



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA PESQUERA

TECNICAS DE CULTIVO DE

***Dunaliella salina* (Teoderesco)**

CON PROPÓSITO ACUÍCOLA

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE INGENIERO PESQUERO

ERICKSON JOSUÉ SUAREZ ALVA

CALLAO, Enero 2012

PERÚ

Id. Exemplar: 39034

**TECNICAS DE
CULTIVO DE
Dunaliella salina
(Teoderesco) CON
PROPÓSITO
ACUÍCOLA**

DEDICATORIA

Es un poco difícil realizar una dedicatoria, pues es mucha gente la que ha ayudado para que pueda llegar a este punto de mi trayectoria universitaria, sin embargo esta Tesis va en especial dedicación a mis padres, Rolando y Julia por su temple de soportar y apoyar sin restricciones a su primogénito. A mis hermanos, Antonio y Pedro, quienes contribuyen día a día a esforzarme por ser mejor persona y un ejemplo para ellos.

A mi tía Ofelia, mis abuelos y mi seres queridos que desde el cielo iluminan mi camino hacia el éxito de mi vida.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a mis padres Rolando y Julia, quienes han sido un apoyo moral y económico para lograr este fin. Gracias por su paciencia.

Agradezco a todos quienes han colaborado en esta tarea. Especialmente a mis profesores de la Facultad de Ing. Pesquera de la UNAC, a mi asesor Ing. Roberto Quesquen y su esposa

Al IMARPE, en especial a la Blga. Carla Aguilar a quien con su apoyo insto a no flaquear y continuar, a mi tío Walter Suárez quien es un gran amigo y a su familia.

A mis amigos que siempre me han acompañado para llevar a buen término mi carrera y a mis compañeros de trabajo que día a día aprendo mucho de ellos.

INDICE DE CONTENIDOS

Resumen

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1. Antecedentes.....	13
1.2. Planteamiento del problema.....	17
1.3. Objetivos.....	18
1.3.1. Objetivo general.....	18
1.3.2. Objetivo específico.....	18
1.4. Justificación.....	19
1.4.1. Justificación teórica.....	19
1.4.2. Justificación tecnológica.....	21
1.5. Marco conceptual.....	23
1.5.1. Desarrollo de la acuicultura en el Perú.....	26
1.6. Hipótesis.....	28
1.7. Variables.....	28
1.7.1. Variables independientes.....	28
1.7.2. Variables dependientes.....	28

CAPITULO II

2. REVISION LITERARIA.....	29
2.1. Biología de <i>Dunaliella salina</i> (Teoderesco).....	29

2.2.	Clasificación taxonómica de la especie	
	<i>Dunaliella salina</i> (Teoderesco).....	30
2.2.1.	Efecto de las condiciones físico-químicas en	
	su fisiología.....	30
2.2.1.1.	Salinidad.....	31
2.2.1.2.	Efecto de la intensidad luminosa.....	32
2.2.1.3.	Temperatura.....	32
2.2.1.4.	Limitación de nutrientes.....	33

CAPITULO III

3.	METODOLOGIA.....	37
3.1.	Tipo de investigación.....	37
3.2.	Nivel de investigación.....	37
3.3.	Diseño de investigación.....	38
3.3.1.	Variables del diseño experimental.....	38
3.3.2.	Diseño experimental de series cronológicas.....	38
3.3.3.	Diseño factorial para la determinación del	
	número de pruebas.....	38
3.4.	Población.....	39
3.4.1.	Características.....	39
3.4.2.	Limitación.....	39
3.4.3.	Ubicación espacio temporal.....	40
3.5.	Muestra.....	40

3.6.	Descripción de la experimentación.....	40
3.6.1.	Instalación del sistema de cultivo.....	40
3.6.1.1.	Instalación de los estanques.....	40
3.6.1.2.	Instalación del sistema de aireación.....	41
3.6.1.3.	Instalación del sistema de iluminación.....	42
3.6.1.4.	Recubrimiento del sistema.....	42
3.6.2.	Preparación del medio de cultivo.....	43
3.6.2.1.	Limpieza y esterilización del material.....	43
3.6.2.2.	Agua de mar tratada.....	43
3.6.3.	Condiciones del sistema de cultivo masivo.....	45
3.6.3.1.	Cultivo inicial.....	45
3.6.3.2.	Cultivo intermedio.....	46
3.6.3.3.	Cultivo masivo.....	47
3.6.4.	Materiales y equipos.....	48
3.6.4.1.	Materiales de vidrio y plástico.....	48
3.6.4.2.	Equipos.....	49
3.6.4.3.	Otros.....	49
3.7.	Técnicas de recolección de datos.....	50
3.7.1.	Muestreo inicial.....	50
3.7.2.	Muestreo durante el cultivo.....	51
3.7.3.	Observación microscópica.....	51
3.8.	Instrumentos de recolección de datos.....	51
3.8.1.	Muestra y análisis de la población algal.....	51

3.8.1.1.	Control de variables.....	51
3.8.1.2.	Toma de la muestra.....	51
3.8.1.3.	Conteo de número de células.....	52
3.9.	Procesamiento de datos.....	52
3.9.1.	Análisis estadístico.....	52
3.10.	Análisis y presentación de resultados.....	53
3.10.1.	Del análisis de población algal.....	53
3.10.2.	Del análisis estadístico.....	53

CAPITULO IV

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
4.1.	Resultados.....	55
4.1.1.	Evaluación a la salinidad de 1.5 M.....	55
4.1.2.	Evaluación a la salinidad de 2.5 M.....	57
4.2.	Discusión.....	61

CAPITULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	64
5.1.	Conclusiones.....	64
5.2.	Recomendaciones.....	66

CAPITULO VI

6.	GLOSARIO Y FUENTES DE INFORMACIÓN.....	67
-----------	---	-----------

6.1. GLOSARIO.....67

6.2. FUENTES DE INFORMACIÓN.....83

ANEXOS

TABLAS Y FIGURAS

RESUMEN

El crecimiento de los problemas al que se enfrenta la humanidad es proporcional al crecimiento poblacional. El déficit energético, de los alimentos, de agua, de terreno habitable y productivo, de medicamentos, junto a otros reglones, aumenta de manera tal que se hace imprescindible la búsqueda de nuevas fuentes de recursos que permitan disponer de materia prima para el constante desarrollo y preservar la existencia de los seres vivos.

Entre las posibilidades mundialmente reconocidas como fuente de diferentes productos de gran utilidad esta la utilización de microorganismos y en particular las microalgas, como una opción proteica con balance adecuado de aminoácidos, vitaminas y minerales y como fuente de colorantes, viscosantes, combustibles, medicamentos, edulcorantes, aditivos alimenticios y de materia prima para la fabricación de cosméticos y fármacos.

Dunaliella salina (Teoderesco), es una microalga halófila que se conoce por su actividad antioxidante de gran interés comercial y tecnológico, es usada en la acuicultura, industria alimentaria y química. Responsable de que las salinas se vean rojizas, ya que es una gran productora de carotenoides, especialmente de beta-caroteno. Son las condiciones de estrés salino y radiación solar, lo que hace esta gran reacción.

El presente trabajo está enfocado en estandarizar un sistema de cultivo y las condiciones de cultivo, para encontrar la forma eficiente del cultivo masivo en laboratorio y luego llevarlo a uso en la acuicultura, para esto se enfoco las salinidades de 1.5 M (S ‰ 87.75) y 2.5 M (S ‰ 146.25) en tres tipos de estanques de materiales de vidrio, plástico translúcido y plástico de color blanco. Se empleo luz artificial a $141 \mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ (7,200 lux) por estantería en el sistema de cultivo durante el periodo de cultivo favoreciendo notablemente en la producción masiva algal de la microalga.

En la salinidad de 1,5 M la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) muestra poca diferencia de rendimiento de la producción algal masiva con los tres diferentes materiales de estanques. La densidad algal llegó a 9.849.000 cel. /ml. La tasa de crecimiento a la salinidad de 1,5 M se mantiene óptima hasta el cuarto día. Su velocidad de crecimiento alcanzó a 0,0271 generaciones /hora y el tiempo de generación de 36.96 horas /generación.

