulación las microalgas son capaces de controlar el agua y la concentración de electrolitos de su fluido interno dentro de límites estrechos, aún cuando las células se exponen a diversas concentraciones de salinidad, de aquí la importancia de controlar y determinar los rangos óptimos de salinidad (Calderer, 2001).

La salinidad utilizada en condiciones de cultivo depende de la tolerancia de las especies de algas, en el caso de la cepa de *Chaetoceros* sp. que se emplea en el laboratorio P.L.C., se ha encontrado que éstas se desarrollan en rangos de salinidad de 30‰ en área interna y hasta 36‰ en cultivos masivos (máxima concentración con la que se trabaja), cuando la concentración de salinidad del mar es superior, se baja con agua dulce. Después de varios ensayos a 35 y 36‰ en los cultivos masivos se obtuvieron buenos resultados en la producción de microalgas (datos no publicados, laboratorio P.L.C.), esto permite un ahorro significativo en los costos de producción, por tal razón se recomienda realizar estos ensayos en el área de producción interna.

Curbelo *et al.* (2003), variando las concentraciones de salinidad a 30, 35 y 40‰ encontraron que el mejor rango de crecimiento para *Navicula* sp. está comprendido entre 30 y 35‰, donde 35‰ fue considerada como la salinidad óptima, puesto que a esta concentración se alcanzaron los valores más altos de producción, estos resultados están de acuerdo con los parámetros de salinidad trabajados en el laboratario P.L.C.

La mayoría de las especies microalgales tienen tolerancias entre 28-34‰, lo que se confirma para *Navicula* sp. (Curbelo *et al.* 2003) y *Chaetoceros* sp. (datos no publicados, laboratorio P.L.C.); sin embargo, algunas especies aisladas de mar abierto no crecen bien a rangos bajos de salinidad, mientras que especies neríticas y estuarinas se pueden mantener a 20‰ o menos (Smith & Chanley, 1975).

Villalaz y Gómez (1984), estudiaron el crecimiento de algas bajo diferentes concentraciones salinas y determinaron que *Thalassiosira pseudomona* alcanza buenas concentraciones a 30 y 35‰ de salinidad; mientras que *C. calcitrans* mostró concentraciones ascendentes a 30‰ y se encontró que *C. gracilis* crece bien a salinidades de 30, 25 y 20‰, aunque el crecimiento disminuye ligeramente en la medida que se baja la salinidad; sin embargo, Liao *et al.* (1983), plantean que *C. gracilis* presenta crecimiento hasta 50‰, siendo su óptimo entre 17 y 25‰.

Papel de las microalgas en la cría de camarón marino

La mayor parte de los laboratorios de producción de postlarvas utiliza la mezcla de alimento vivo en combinación con dietas inertes. Los principales géneros de microalgas empleadas en la alimentación son *Skeletonema, Chaetoceros, Tetraselmis, Chlorella* e *Isochrysis* (Treece y Yates, 1993; Rosenberry, 1997 y Romero *et al.*, 2002). Las dietas bialgales en la alimentación de larvas de camarón presentan mejores resultados que el suministro de una sola especie debido al complemento de nutrientes que presenta una microalga con otra (Godínez *et al.,* 2003).

Las microalgas juegan un papel predominante en el desarrollo de la acuicultura, ya que constituyen el primer alimento vivo para las fases tempranas de desarrollo de casi todos los organismos cultivados, siendo altamente nutritivas y fácil de ingerir debido al tamaño que presentan (Brown *et al.,* 1997). Muchas especies de microalgas del género *Chaetoceros* son consideradas como unas de las mejores fuentes nutritivas gracias a su pequeño tamaño y su alto contenido de ácidos grasos insaturados (HUFA), los cuales influyen directamente en

el desarrollo del sistema nervioso del camarón, también son precursores de muchos compuestos biológicos como las prostaglandinas que influyen directamente en la regulación del crecimiento y reproducción (Jory, 1997).

La diatomea *Chaetoceros calcitrans* es una de las primeras microalgas con las que se empezó a estudiar la efectividad del alimento natural y la más importante fuente de alimento en el subestadío de zoea en los camarones peneidos (Liang, 1985).