En la salinidad de 2,5 M la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) muestra poca diferencia de rendimiento de la producción algal masiva con los tres diferentes materiales de estanques. La densidad algal llegó a 4.410.000 cel./ml. La tasa de crecimiento a la salinidad de 2,5 M se mantiene optima hasta el tercer dia. Su velocidad de crecimiento alcanzó a 0,0214 generaciones/hora y el tiempo de generación de 46.81 horas/generación.

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES

El cultivo de microalgas se inicio en la década de los 90 del siglo XIX cuando el alemán Miquel promovió el crecimiento de algunas diatomeas en laboratorio. Otros autores contemporáneos a Miquel, como Noll, Oltman y Nolisch enriquecieron el agua dulce y el agua de mar con sales inorgánicas (nitrógeno y fósforo) o con soluciones minerales, para cultivar algunas especies algales (Cifuentes, 1985). Muchos de estos organismos, aun cuando crecían libres de bacterias requerían solo de sales inorgánicas para su crecimiento, hecho que llevó a pensar que las algas, al igual que las plantas superiores, eran estrictamente fotoautótrofas. Este argumento se afianzó aun más cuando las técnicas bacteriológicas descubiertas por Koch fueron aplicadas para aislar algas (Robert, R. y P. Trintignac. 1997).

Posteriormente, algunos algólogos observaron que ciertas especies de algas necesitaban además de minerales, compuestos orgánicos como los azúcares, sales orgánicas, vitaminas, (Korringa P. 1976). Enseguida surgieron innumerables modificaciones de las primeras soluciones nutritivas propuestas por Miquel. De otro lado se inicia cultivos unialgales a partir de zoosporas aparentemente, fue el primero en obtener cultivos de microalgas libres de bacterias bajando el pH del medio (Foyens, B. 1934).

Una de las investigaciones científicas sostenidas más notables del cultivo de microalgas fue dirigido por la Institución Carnegie de Washington a finales de los años 1940 hasta los años 1960 (Burlew, J.S. 1953), sobre todo de la Clorofila *Chlorella*, por el alto contenido de proteínas. Aunque hubo mucho escepticismo en las primeras propuestas de instalaciones acuícolas de *Chlorella* de parte de esta institución, pero se fue superando al vencer desafíos biológicos y de ingeniería para optimizar la producción de biomasa. Lamentablemente, *Chlorella* no fue lo que se esperaba pero sentó las bases para los cultivos masivos de otras especies.

Estos avances fueron usados por la acuicultura que se encontraba en expansión. Inicialmente se desarrollaron sistemas de producción de microalgas a partir del fitoplancton natural (producción extensiva) en ambientes abiertos, aunque es barato se tiene poco control de la producción del tipo de especie y de los competidores. Un mejoramiento de la producción de microalgas fue la producción semi-intensiva, que consiste en inducir floraciones de fitoplancton natural mediante la fertilización mayormente con nutrientes orgánicos, estimulando así la producción primaria. Esto tiene un efecto positivo en la cadena alimenticia, esta técnica ha sido practicada por centurias, especialmente en el continente asiático, para incrementar la producción en pozas de tilapia y carpa plateada, camarón, langostino y zooplancton (Bardach, et al 1972).

En las últimas décadas se han desarrollado cultivos intensivos, las que permiten altas densidades en ambientes controlados. Esta técnica se ha extendido exitosamente en muchos países de América y de Europa, usada en cultivos de bivalvos y del crustáceo como *Artemia sp.* (Vos, et al. 1984).

No obstante, aun no se sabía porque existían diferencias en el valor nutricional de las diferentes algas, en parte debido a la incapacidad de elaborar una dieta artificial completa a partir de los componentes químicos definidos. Los problemas principales con estas dietas microparticuladas se debe a que no son reconocidas como alimento, no son digeribles una vez tragados, o no pueden mantener los componentes hidrosolubles con los liposolubles cuando se suspende en agua. Otro enfoque fue el de relacionar la composición química de las dietas con algas buenas y malas; sin embargo se encontró que los niveles de proteína, hidrato de carbono y lípido varían mas dentro de una especie dependiendo de las condiciones de cultivo que entre las especies, por lo que hacía evidente que había alguna otra característica involucrada (Parsons, et al. 1961).

Las hipótesis que se plantearon 25 años después incluyeron elementos de traza, aminoácidos específicos, vitaminas y compuestos lipídicos. Pronto se identificó a los ácidos grasos eicosapentanoico (EPA) 20:5n3 y

docosahexaenoico (DHA) 22:6n3 que además de ser importantes componentes de la membrana, también eran una fuente dietética. Un ensayo con una dieta de *Dunaliella salina* (Teoderesco) carente de ácido graso mayor de 18 carbonos se complementó con micropartículas que contenían EPA o DHA y se alimentó a las ostras (Watanabe, y Ackman. 1974), subrayó la importancia de los ácidos grasos esenciales EPA o DHA en las dietas de moluscos. Este reconocimiento eliminó clases enteras de algas como dietas únicas para moluscos.

En el Perú, los primeros estudios sobre cultivo y/o evaluación de microalgas datan de hace poco más de 3 décadas, estos en sus inicios estuvieron orientados para el consumo humano, con la finalidad de combatir la malnutrición de nuestro país. Entre los trabajos realizados podemos mencionar al proyecto “Cultivo experimental de Microalgas para consumo Humano” realizado entre 1971 – 1974, cultivaron masivamente la *Chlorophyta Scenedesmus acutus var. Alternans*. Igualmente la Universidad Federico Villareal y el A.C.M.A. (Asociación para combatir la malnutrición por medio de la algocultura), en 1985 suscribieron un convenio para construir en San Clemente (Pisco) un planta piloto para la producción masiva de la cianofita *Spirulina platensis* e incluye instalaciones para la obtención de un polvo de esta microalga con 70% de proteína. Dejó de funcionar debido a problemas de terrorismo que existían en esa época (Barbieri Junior, 1999).

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dado el interés que existe por la Acuicultura, dirigido principalmente a las especies de importancia comercial de peces, moluscos y crustáceos en condiciones controladas para la producción y alta supervivencia de semillas en sistemas de cultivo semi-intensivo e intensivo, se hace necesario conocer las diferentes alternativas de producción de alimento vivo a gran escala, ya que es difícil sustituir el alimento natural, pues las dietas artificiales generalmente provocan altas mortalidades por deficiencias nutricionales cuando no están balanceadas.

Por otra parte, en la última década se ha tratado de sustituir los alimentos vivos por dietas microencapsuladas o por técnicas que permitan el almacenamiento por congelado o liofilización por tiempo indefinido de estos alimentos y en términos generales no resuelven el problema real que es la demanda constante de alimento vivo y resultan incosteables.

Una solución a este problema se fundamenta en el conocimiento, optimización y automatización de los sistemas de cultivo de fitoplancton y zooplancton, para llevarlos a niveles masivos de producción semicontinua o continua. Se logra optimizar un cultivo conociendo la concentración adecuada de nutrientes, buscando una coordinación entre el crecimiento y la utilización de estos nutrientes, estandarizados una tasa de dilución o

cosecha óptima a intervalos periódicos para lograr una producción alta y sostenida a largo plazo.

El conocimiento y control de los parámetros ambientales óptimos en los cultivos de fitoplancton y zooplancton es muy importante, ya que no sólo permiten la supervivencia y desarrollo de los organismos en cultivo, sino además factores como; la temperatura y la salinidad regulan la concentración y calidad de nutrientes esenciales como son las vitaminas, los aminoácidos y los ácidos grasos.

¿En qué medidas las condiciones de los materiales usados para la construcción de los estanques influyeran en la mayor producción algal de *Dunaliella salina* (Teoderesco)?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar las técnicas de Cultivo, utilizando estanques de diferentes materiales, para la producción masiva algal de *Dunaliella salina* (Teoderesco), utilizando como alimento un medio de cultivo enriquecido.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar la técnica de cultivo.
- Evaluar los tipos de estanques en el sistema de cultivo.
- Evaluar las condiciones de cultivo masivo.

1.4. JUSTIFICACION

1.4.1 Justificación Teórica

Las microalgas constituyen uno de los más eficientes sistemas biológicos de transformación de energía solar en compuestos orgánicos, a través de la fotosíntesis. Dado que presenta una distribución global, pudiendo ser cultivadas en inhóspitos lugares, tales como lagos salinos adyacentes a desiertos y mares, ellas poseen un enorme potencial de aprovechamiento, como fuente de alimento, y diversos compuestos químicos de interés.