Chaetoceros muelleri es una especie de microalga ampliamente utilizada en la camaronicultura, para la alimentación de larvas, debido a su tamaño, rápido crecimiento y su valor nutricional; además, esta especie de microalga se ha caracterizado por tener un alto contenido de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) (Treece, 1993).

Pacheco y Sánchez (2003), evaluaron la sobrevivencia de larvas de *L. vannamei* al suministrar como alimento exclusivo la microalga *Chaetoceros muelleri* y se encontraron valores de sobrevivencia de 39.37 y 34.64% al estadío de postlarva I (PLI). En contraste, en el laboratorio P.L.C. se obtiene porcentajes de sobrevivencia de 60 a 65% que son significativamente diferentes; cuando se trabaja en condiciones de temperatura superiores (30-31ºC) se han obtenido tasas de sobrevivencia que alcanzan hasta un 80%, probablemente la diferencia sea que en el laboratorio P.L.C. se proporciona *Artemia,* microencapsulados y dietas líquidas; además, diariamente se hacen recambios diarios de agua que estimulan el desarrollo y se utilizan antibióticos como medidas preventivas y de control.

Investigaciones similares demuestran que la alimentación con *Chaetoceros gracilis* produce porcentajes de sobreviviencia de 55% en comparación con datos obtenidos con *Chaetoceros gracilis* en combinación con *Dunaliella* sp. que fue de 52%; cuando se utilizó *Isochrysis galbana* más *Artemia* sp. e *I. galbana* sin *Artemia* sp., se observaron porcentajes de sobrevivencia de 43 y 40% respectivamente, cuando *Artemia* sp. no fue adicionada, la condición de la larva fue muy débil. La sobrevivencia más baja reportada se obtuvo cuando se utilizó *Dunaliella* sp. más *Artemia* sp. En cuanto al tamaño de las larvas, se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) a partir del estadío de zoea II (ZII); el tamaño más alto a PLI se obtuvo en los tratamientos donde se utilizó *I. galbana* más *Dunaliella* sp. e *I. galbana* más *C. gracilis* (5.32 y 5.31 mm, respectivamente) (Naranjo *et al.*, 1999).

Es evidente un retraso para la velocidad de metamorfosis de las larvas en los tratamientos en los que *C. gracilis* no fue utilizada. Donde se utilizó esta microalga las larvas alcanzaron el estadío de PLI en 14 días, excepto en el tratamiento donde se utilizó *C. gracilis, I. galbana* y *Dunaliella* sp. (15 días) y *Dunaliella* sp. Los tratamientos con *I. galbana* con y sin *Artemia* sp. tardaron 17 días en llegar al estadío de PLI (Naranjo *et al.*, 1999); en contraste en el laboratorio P.L.C., el estadío de PLI se alcanza en 10 días, esto puede ser consecuencia de las condiciones de cultivo, como: alimentación complementaria, parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos, recambios de agua, especie de microalgas y de camarón. Esto es importante porque al completar el desarrollo larval en menor tiempo representa un ahorro significativo.

La variabilidad en resultados obtenidos con diferentes microalgas y distintas especies puede ser atribuido a las variaciones estacionales en la calidad de la microalga, y a la fase de cultivo en que se utilice. Guillard (1975) mencionó que la mejor composición bioquímica o nutricional de una microalga se presenta cuando ésta alcanza la fase exponencial de cultivo, por lo que lo anterior debe también ser evaluado en futuros ensayos en el laboratorio P.L.C. (Encinas y García, 1992), reportaron variabilidad estacional para *C. gracilis* e *I. galbana*, registrando una tendencia significativa a presentar mayor producción de biomasa durante el invierno, de igual manera la composición bioquímica se eleva en dicha estación sobre todo para el caso de carbohidratos, seguido de lípidos y en menor medida para proteínas .

En general se han reportado buenos resultados en cuanto a sobrevivencia y metamorfosis, cuando se hace uso de diatomeas como fuente de alimento para larvas de camarón. Kuban *et al.* (1985), utilizaron fitoflagelados (*Isochrysis* sp. y *Tetraselmis chuii*) y encontraron que los intervalos de sobrevivencia no fueron mejorados para *P. aztecus*, *P. vannamei, P. setiferus* y *P. stylirostris*. Cook y Murphy (1996), observaron un incremento en la sobrevivencia de *P. aztecus* cuando las larvas se alimentaron con *Skeletonema* sp. Sin embargo, *Isochrysis* sp., ha sido utilizada exitosamente en pruebas anteriores para *P. californiensis* (García, 1994; Porchas, 1996).

Otros estudios como el de Godínez *et al.* (2003), reportan que la concentración óptima de *Chaetoceros calcitrans* es de $90x10^3$ células/ml^{-1} y que un aumento por encima de este valor no tiene efecto significativo sobre los porcentajes de ingestión y sobrevivencia en *Litopenaeus stylirostris,* ya que un mayor suministro en la

concentración de alimento en los tanques de cultivo no asegura una alta supervivencia; estos resultados son consistentes con lo reportado por Naranjo *et al.* (1996) con *Farfantepenaeus californiensis,* los cuales utilizaron combinaciones de *Chaetoceros* sp, *Isochrysis galbana* y *T. suecica* en concentraciones desde 100 a 200x10^3 cél/ml^{-1} de cada una, obteniendo porcentajes de supervivencia desde 21,6 a 24,8% hasta la etapa de postlarva. En el laboratorio P.L.C. se comparte este mismo criterio por lo que la cantidad de alimento a suministrar está sujeta a varios factores como turbidez del agua, ingestión, densidad de animales, estos controles permiten evitar gastos innecesarios.

Otro factor importante en la ingestión de microalgas es el estadío larval del camarón puesto que Godínez *et al.* (2003), demostraron que en la transición del subestadío mysis III al de postlarva es donde se presentan mayores tasas de ingestión, adicionalmente en el estadío de postlarva reportaron una disminución en la ingestión desde 27 hasta 43%. En el laboratorio P.L.C. no se tiene un dato exacto del estadío en que se logra la mayor tasa de ingestión, pero se ha observado una disminución en la tasa de ingestión en los estadíos de postlarva, esta reducción es atribuible a los cambios fisiológicos que sufren las larvas en su proceso de metamorfosis, donde adquieren hábitos bentónicos, carnívoros y omnívoros. Dado que los camarones peneidos son omnívoros bentónicos a partir del estadío de postlarva consumen diatomeas bentónicas, tanto directa como indirectamente (a través de consumidores primarios como nemátodos y rotíferos), por lo tanto juegan un papel muy importante en la nutrición de postlarvas y juveniles de camarón (Curbelo *et al., 2*003).

Según Alfonso y Coelho (1996), la mayoría de los laboratorios productores de postlarvas a gran escala inician los ciclos de larvicultura con la creación de un bloom de microalgas. Sin embargo, en las etapas finales del ciclo, cuando los animales alcanzan los hábitos bentónicos, también se puede trabajar con un bloom de diatomeas bentónicas; de igual forma Curbelo *et al.* (2003) proponen la utilización de microalgas bentónicas (*Navicula* sp.) que adaptaron a condiciones controladas de cultivo para alimentación de postlarvas de camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*), esto puede permitir disminuir los costos de producción.

Algunos dueños de laboratorios de cría de larvas en el Ecuador han comentado la aparente mejoría en el crecimiento de las postlarvas y su aspecto general cuando se emplea un bloom de diatomeas bentónicas para alimentar este estadío y aunque son observaciones subjetivas no se han hecho esfuerzos por usar activamente y de forma generalizada cultivos de *Navicula, Cymbella* y *Amphora* para sustituir y disminuir el uso de alimentos complementarios (Griffith *et al.,* 1992). Se sabe que en los laboratorios de producción de postlarvas de camarón de Ecuador y Brasil han sido usadas con éxito diatomeas bentónicas de los géneros *Navicula* y *Amphora* para *Litopenaeus vannamei* (Curbelo *et al.,* 2003).

Las diatomeas bentónicas en cultivo tienen la capacidad de colonizar toda la superficie del reservorio donde habiten y de formar pequeños grumos o colonias de células suspendidas en el agua, formando así partículas de diferentes tamaños asequibles para la alimentación de estos estadíos postlarvales de camarón; además, el valor nutricional más importante de estas diatomeas, es el alto contenido de lípidos (Griffith *et al.,* 1992).