Un factor importante de este microorganismo es que se reproducen normalmente por una simple división binaria, completando su ciclo celular en pocas horas. Esta característica, relacionada a su relativa simplicidad de cultivo, torna a las microalgas en objetos de investigación prioritarias a las áreas de investigación de biotecnología y mejoramiento genético.

En la actualidad, la actividad comercial en la extracción de sustancias químicas de microalgas son básicamente los pigmentos carotenoides como suplementos nutritivos humanos procedentes de *Dunaliella salina* (Teoderesco), el pigmento astaxantina como agente colorante obtenido de *Hematococcus* y *Spirulina*, se usa también en la coloración de goldfish, especialmente en Japón, aunque en una escala limitada.

Dunaliella salina (Teoderesco) presenta las siguientes características a mencionar para seguir su cultivo:

- No compite por el recurso agua con otras actividades agroindustriales por que ocupa ambientes hipersalinos debido a esto mantiene el cultivo prácticamente libre de competidores, patógenos como también depredadores y existe la posibilidad de cultivar la cepa autóctona.
- Es muy nutritiva para utilizarla como alimento, tanto de humanos como peces, aves y ganado.
- La ausencia de pared celular en esta alga, en contraste con la mayoría de las otras algas, la hace mucho más digestible.
- El incomparable contenido en carotenoides de *Dunaliella salina* (Teoderesco) le otorga numerosos beneficios para la salud, estos antioxidantes protegen al cuerpo de los radicales libres, reducen drásticamente el riesgo de enfermedades cardiovasculares, previenen la artritis, cáncer, cataratas, el daño por rayos UV, etc.
- Produce gran cantidad de sustancias químicas como carotenos (Beta-caroteno y Alfa-caroteno), glicerol, clorofilas (clorofila a y b) y xantófilas (zeaxantina, criptoxantina y luteína) de alto valor comercial y con multitud de aplicaciones.

Todo lo mencionado anteriormente justifica la realización de la investigación, para implementar su cultivo masivo con fines acuícola.

1.4.2 Justificación Tecnológica

El avance de la tecnología ha permitido realizar cultivos masivos de microalgas mediante producción intensiva de cultivos puros de especies seleccionadas con fines muy diversos. Este sistema de producción ha experimentado innovaciones constantes tanto en ingeniería como en la oferta de nutrientes.

En la actualidad se usan microalgas como alimento para la acuicultura. Las microalgas son organismos autótrofos, productores primarios, por lo tanto constituyen el primer eslabón de la cadena alimenticia. Por ese motivo son indispensables en los cultivos de recursos hidrobiológicos en su ciclo de vida (Jeffrey, et al. 1994).

De ahí que los cultivos de microalgas siguen siendo una parte integral del cultivo de organismos marinos. Debido a esta limitante recientemente se ha desarrollado cultivos heterotróficos comerciales como el de *Schizochytrium* (que algunos taxónomos lo ubican como alga) con una tecnología más ligada a la fermentación. No obstante, el reconocimiento de la nutrición heterotrófica de los protistas pigmentados y no pigmentados es

atribuible a las investigaciones de algas y protozoarios, además la aplicación de cultivos heterotróficos y mesotróficos muestra alguna promesa de expansión como estrategia para el desarrollo de alimentos para la acuicultura.

Se usan microalgas para la extracción de sustancias químicas, algunas especies de microalgas pueden ser inducidas, variando las condiciones de cultivo a sintetizar altas concentraciones de algunas sustancias químicas como proteínas, lípidos, almidón, glicerol, pigmentos naturales, etc. Gracias al avance en la tecnología de cultivo de microalgas desarrollados para la alimentación en acuicultura se ha podido extraer comercialmente algunos de estos químicos. Otro factor favorable es el hecho que el ciclo de vida de las microalgas se completa sólo en pocas horas lo que posibilita la selección genética y un mejoramiento relativamente rápido de la especie.

El desarrollo de la acuicultura en el Perú, iniciada desde la segunda mitad de siglo XX, se ha logrado gracias a la importación de tecnologías procedentes de países como Estados Unidos, Chile, Brasil, etc. Una consecuencia de esto, es que se ha obtenido un progreso muy limitado de especies autóctonas. Esta gran dependencia limita el desarrollo de una actividad acuícola de

importancia, tanto del punto de vista económico como social, esta situación se torna crítica si consideramos que el Perú es uno de los países de mayor riqueza biológica tanto en la flora como la fauna.

La finalidad de este trabajo de investigación, pretende sustentar las bases hacia el ámbito de piloto industrial basándonos en la extrapolación de datos obtenidos en la investigación experimental, del cultivo de la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) rica en proteína, carotenos y otros compuestos, con fines para su uso en la acuicultura como alimento en las fases larvarias de diferentes especies hidrobiológicas en cultivos y de esta forma contribuir con el desarrollo tecnológico de la acuicultura en el Perú.

1.5. MARCO CONCEPTUAL

Las microalgas constituyen un grupo heterogéneo de plantas primitivas, distribuidas en toda la biosfera. Constituye el primer eslabón de la cadena trófica acuática. Actualmente existen especies de microalgas que se producen en escala comercial, aportando el desarrollo de diferentes campos como las industrias farmacéutica, alimentaria y acuícola entre otras (Goldman, 1979).

Para uso acuícola las microalgas se producen en Hatcherías, como alimento para una gran variedad de especies como moluscos, camarones y peces, especialmente en sus primeros estadios de vida, cultivadas en

sistema intensivos. En nuestro país existen Hatcheries que requieren de alimento vivo para su producción de larvas, tanto de peneidos como de moluscos y bivalvos. Es una práctica común de estos Hatcheries importar cepas de microalgas, para la producción de alimento vivo. Esto conlleva algunos problemas técnicos tales como adaptación a nuestras condiciones ambientales, recuperación de cepas importación periódica, entre otros. De otro lado debido a su particularidad diversidad biológica, en el Perú existen estas mismas microalgas, sin embargo muy poco se ha tomado en cuenta para usarlas comercialmente.

El cultivo comercial de algas en todo el mundo se estima en 5-6 mil millones de dólares por año. La porción más grande de esta industria es representada por la producción de microalgas en Asia, con una creciente actividad en América del Sur y África. En el último medio siglo se ha observado un cambio notable en el uso de algas, gracias en gran parte a los descubrimientos científicos, motivados a veces por intereses diferentes a la acuicultura.

Las microalgas son organismos autótrofos, productores primarios, por lo tanto constituyen el primer eslabón de la cadena alimenticia. Por ese motivo son indispensables en los cultivos de invertebrados y peces en algún punto de su ciclo de vida (Jeffrey, et al. 1994)

La principal forma de consumo es como alimento vivo en moluscos bivalvos como las ostras, almejas y conchas de abanico, que la consumen a lo largo de su vida. (Persoone y Claus. 1980).

El camarón en su fase larvaria, consume microalgas en forma indirecta, al ingerir zooplancton como los rotíferos, el camarón de Salmuera *Artemia* spp. que viene hacer como “bolsas” de tamaño apropiado que parcialmente ingirieron algas, mejorando de esta forma su contenido nutricional y estimula el comportamiento alimenticio (también es usado como alimento de larva de camarones).

Las larvas de especies hidrobiológicas (organismos marinos), alimentadas con microalgas incrementan en forma significativa su sobrevivencia, sugiriéndose que se puede constituir en un factor de crecimiento, que para el caso de los peces, se usan microalgas cultivadas para mejorar el contenido nutricional de los alimentos vivos zooplantónicos, transfiriendo los componentes nutricionales del alga a las larvas. Como *Spirulina* secada al sol para *tilapia*, *Spirulina* secado y pulverizado para *Brachionus plicatilis*, *Chorella* secada, *Isochrysis* o *Dunaliella* secado/congelado para larvas de Mercenarias *Isochrysis* y *Chaetoceros* para bivalvos, etc. (Spectorova, et al. 1982).

La producción de alimento microalgal es considerado *un cuello de botella* en la acuicultura marina, puesto que el desarrollo de dietas artificiales se ha encontrado con solo éxito limitado, de ahí que los cultivos de microalgas siguen siendo una parte integral del cultivo de organismos marinos. Debido a esta limitante recientemente se ha desarrollado cultivos heterotróficos comerciales como el de *Schizochytrium* (que algunos taxónomos lo ubican como alga), con una tecnología más ligada a la fermentación. No obstante, el reconocimiento de la nutrición heterotrófica de los protistas pigmentados y no pigmentados es atribuible a las investigaciones de algas y protozoarios, además la aplicación del cultivo heterotrófico y mixotróficos, muestra alguna promesa de expansión como estrategia para el desarrollo de alimentos para la acuicultura.

1.5.1. Desarrollo de la Acuicultura en el Perú

El Perú cuenta con diversidad biológica y ecológica que le otorga ventajas comparativas para el desarrollo de la acuicultura de diversas especies de peces, moluscos, crustáceos y otros. Sin embargo, la actividad acuícola en el país es poco desarrollada, restringiéndose a la etapa de engorde, con la excepción de la trucha.

En la primera mitad de la década del 90 del siglo pasado en el Perú se generó en una expectativa muy grande para el desarrollo de cultivo de especies como el camarón gigante, *Artemia*, peces planos, etc. De todos

estos intentos solo subsistieron aquellos que pudieron sostenerse por las condiciones climáticas favorables, como el langostino y la concha de abanico. Sin embargo, es reconocido el potencial acuícola del Perú, aunque son muchas las razones, una es la disponibilidad suficiente de semillas (larvas). La obtención de semilla de medio natural es muy variable sujeta a los cambios climáticos. Una alternativa es la larvicultura, el cual exige de una mayor tecnificación puesto que es la parte de mayor dificultad en su manejo la producción de larvas y alevines en nuestro país es muy limitado y un problema álgido es la disponibilidad de alimento vivo para estas larvas como son las microalgas y zooplancton (que se alimenta de microalga) aun no hay suficiente personal capacitado para el adecuado cultivo masivo de microalgas, además, la necesidad de importar cepas de microalgas hace una actividad dependiente a otros países más desarrollados en la acuicultura (Quesquen, 1996).

Por tanto, para potenciar la acuicultura se debe tener la capacidad de producir cepas de microalgas a partir de especies conectadas de los mismos cuerpo de agua donde habitan naturalmente los invertebrados y peces en cultivo de probada calidad nutricional, así como ofrecer capacitación técnica a todo el personal que labora en un Hatchery comercial, además de los otros factores implicados que limitan el desarrollo de la acuicultura en el país. (Barbieri Junior, Roberto. 1999).

1.6. HIPOTESIS

La mayor producción masiva algal de *Dunaliella salina* (Teoderesco) en condiciones controladas es dependiente del tipo de material usado para la construcción del estanque usado para el cultivo.

1.7. VARIABLES

1.7.1. Variables Independientes

- a) Infraestructura de los estanques.
- b) Salinidad.

1.7.2. Variables Dependientes

- a) Población algal

CAPITULO II

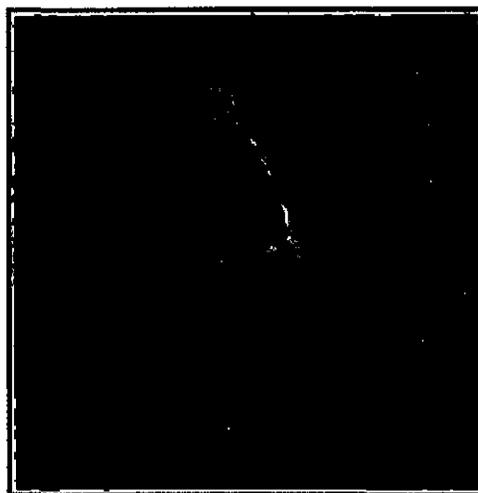
REVISION LITERARIA

2.1. **Biología de *Dunaliella salina* (Teoderesco).**

Debido a que los ecosistemas hipersalinos como las salinas marinas o lagos interiores presentan gran variabilidad en la composición iónica, composición total de sal, pH y temperaturas, el alga *Dunaliella* sp. Presenta una gran diversidad de variedades. Así desde la descripción general del género, con la especie tipo de *Dunaliella*, se han descrito muchas especies en una variedad de ambientes. Hasta 1979 cuando se hizo una revisión del género, se reconoció 29 especies, además de numerosas variedades y formas.

Son sus características morfológicas tener forma periforme a casi esférica, tener un cloroplasto con un gran pirenoide, organelos celulares semejantes a otros voolcales, además de tener dos flagelos isocontos y carecer de pared (Aguilar CP 1995) han recopilado abundantes datos de taxonomía, morfología, historia de vida, distribución y ecología. Recientemente Preisig presenta una lista de especies de *Dunaliella* con claves para la identificación de subgéneros, secciones, especies, subespecies y formas de *Dunaliella salina* (Teoderesco).

2.2. Clasificación Taxonómica de la especie *Dunaliella salina* (Teoderesco)



Dunaliella salina (Teoderesco).

DIVISIÓN	CHLOROPHYTA
Clase	Chlorophyceae
Orden	Volvocales
Familia	Dunaliellaceae
Genero	Dunaliella
Especie	<i>Dunaliella salina</i> (Teoderesco)

2.2.1. Efecto de las Condiciones Físico-químicas en su Fisiología

La especie de *Dunaliella* tales como la roja *Dunaliella salina*, la rojiza *Dunaliella parva* y la verde *Dunaliella viridis*, usualmente dominan cuerpos de agua con salinidades mayores a 20 %. Los

ecosistemas expresan temperaturas extremas que pueden ser mayores a 45 °C, algunos de esos ecosistemas pueden ser muy alcalinos pH mayores a 8. También, esos medios frecuentemente contienen altas concentraciones de Mg y SO₄ además de otros metales pesados (Serpa Ibáñez, 2000).

Los estudios fisiológicos de *D. Salina* se han enfocado principalmente hacia su crecimiento y carotenogénesis, con énfasis en las condiciones que lo optimizan. El trabajo realizado por Loeblich ha permitido definir la especie de *D. Salina* con criterio fisiológico como cualquier *Dunaliella* que sea capaz de volverse roja.

2.2.1.1. Salinidad

Dunaliella salina (Teoderesco) en condiciones hipersalinas (1.5 M a 3 o 4 M de ClNa) tiene un declive en el crecimiento celular, sin embargo el flujo de carbón es canalizado hacia el incremento intracelular de glicerol y a un aumento en la síntesis de isoprenoide plastídicos. Bajo condiciones hipersalinas, el glicerol funciona en el citoplasma como un soluto compatible para mantener la integridad de la membrana y proteínas, al parecer las

respuestas celulares al estrés salino son regulatorios y parecen depender de una diversidad de mecanismos ligados a la modificación en el balance del ácido abscísico (Gomez-Pinchetti, et al 1992).

2.2.1.2. Efecto de la Intensidad Luminosa

Los cambios en la intensidad de luz y calidad espectral son factores determinantes en los cambios de la respuesta fotosintética y de las tasas de crecimiento en la naturaleza. Un evento crucial en el crecimiento de un alga es la adaptación a la intensidad de la luz. Así *Dunaliella tertiolecta* como *Dunaliella salina* pueden aclimatarse fisiológicamente a un amplio rango de niveles de irradiancia. Esta adaptación (fotoadaptación) puede ocurrir en pocas horas o por el contrario demorar días (Falkowsky, 1994).

2.2.1.3. Temperatura

Dunaliella salina (Teoderesco) tiene una amplia tolerancia a la temperatura. Así algunas variedades en la Antártida sobreviven a temperaturas cercanas a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y otras variedades pueden sobrevivir a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se ha descubierto en algunas especies como *D. Parva* y *D. Tertiolecta* que el grado de tolerancia a altas temperaturas es dependiente de la concentración de ClNa. Así las células adaptadas a salinidades muy altas son más resistentes a temperaturas altas, posiblemente debido al efecto protector del glicerol intracelular. Se ha descubierto que la temperatura óptima de crecimiento de *Dunaliella salina* puede estar entre 20 °C y 40 °C que hay un fuerte efecto sinérgico entre la temperatura y la intensidad de luz a temperaturas superiores a los 20 °C. (Borowitzka and Borowitzka, 1988).