Los retos en el área de biotecnología están dirigidos al desarrollo de microalgas transgénicas con mejores cualidades nutricionales, mayor capacidad de crecimiento y a la producción de vacunas recombinantes para la inmunización de crustáceos u otras especies de interés acuícola (Leon *et al.*, 2003).

Control bacteriológico en sistemas acuícolas

En el laboratorio P.L.C. poco se ha tenido en cuenta los beneficios producidos por la adición de probióticos y se hace un control bacteriológico con antibióticos y recambio de aguas para evitar pérdidas asociadas a la presencia de bacterias patógenas; sin embargo, en los sistemas de producción acuícola es imposible trabajar con cultivos microalgales axénicos, debido a que las células de microalgas secretan substancias que estimulan el crecimiento bacteriano (Servais y Billen, 1993; Munro *et al.*, 1995), por lo tanto el alimento utilizado en los sistemas de cultivos es mixto y está compuesto por una especie de microalga y una o varias bacterias asociadas (dependiendo de la especie de microalga cultivada). El papel de las bacterias asociadas en sistemas de cultivos masivos de microalgas ha sido estudiado, ya que los cultivos mixtos microalga-bacteria son fácilmente ingeridos y digeridos por los organismos, provocando mayor crecimiento e incrementando la sobrevivencia de los organismos cultivados, siempre y cuando no se trate de bacterias patógenas o microalgas tóxicas (Riquelme *et al.,* 2003)

Un ejemplo de la utilización de microalgas para controlar la mortalidad de larvas es el empleo de “aguas-verdes”, que ha sido utilizado en el cultivo de camarones para prevenir enfermedades causadas por

bacterias luminosas como *Vibrio harveyi* (Corre *et al.*, 2000). Los resultados de las experiencias sugieren que agua de cultivo con la incorporación de *Chlorella* es efectiva contra *V. harveyi*, siendo eliminado en un periodo de 3 días postinoculación (Tendencia y De La Peña, 2003).

De acuerdo a Riquelme *et al.* (2003) la interacción bacterias/microalgas, constituyen una alternativa para el control de proliferaciones de bacterias y fitoplancton causantes de efectos dañinos en ambientes naturales y sistemas cerrados de cultivo; además, el conocimiento de interacciones específicas entre bacteria-microalga permite la optimización de sistemas productivos para la acuicultura disminuyendo los costos, facilitando el manejo, reduciendo el uso de antibióticos y otros químicos que causan deterioro ambiental. Sin embargo, el mecanismo de estas interacciones es pobremente entendido. Futuras investigaciones deberían ser dirigidas a entender el modo de acción de las interacciones bacteria-microalga a nivel molecular.

CONCLUSIONES

- En el laboratorio P.C.L. se trabaja de acuerdo con las tendencias globales en la producción de microalgas para el levante de larvas de camarón marino (*Litopenaeus vannamei*); sin embargo, hay aspectos que se pueden mejorar mediante la implementación de las recomendaciones realizadas a lo largo de esta revisión.

- La fuente de alimento vivo más importante en los primeros estadíos larvarios del camarón son las microalgas.

- El medio de cultivo más común y eficaz empleado para la producción de microalgas es el "F/2" de Guillard, sin embargo los medios agrícolas se proponen como una alternativa relativamente económica para los pequeños productores.

- El suministro de microalgas bentónicas en el estadío de postlarvas constituye una alternativa nutricional que puede disminuir costos en la producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFONSO E, COELHO M. 1996. Manejo da larvicultura. En: Gesteira TCV, Nunes AJP (eds). Manual do Curso Internaciona Produção de Pós-larvas de Camarão Marinho, CYTED-UFSC, Departamento de Aquicultura, Laboratório de Camarões Marinhos, Florianópolis, Brasil,:132- 152.

ALFONSO E, MARTÍNEZ L. 1992. Cultivo de fitoplancton marino con fertilizantes inorgánicos comerciales. Rev. de Inv. Marinas. La Habana.13(1):81-6

AQUACOP. 1983. Algal food culture at the Centre Oceanologique du Pacifique. En: CRC Handbook of Mariculture . Ed. J. P. McVey. Crustacean Aquaculture. Boca Rat.

BARDACH, J., RYTHER J. y MCLARNEY W. 1972. Aquaculture: The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms. Wiley Interscience, Nueva York. 868 pp.

Borowitzka. Microalgae for aquaculture: Oportunities and constraints. J. App. Phycol 1997; 9:393-401

BROWN M, JEFFREY S, VOLKMAN J. y DUNSTAN G. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture 151: 315-331.

CALDERER A. 2001. Influencia de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento y consumo de oxígeno de la dorada (*Sparus aurata* L.) Departament de Biologia Animal. Universidad de Barcelona.

COOK, H. y MURPHY M. 1966. Rearing penaeid shrimp from eggs to postlarvae. Proc. Conf. Southeast Assoc. Game Comm. 19: 283-288.

CORRE VI, JANEO R., CAIPANG C. y CALPE A. 2000. Use of probiotics and reservoirs with "green water". Aquaculture Asia V 2: 34-38.

CURBELO R., LEAL S., NÚÑEZ N., QUINTANA P., BENGUELA I., MUÑOZ D. y ALMAGUER Y. 2003. Cultivo de la microalga bentónica *Navicula* sp. para la alimentación de las primeras postlarvas de Camarón Blanco *Litopenaeus schmitti*. Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura 310-319

DE PAUW N, VERBOVEN J, CLAUS C. 1983. Large scale microalgae production for nursery rearing of marine bivalves. Aquacultural Engineering. 2:27-47

EMERSON, W. 1980. Ingestion, growth and development of *Penaeus indicus* larvae as a function of *Thalassiosira weissfloggi* cell concentration. Mar. Biol. 58: 65-73.

ENCINAS A. R. y García A. 1992. Composición bioquímica de dos especies de microalgas, durante invierno y primavera en un sistema de

producción de larvas de ostión. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora, México. 83 pp.
GODÍNEZ D., HERNÁNDEZ A., OROZCO J. y GODÍNEZ E. 2003. Valoración entre la tasa de ingestión y la supervivencia de larvas de camarón azul *Litopenaeus* stylirostris (Stimpson, 1871) nutridas con diferentes concentraciones de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen). Zootecnia Trop., 21(2):133-147.
GRIFFITH D. LABORDE E, WIGGLESWORTH J. 1992. Biological and economic of penaeid larval rearing using benthic diatoms. Memorias I Congreso Ecuatoriano de Acuicultura, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Ecuador. 101-105.
GRIFFITH G, KENSLOW M, ROSS L. 1973. A mass culture method for *Thetraselmis* sp. a promising food for larval crustaceans. World Maricult. Soc.:4:289-94
GUILLARD R. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp. 29-60. In: W.L. Smith and M.H. Chanley (Editors), Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum, Nueva York.
HUDINAGA M. 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jpn. J. Zool. 10: 305-393.
JORY D. 1997. Penaeid shrimp hatcheries: Part III, Larval rearing; Article. Aquaculture Magazine, 23 (1): 67-75.
KUBAN F., WILKENFELD J.y LAWRENCE A. 1983. Survival and growth of *Penaeus setiferus* L. and *Penaeus aztecus* Ives larvae fed *Artemia* beginning at the protozoea two substage versus the mysis-one substage. J. World Maricult. Soc. 14: 38-48.
León R., Vila M., Quijano E., González-Ballester D., Galván A, Fernández E. 2003. Manipulación genética de microalgas para su utilización en la alimentación de especies de interés acuícola. Segundo Congreso iberoamericano Virtual de Acuicultura, 504-511 .
Liang I. 1985. growth response of *Chaetoceros calcitrans* (*Bacillariophyceae*) in batch culture to a range of initial silica concentrations. Marine Biology, 5(1) 37-41.
LIAO I, SU H, LIN J. 1983. Larval foods for penaeid prawns. In: MCVEY JP (ed.) Handbook of Mariculture. vol. 1: Crustacean Aquaculture, pp:43-69.
LORENZ y CYSEWSKI. 2000. Commercial potential for Haematococcus unicellular algae as a source of natural astaxanthin. Trends in Biotechnol.; 18:161.
MUNRO P, BARBOUR A y Birkbeck T. 1995. Comparison of the growth and survival and larval turbot in the absence of cultivable bacteria with dose in the presence of *Vibrio anguillarum, Vibrio alginolyticus* or a marine *Aeromonas* sp. Applied and Environmental Microbiology 61: 4425-4428.
NARANJO J., PORCHAS A., ROBLES M., MAGALLÓN F., VALDEZ J. y VILLARREAL H. 1999. Sobrevivencia, metamorfosis y crecimiento de larvas del camarón Penaeus californiensis (Decapoda: Peneidae)