2.2.1.4. Limitación de Nutrientes

Los elementos minerales que requieren las algas para crecer se agrupan en dos categorías: los macronutrientes (H, C, O, N, P, K, S, Mg) y los micronutrientes (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, Cl, Co, Na). Los macronutrientes son utilizados en la fotosíntesis de compuestos orgánicos que conforman las células, mientras que los micronutrientes actúan

como reguladores o coenzimas en la fisiología del alga.

El uso de microalgas vivas como alimento en acuicultura no fue fácil en sus inicios, una de las dificultades fue la necesidad de saber que especie cubren los requerimientos nutricionales de especies en cultivo (Bruce, et al. 1940) y otro aspecto fue la necesidad de métodos sencillos pero efectivos y eficaces para cultivar microalgas a fin de que puedan ser usados. Un reporte de Davis y Guillard en 1958 demostró la amplia variación en el valor nutricional de las diferentes especies de microalgas. Entonces se dio inicio a investigaciones de exploración en que se probaron docenas de especies de microalgas en ensayos alimenticios con una variedad de moluscos bivalvos (Ukeles, R. 1976). El resultado fue que se identificaron muchas de las especies de algas que actualmente se usan extensamente como alimento en acuicultura.

Posteriormente, se han realizado cultivos de microalgas de diferentes especies con interés acuícola, basados principalmente en métodos y técnicas extranjeras. Muchos de los métodos desarrollados para producir cultivos de algas en gran cantidad y calidad suficiente como alimento vivo en acuicultura, aunque sumamente exitoso en la aplicación, generalmente su exigencia de técnica y costo es muy alta. Por eso, en algunos casos se han usado con éxito en forma concentrada y preservada y otros en forma

seca. Así, se ha usado *Scenedesmus* seco y molido, *Spirulina* seca y pulverizada como alimento.

Entre las algas mas estudiadas para el cultivo masivo perteneciente al género *Dunaliella*, esta *D. Salina* y *D. Tertiolecta*, que constituyen la microflora típica de los ambientes salinos esparcidos en todo el continente. La alta concentración de sal unida a otros factores ambientales como intensidad lumínica, escasas precipitaciones u altas temperaturas debido a la posición geográfica que estos sistemas ocupan, permite el crecimiento de especies particularmente adaptadas a estas condiciones. La cantidad de información en fisiología y limnología de estos cuerpos de aguas es considerablemente menor a la que existe sobre otros cuerpos de aguas continentales (Willians, 1981). *Dunaliella sp.* es cultivada como fuente de alimento en acuicultura, como lo evidencia las numerosas publicaciones de muchos autores (Davis & Guillard 1958).

De las especies del género *Dunaliella*, solo *Dunaliella. Bardawil* y *Dunaliella salina* (Teoderesco), han demostrado poseer la capacidad de producir grandes cantidades de β -caroteno cuando son cultivadas bajo condiciones apropiados (Ben-Amotz, et al. 1982). Este pigmento presenta una gran importancia debido a que es el precursor de la vitamina A siendo en la industria alimentaria incorporado como agente colorante y fuente de vitamina en varias dietas para peces y aves de corral (Ben-Amotz &

Avron. 1990). El material algal seco contiene aproximadamente 70% de proteínas de composición similar a la carne de soya. El β -caroteno es también usado como un aditivo en los cosméticos y en las preparaciones multivitamínicos. Recientes estudios epidemiológicos y oncológicos que altos niveles de β -caroteno en el cuerpo podrían proteger contra el cáncer. Todo esto hace a *D. Salina* tener importancia desde el punto de vista económico, debido a su capacidad de sintetizar β -caroteno, así en el mercado internacional es cotizado entre \$ 1 800 a 2 000 el Kg. (Nishimura y Hirano 1999).

Además, *Dunaliella salina* (Teoderesco) tiene la capacidad de producir glicerol por fotosíntesis o degradación del almidón, constituyendo el 50% del peso seco como respuesta a condiciones ambientales hipersalinos (ambientes con bajo nivel de actividad termodinámica del agua), es decir, es el principal elemento de su sistema de osmoregulación, característica esencial para el crecimiento de la especie. El glicerol es un producto químico orgánico comercialmente importante, producido generalmente desde fuentes petroquímicas que puede ser obtenido a partir de esta microalga (Preisig, 1992)

La producción de alimento microalgal es considerado un cuello de botella en la acuicultura marina, puesto que el desarrollo de dietas artificiales se ha encontrado con solo éxito limitado.

CAPITULO III

METODOLOGIA

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación está basada en la experimentación.

3.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Se llevó a cabo la investigación de tipo experimental, basándose en datos bibliográficos referidos al tema a investigar, para su desarrollo del trabajo de investigación se tomó las siguientes condiciones:

Los cultivos tuvieron la capacidad de 30 litros aproximadamente por estanque. Para ello se emplearon los cultivos escalonados, ya que favorecieron en el crecimiento de las células, teniendo como finalidad la producción masiva algal de *Dunaliella salina* (Teoderesco). Basados en investigaciones anteriores que nos hablan mucho de su fisiología, a la vez como comportamiento de *Dunaliella salina* (Teoderesco), sometidas a diferentes parámetros, como: salinidad, temperatura., intensidad lumínica, oxigenación y medio de cultivo.

El propósito es llegar a las condiciones adecuadas para un buen cultivo, enfocados a la producción algal, buscando su sistematización. Para este trabajo de investigación se busca su acondicionamiento propio de

Dunaliella salina (Teoderesco), bajo condiciones óptimas, aprovechando su producción algal.

3.3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.3.1. Variables del Diseño Experimental

- Salinidad : Rango 1,5 M – 2,5 M.
- Material de los estanques : Vidrio, plástico traslucido y plástico Blanco.

3.3.2. Diseño experimental de series cronológicas

Diagrama:

RG ₁	O ₁	X ₁	O ₂
RG ₂	O ₃	X ₂	O ₄

Leyenda:

RG₁ y RG₂ = Grupos.

X₁ y X₂ = Tratamientos o estímulos.

O₁ y O₃ = Prueba o medición previa.

O₂ y O₄ = Posprueba o medición posterior.

3.3.3. Diseño Factorial para la determinación del número de pruebas.

Según las variables Independientes o Factores, tenemos:

V1	V2	R1	R2	R3
S1	M1	1	2	3
	M2	4	5	6
	M3	7	8	9
S2	M1	10	11	12
	M2	13	14	15
	M3	16	17	18

Números de pruebas = $2 \times 3 \times 3 = 18$ U.E.

3.4. POBLACIÓN

3.4.1. Características

Las salinas de Chilca se encuentra localizada en un terreno llano salitroso se extiende a 2 Km. frente al mar, conformada por un conjunto de cuerpos de agua, entre las que se encuentra una grande y cuatro pequeñas que no evidencia mayor contaminación, de donde proceden las cepas de la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco), con la que se experimentó.

3.4.2. Limitación

Las lagunas se encuentra limitada a unos metros por montículos de costra de sal, propias de la zona y un poco más alejado se halla la población del lugar. El nivel hídrico está gobernada por filtraciones de origen fluvial a través de aguas del río de Chilca.

3.4.3. Ubicación espacio-temporal

Se tomará como referencia las posas aleatorias a las lagunas salidas de Chilca, Lima (Santa Cruz) ubicada a la altura del Km. 67 de la antigua Carretera Panamericana Sur (Km. 86 de la actual Panamericana Sur), entre los 76°42' 38" Longitud Oeste y los 12°32'45" Latitud Sur, provincia de Lima, departamento de Lima

3.5. MUESTRA

Como muestra se considera a la alga halótolerante *Dunaliella salina* (Teoderesco) de las salinas de Chilca. Se trabajó con cepas aisladas y purificadas en laboratorio. Con un volumen inicial de 10 ml. de inóculo y 50 ml. de medio de cultivo.

3.6. DESCRIPCIÓN DE LA EXPERIMENTACIÓN

3.6.1. Instalación del sistema de cultivo.

3.6.1.1. Instalación de los estanques

Se inicio por la parte de la instalación del sistema de cultivo enfocado a la última etapa de cultivo, la de 30 litros, nos apoyaremos a los datos obtenidos, en los trabajos anteriores de investigación, respecto a la forma del estanque, que en este trabajo será de forma rectangular y de los siguientes materiales en evaluación:

1) Estanques de vidrio.

Medidas: Alto: 50 cm. - Largo: 50 cm. - Ancho: 35 cm.

Tratando de seguir con el cultivo con el material empleado desde el inicio del cultivo, y dando una buena condición de iluminación, traspasando las ondas de luz en la pared de los estanques

2) Estanque de plástico traslucido.

Medidas: Alto: 50 cm. - Largo: 50 cm. - Ancho: 35 cm.

Buscar su adaptación en este material, ya que tiene más ventajas con el material de vidrio referente a ser más maniobrable y su costo, traspasando las ondas de luz de la pared de los estanques.

3) Estanque de plástico de color blanco.

Medidas: Alto: 50 cm. - Largo: 50 cm. - Ancho: 35 cm.

Buscar su adaptación en este material, teniendo las mismas ventajas que el de plástico traslucido, pero con la diferencia de la reflexión de luz por sus paredes blancas.

3.6.1.2. Instalación del sistema de aireación

El sistema de aireación que se instaló, estuvo compuesto por un motor de aireación (mini-compresora) de 1000 RPM, para cada uno de los estanques ya que contó por triplicado, por cada material a ser evaluado con volúmenes de 30 litros de cultivo y el tiraje de cultivo de 15 cm aproximadamente de alto dentro de cada estanque.

Para la alimentación de aireación (oxígeno) se utilizó mangueras de material de siliconas, con diámetro de $\frac{3}{4}$ " de pulgadas y con piedra difusoras de acuario provocando burbujas pequeñas y finas.

3.6.1.3. Instalación del sistema de iluminación

El sistema de iluminación que se instaló estuvo compuesto por lámparas fluorescentes blancas con intensidad de luz de 40 W y su longitud de 1,20 m cada uno. La disposición de los fluorescentes para cada estantería es de 4 fluorescentes, se ubicaron en la parte superior, con dirección de la onda de luz sobre la superficie de los estanques. Respecto a la intensidad lumínica que posee el sistema de cultivo es de ~ 7200 lux, equivalente a $\sim 141 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ por estantería. La temperatura que se obtuvo presentó un rango de 27°C . a 30°C . También se utilizó reflectores con la finalidad de mantener la temperatura en las horas donde la temperatura desciende (en horas de la noche).

3.6.1.4. Recubrimiento del sistema

El recubrimiento del sistema estuvo dado por paredes de color blanco de material de tela plastificada intralúcida, con la finalidad de evitar la salida de las ondas de luz emitidas

por las lámparas de fluorescentes dando como resultado el aumento de intensidad lumínica, favoreciendo al cultivo.

3.6.2. Preparación del medio de cultivo.

3.6.2.1. Limpieza y esterilización del material.

Respecto al material de vidrio que se empleó en el trabajo de investigación, ellos pasaron por un proceso de esterilización, primero limpiados por detergente, dejando reposar por 24 horas para luego ser enjuagados con abundante agua potable y por último repetidas veces por agua destilada. La esterilización del material de vidrio fue de 150 °C por un lapso de 2 horas como tiempo mínimo. Respecto a la limpieza de los estanques, se empleó abundante agua potable para luego realizarlo con agua de mar tratada con UV, solamente con la ayuda de esponjas (se utilizará materiales de limpieza exclusivo para cada tipo de estanque).

3.6.2.2. Agua de mar tratada

El agua de mar que se empleó para el medio de cultivo, fue suministrada por IMARPE (Instituto del Mar del Perú) ubicada en la distrito de La Punta, provincia del Callao. Ya

que el agua de mar pasa por un tratamiento de UV, y por filtros de 1 micra. Fueron depositadas en recipientes de plástico de color azul, con una capacidad de 50 litros cada una, previamente cubiertas por tapas para su posterior reposo.

El medio de cultivo a utilizar será el que empleo Serpa (2000) que determino como medio enriquecido, con los siguientes componentes:

MEDIO ENRIQUECIDO

Macronutrientes

ClNa (3.5M)	204.54 g/l
Fuente de nitrógeno	5 mM/l de Nitrógeno
KH ₂ PO ₄ (O NaH ₂ PO ₄)	0.2 mM/l

Compuesto (mM)	Medio de Cultivo
	NNH₄
NH₄NO₃	2.5
KH₂PO₄	0.2
Micronutrientes	Si
NaCl (M)	1.5 – 2.5

Micronutrientes

Na EDTA	4.36 mg/l
FeCl ₃ . 6H ₂ O	3.15 mg/l

$\text{Cl}_2\text{Mn} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	180 $\mu\text{g/l}$
$\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	9.8 $\mu\text{g/l}$
$\text{Cl}_2\text{Co} \cdot \text{H}_2\text{O}$	10.5 $\mu\text{g/l}$
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.3 $\mu\text{g/l}$
$\text{SO}_4\text{Zn} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22 $\mu\text{g/l}$
H_3BO_3	4.45 mg/l

Se empleó stock de macro y micro nutrientes para la preparación del medio de cultivo enriquecido, los cuales han sido guardados en una refrigeradora para que no altere su composición.

3.6.3. Condiciones del sistema de cultivo masivo

Después de la adaptación de la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) se paso a las etapas de cultivo escalonado de la siguiente manera:

- 1) 10 ml de Inoculo + 50 ml de medio de cultivo
- 2) 32 ml de Inoculo + 128 ml de medio de cultivo
- 3) 160 ml de Inoculo + 640 ml de medio de cultivo
- 4) 800 ml de Inoculo + 3,200 ml de medio de cultivo
- 5) 4,000 ml de Inoculo + 26,000 ml de medio de cultivo

Los cuales estuvieron ubicados de la siguiente manera:

3.6.3.1. Cultivo Inicial – 5 días (desde 250 ml hasta 1 lt).

En esta etapa de cultivo se iniciara con 60 ml. de inóculo (tubo de ensayo), con 160 ml. de medio de cultivo (matraz) los cuales serán sometidos a las siguientes condiciones:

Salinidad	: 1.5 M – 2.5 M
Temperatura	: 27 °C – 30 °C (rango).
Intensidad Luminosa	: 141 $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ (7,200 lux).
Medio de Cultivo	: Agua de mar tratada y nutrientes
Infraestructura	: Material de vidrio (matraz de 250 ml.)
Oxígeno	: Saturado

3.6.3.2. Cultivo Intermedio – 6 días (desde 1 lt hasta 4 lt).

En esta etapa de cultivo se comenzó con cultivos de 1000 ml. (botellas de vidrio) hasta llegar a cultivos de 4,000 ml. (recipientes rectangulares de material de vidrio), los cuales serán sometidos a las siguientes condiciones:

Salinidad	: 1.5 M – 2.5 M
Temperatura	: 27 °C – 30 °C (rango).
Intensidad Luminosa	: 141 $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ (7,200 lux).
Medio de Cultivo	: Agua de mar tratada y nutrientes.
Infraestructura	: Material de vidrio (botellas).
Oxígeno	: Saturado

3.6.3.3. Cultivo Masivo – 6 días (desde 4 lt hasta 30 lt).

La etapa de cultivo masivo es la que se realizo dentro del sistema de cultivo a prueba, el cual está conformada por estanques de los tres materiales diferentes a utilizar como son: vidrio, plástico traslucido y de plástico de color blanco con las características antes mencionadas, con volumen total de 30 litros de cultivo (a su inicio de 4,000 ml de Inoculo con 26, 000 ml de medio de cultivo enriquecido) para cada estanque. Cabe mencionar que la concentración inicial es de 200,000 cel/ml. Los cuales serán sometidos a las siguientes condiciones:

Salinidad	: 1.5 M – 2.5 M
Temperatura	: 27 °C – 29 °C (rango).
Intensidad Luminosa	: 141 $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ (7,200 lux).
Medio de Cultivo	: Agua de Mar tratada y nutrientes.
Infraestructuras	: Material de vidrio, plástico traslucido y plástico blanco
Oxígeno	: Saturado

3.6.4. Materiales y equipos

3.6.4.1. Materiales de vidrio y plástico

- Tubos de ensayo.
- Pipetas.
- Pipetas Pasteur.
- Porta y cubre objetos.
- Frascos Erlenmeyer (100 ml, 500 ml y de 1,000 ml de capacidad).
- Frascos de vidrio (20 ml, 350 ml, y 1,000 ml de capacidad).
- Recipientes rectangulares de vidrio con 10,000 ml de capacidad.
- Estanques rectangulares de vidrio de 75,000 ml de capacidad.
- Estanques rectangulares de plástico traslucido de 75,000 ml de capacidad.
- Estanques rectangulares de plástico de color blanco de 75,000 ml de capacidad.
- Estanques rectangulares de plástico de color azul con tapa de 75,000 ml de capacidad.
- Bidón de plástico con tapa de 300,000 ml..
- Jarra de plástico de 2,000 ml.