alimentadas con diferentes microalgas. Rev. biol. trop v.47 n.4 San José dic.
NARANJO, P., ARAGÓN N., MAGALLÓN B. y Portillo G. 1996. Producción de postlarvas de camarón café Penaeus californiensis en tanques semi comerciales. Oceanología. 2(10): 73-81.
PACHECO J. Y SÁNCHEZ M. 2003. Evaluación de la calidad de la larva de *L. vannamei* al suministrar como alimento la microalga *C. muelleri* cultivada en un medio agrícola. Segundo Congreso iberoamericano Virtual de Acuicultura; 703, 710.
PUELLO C. 1998. Requerimientos nutricionales de larvas de camarón. 16 pp; En: Memorias del Curso Internacional Sobre Alimentación en Camarón. Asociación Americana de la Soya, Universidad Autónoma de Nuevo León, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo; Mazatlán, Sin. México
RIQUELME C. RUBÉN E. y AVENDAÑO-HERRERA E. 2003. Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. Revista Chilena de Historia Natural 76: 725-736.
RIVA A, LELONG P. 1981. Growth of juvenile bivalve molluscs associated with continuous cultures of natural marine phytoplankton (Western Mediterranean, France). European Mariculture Society, Special Publication. 7:253-68
RODHOUSE P, OTTWAY B, BURNELL G. 1981. Bivalve production and food chain efficiency in an experimental nursery system. Marine biological Association. U. K. 61:243-56
ROMERO T., TORRES B., GARCÍA B., PACHECO A. 2002. Estado de los cultivos masivos de microalgas en el Centro de Desove de CALISUR (Cuba). Segundo Congreso iberoamericano Virtual de Acuicultura, 617-628.
Rosenberry, B.1997. World Shrimp Farming. 284 pp.
SÁNCHEZ-SAAVEDRA M. 1986. Diseño de un biodigestor aeróbico de alimentación periódica y utilización de los nutrientes producidos para el cultivo de microalgas. Tesis de Maestría en Ciencias. Mexico: Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada.
SERVAIS P y G BILLEN. 1993. Dynamic of heterotrophic bacteria in aquatic system: the HSB model. En: Guerrero G & C Pedrós-Alió (eds) Trends in microbial ecology: 397-400. Spanish Society for Microbiology Publisher, Barcelona, Spain.
SIMENTAL-TRINIDAD J. 1999.Producción masiva de diatomeas bentónicas empleando fertilizantes agrícolas y su efecto en la calidad de biomasa y en la composición proximal. Tesis de Maestría en Ciencias. México: Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada.
SMITH W, CHANLEY M. 1975. Culture of Marine Invertebrates Animals,:29-60.

Tendencia Ea & M de la Peña. 2003. Investigation of some component of green water system which makes it effective in the initial control of luminous bacteria. Aquaculture 218: 115-119.
TREECE G, FOX J. 1993. Design Operation and Training Manual for an Intensive Culture Shrimp Hatchery (With Emphasis *on Penaeus monodon* and *Penaeus vannamei*). Manual de laboratorio para el cultivo de larvas de camarón Peneido. Texas A&M University; Texas, U.S.A. 83 pp.
VILLALAZ J, GÓMEZ J. 1984. Estudio del crecimiento de algas bajo diferentes concentraciones salinas. Universidad de Panamá, 14 pp.
WELDER E.1998. Introducción en la acuacultura con énfasis en los neotrópicos . Universidad del Magdalena, 388 p.