3.6.4.2. Equipos

- Sistema de esterilización, Autoclave y Estufa.
- Sistema de filtración (bomba de vacío).
- Sistema de Aireación: 3 Bombas de aireación Air Pump S-100 (150 RPM) y 1 Electromagnética Air Pump Aco- 003(1,000 RPM).
- Balanza analítica (0.00001 gr.).
- Balanza (10 Kg.).
- Refrigerador de tipo domestico.
- Centrífuga.
- pH metro.
- Agitador magnético.
- Termómetro de máxima y mínima.
- Microscopio óptico y microscopio invertido.
- Cámara de Newbahuer.
- Salinometro.
- Espectrofotómetro.
- Luxómetro.
- Cámara de flujo laminar.

3.6.4.3. Otros

- Filtros de celulosas de 1 micra.
- Papel de aluminio.

- Cintas adhesivas.
- Plumones indelebles.
- Detergente.
- Tela plastificada de color blanco.
- Cartones gruesos.
- Lámparas de fluorescentes de luz blanca.
- Lámparas de halógeno de 500 W.
- Algodón.
- Mangueras de siliconas de ¾ " de diámetro.
- Piedras difusoras de color azul de 4".
- Cable de luz mellizo N° 14.
- Bases de Tecnoport.
- Válvulas, t de plástico y crucetas para la mangueras de silicona.
- Armazón de tubos de PVC y de madera..
- Tomacorrientes y enchufes.

3.7. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.7.1. Muestreo Inicial

La muestra de la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) fue proporcionada por el laboratorio de microalgas del IMARPE (Instituto del Mar del Perú) el cual se adaptó al medio de cultivo a utilizar. Se realizó

cultivos escalonados desde volúmenes de 160 ml en tubos de ensayo hasta 30,000 ml por estanques en evaluación.

3.7.2. Muestreo durante el cultivo.

Se realizó la toma de las muestras al azar de cada uno de los estanques para las condiciones establecidas, de acuerdo al tipo de análisis sometido.

3.7.3. Observación microscópica

Cada muestra tomada fue observada al microscopio óptico para determinar su recuento o unidades por campo.

3.8. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.8.1. Muestra y Análisis de la población algal

3.8.1.1. Control de variables

Se realizó el registro de cada una de las variables establecidas en cada estanque de acuerdo al cronograma de trabajo.

3.8.1.2. Toma de la muestra

Se empleo pipetas de Pasteur, los cuales eran previamente seleccionados y llevadas a cada estanque, sacando la muestras al azar y siguiendo y un cronograma de muestreo.

3.8.1.3. Conteo del número de Células

El método que se empleo, fue con la de Cámara de Newbauer, este método permite un conteo adecuado de las microalgas, distribuidas al azar, donde el número de células en volumen conocido se pueda determinar y la concentración celular pueda ser calculada.

La fórmula empleada para contar la densidad celular por mililitro es con la ayuda del hemocitometro:

$$d = Q \times 10^4$$

Donde:

$$d = \text{número total de cel.} \cdot \text{ml}^{-1}$$

$$Q = \text{promedio de conteo por cara en 4 cuadrantes}$$

3.9. PROCESAMIENTO DE DATOS

3.9.1. Análisis Estadísticos

El método estadístico que se empleo fue el siguiente:

- **Velocidad de crecimiento algal**

La velocidad de crecimiento algal se representara por el número de divisiones celulares en un determinado tiempo, con un tiempo de duplicación o generación (T_d). La fórmula a emplear será la de Monod, (1949):

$$K = 3,322 / (t_2 - t_1) \times \log (N_2/N_1)$$

Donde:

K = Velocidad de crecimiento específica

t2 – t1 = Intervalo de tiempo.

N1 = Concentración celular o tamaño de la población al iniciar el periodo del tiempo evaluado.

N2 = Concentración celular o tamaño de la población al finalizar el periodo del tiempo evaluado.

$$Td = 1/K \text{ (dia/div)} = 24/K \text{ (horas/div)}$$

3.10. ANÁLISIS Y PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Se procesaron todos los resultados obtenidos en los análisis de la población algal, se usaron cuadros y graficas para su mejor entendimiento.

3.10.1. Del análisis de población algal

- Tipo de material de los estanques.
- Salinidad.

3.10.2. Del análisis estadístico

Se sometieron los resultados obtenidos de población algal, a los siguientes análisis estadísticos:

- Desviación estándar.
- Varianza.
- Promedio.
- Regresión potencial.
- Análisis de función logística.

Capítulo IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. RESULTADOS

Una vez terminado la parte experimental del trabajo de investigación, referente al cultivo masivo de la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco), se muestran los datos obtenidos, con tres muestras que se emplearon para cada estanque en evaluación. Se presentan las evaluaciones en salinidades de 1.5 M y 2.5 M. Se realizan las representaciones con tres pruebas para cada tipo de estanque.

4.1.1. Evaluación en salinidad de 1.5 M.

En esta evaluación se emplearon los estanques de vidrio, plástico transparente y plástico blanco, con un inóculo inicial de 4 litros y una densidad de 200,000 cel/ml en cada estanque; en un volumen total de 30 litros de cultivo por estanque, bajo las mismas condiciones de cultivo y el periodo de 6 días de prueba. Obteniendo los siguientes resultados durante los días de producción algal, en cada estanque mencionado:

Primera prueba:

El promedio de la producción algal en los estanques de vidrio fue de 9,960,000 cel/ml, con una desviación estándar de 4.28×10^6 , en los estanques de plástico traslúcido alcanzó el promedio de 9,130,000 cel/ml con una desviación estándar de 3.93×10^6 y en los estanques de plástico

blanco alcanzó el promedio de 10,450,000 cel/ml con una desviación estándar de 4.44×10^6 (Tabla 1 y Fig. 1). Por otro lado las generaciones promedias obtenidas durante el periodo de cultivo, en los estanques de vidrio fueron de 5.6386, en los estanques de plástico translúcido fueron de 5.5131 y en los estanques de plástico blanco fueron de 5.7079 (Fig. 2). Para obtener la producción teórica nos apoyaremos en los datos de la producción algal (Fig. 3).

Segunda prueba:

La producción algal en los estanques de vidrio alcanzó el promedio de 9,963,500 cel/ml, con una desviación estándar de 4.28×10^6 ; en los estanques de plástico translúcido alcanzó el promedio de 9,170,000 cel/ml, con una desviación estándar de 3.95×10^6 y en los estanques de plástico blanco alcanzó el promedio de 10,430,000 cel/ml, con una desviación estándar de 4.42×10^6 (Tabla 2 y Fig. 4). Referente a las generaciones promedias obtenidas durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio fue de 5.6391, en los estanques de plástico translúcido fue de 5.5194 y en los estanques de plástico blanco fue de 5.7052 (Fig. 5). Para obtener la producción teórica nos apoyamos en los datos de la producción algal (Fig. 6).

Tercera prueba:

La producción algal en los estanques de vidrio alcanzó el promedio de 10,000,000 cel/ml, con una desviación estándar de 4.29×10^6 , en los

estanques de plástico traslúcido alcanzó el promedio de 9,180,000 cel/ml, con la desviación estándar de 3.95×10^6 y en los estanques de plástico blanco alcanzó el promedio de 10,410,000 cel/ml, con la desviación estándar de 4.43×10^6 (Tabla 3 y Fig. 7). Referente a las generaciones promedias obtenidas durante el periodo de cultivo en los estanque de vidrio fue de 5.644, en el estanque de plástico traslúcido fue de 5.5210 y en el estanque de plástico blanco fue de 5.7024 (Fig. 8). A la vez para obtener la producción teórica nos apoyamos en los datos de la producción algal (Fig. 9).

4.1.2. Evaluación a la salinidad de 2.5 M.

En esta evaluación a los parámetros y las condiciones presentadas en el sistema de cultivo, se mantienen a igual que a la salinidad de 1.5 M.

Primera prueba

La producción algal en los estanques de vidrio alcanzó un promedio de 3,527,500 cel/ml, con una desviación estándar de 1.24×10^6 ; en los estanques de plástico traslúcido alcanzó un promedio de 4,325,000 cel/ml, con una desviación estándar de 1.71×10^6 y en los estanques de plástico blanco alcanzó un promedio de 5,017,500 cel/ml, con una desviación estándar de 2.06×10^6 (Tabla 4 y Fig. 10). Por otro lado las generaciones promedias obtenidas durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio fue de 4.1410, en los estanques de plástico traslúcido fue de 4.4351

y en los estanques de plástico blanco fue de 4.6494 (Fig. 11). Para obtener la producción teórica nos apoyamos en los datos de la producción algal. (Fig. 12).

Segunda prueba:

La producción algal en los estanques de vidrio alcanzó un promedio de 3,622,500 cel/ml, con una desviación estándar de 1.40×10^6 ; en los estanques de plástico translúcido alcanzó un promedio de 4,835,000 cel/ml, con una desviación estándar de 1.89×10^6 y en los estanques de plástico blanco alcanzó un promedio de 4,897,500 cel/ml, con una desviación estándar de 1.86×10^6 (Tabla 5 y Fig. 13). Referente a las generaciones promedias obtenidas durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio fue de 4.1793, en los estanques de plástico translúcido fue de 4.5959 y en los estanques de plástico blanco fue de 4.6144 (Fig. 14). Para obtener la producción teórica nos apoyamos en los datos de la producción algal (Fig. 15).

Tercera prueba:

La producción algal en los estanques de vidrio alcanzó un promedio de 3,562,500 cel/ml, con una desviación estándar de 1.40×10^6 ; en los estanques de plástico translúcido alcanzó un promedio de 4,675,000 cel/ml, con una desviación estándar de 1.91×10^6 y en los estanques de plástico blanco alcanzó un promedio de 5,227,500 cel/ml, con una desviación

estándar de 2.02×10^6 (Tabla 6 y Fig. 16). Las generaciones promedias obtenidas durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio fue de 4.1552, en los estanques de plástico traslúcido fue de 5.5473 y en los estanques de plástico blanco fue de 5.7085 (Fig. 17). Para obtener la producción teórica nos apoyamos en los datos de la producción algal (Fig. 18).

Todos los parámetros establecidos, encontraron las siguientes condiciones en el sistema de cultivo:

Temperatura	: Rango 27 °C – 30 °C (rango).
Intensidad Luminosa	: 141 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ (7,200 lux).
Medio de Cultivo	: Agua de mar tratada y nutrientes.
Oxígeno	: Saturado

La tasa de crecimiento que se encontró a la salinidad de 1.5 M en los estanques de vidrio tuvieron valores mínimo de 0.0057 y máximo de 0.0638, en los estanques de plástico traslúcido los valores mínimo de 0.0057 y máximo de 0.0577 y en los estanques de plástico de color blanco valores mínimo de 0.0057 y máximo de 0.0650. A la salinidad de 2.5 M los valores en los estanques de vidrio tuvieron valores mínimo de 0.0112 y máximo de 0.0494, en los estanques de plástico traslúcido valores mínimo de 0.0062 y máximo de 0.0484 y en los estanques de plástico de color blanco valores mínimo de 0.0090 y máximo de 0.0518 (Tabla 7).

Los valores promedios obtenidos, para el tiempo de generaciones durante su periodo de cultivo a la salinidad de 1.5 M en los estanques de vidrio fue de 36.83 horas/generación, en los estanques de plástico traslúcido fue de 37.65 horas/generación y en los estanques de plástico de color blanco fue de 36.41 horas/generación. A la salinidad de 2.5 M los valores promedios para el tiempo de generación en los estanques de vidrio fue de 49.95 horas/generación, en los estanques de plástico traslúcido fue de 45.88 horas/generación y en los estanques de plástico de color blanco fue de 44.60 hora/ generación. (Tabla 8).

4.2. DISCUSION

La microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco), creció mejor en el medio de cultivo que contenía sales de amonio, que en el medio Jonson según lo reporto Serpa (2000) en las salinidades de 1.5 M y 2.5 M.

Se notó que las mayores producciones algales se registraron en los estanques que se encontraban a la salinidad de 1.5M a diferencia de 2.5 M, bajo las mismas condiciones en el sistema de cultivo. El mayor rendimiento de producción algal en los estanques de plástico blanco con un valor promedio de producción algal de 10,430,000 cel/ml, con desviación estándar de 4.28×10^6 , seguido de los estanques de vidrio con un valor promedio de 9,974,500 cel/ml, con una desviación estándar de 3.94×10^6 y por último los estanques de plástico traslúcido con un valor

promedio de 9,160,000 cel/ml, con una desviación estándar de 4.43×10^6 (Fig. 19).

Los resultados obtenidos durante el trabajo de investigación en el cultivo masivo de *Dunaliella salina* (Teoderesco), concuerdan con lo reportado por Borowizka (1988) que indica que el máximo rendimiento calculado se obtiene a bajas salinidades.

Siendo las mayores producciones algales obtenidas en la salinidad de 1.5 M, teniendo como el estanques más adecuado el de material de plástico blanco en comparación del resto de los estanques en evaluación. Esto se debe a la acumulación de ondas de luz por medio de la reflexión de luz que se obtienen sobre las paredes del estanque mencionado, para lo cual se aprecian la tendencia de producción algal en los diferentes materiales de estanques sometidos a las salinidades de 1.5 M y 2.5 M durante el periodo de evaluación (Fig. 20).

Al tener diferencias marcadas en su producción en las salinidades de 1.5 M y 2.5 M tiene como consecuencia que a mayor salinidad se ve afectadas el número de generaciones (Fig. 21), donde a altas salinidades se produce altas concentraciones de glicerol intracelular según Oren (1999), a fin de lograr una eficiente osmoregulación con su medio ambiente, la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) se queda con escasas energías para la

reproducción celular como resultado se obtiene un bajo crecimiento celular (Fig. 22). Reportaron que en condiciones de saturación de NaCl, se extiende el tiempo de división celular. Desmontrándose que en los estanques de vidrio la diferencia fue de 13.12 horas/generaciones, en los estanques de plástico traslúcido fue de 8.23 horas/generaciones y en los estanques de plástico blanco la diferencia fue de 8.19 horas/generaciones (Fig. 23).

Referente a la temperatura se llegó a mantener un rango de 27 °C a 30 °C para poder evitar inconvenientes en su crecimiento poblacional, a la vez se trabajo con luz artificial durante todo el periodo de cultivo, que tuvieron un promedio de $141 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ (7,200 lux).

Cuando las temperaturas son altas estas afectan al funcionamiento del complejo fotosintético, pero no es la única razón que puede explicar la baja densidad celular reportada a la salinidad de 2.5 M, en este trabajo de investigación al igual a lo reportado por Borowizka (1988), Ben y Avron (1989), las temperaturas superiores a 40 °C. inhiben el crecimiento debido al efecto desestabilizante sobre las membranas tilicoidales y citoplasmáticas. Las altas temperaturas también pueden estimular la excreción de glicerol que puede provocar un aumento del contenido bacteriano.

La tasa de crecimiento que se obtuvieron en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a la salinidad de 1.5 M, dieron como resultado que durante el cuarto día se mantienen, ya que la tendencia en los siguientes días es que la tasa de crecimiento comienza a disminuir drásticamente, esto como consecuencia de la disminución de nutrientes en el medio de cultivo (Fig. 24). A la salinidad de 2.5 M la tendencia es diferente ya que en el segundo día la tasa de crecimiento se mantienen y en los siguientes días tiende a disminuir (Fig. 25).

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

En el trabajo de investigación realizado se han obtenido las siguientes conclusiones:

- Las producciones algales óptimas se producen a la salinidad de 1.5 M en comparación con la salinidad de 2.5 M, llegando a tener una diferencia final de 100 % aproximadamente (casi el doble). Comprobándose en la tasa de crecimiento, el número de generaciones, la velocidad de crecimiento y el tiempo de generación durante el cultivo microalgal.
- Referente a los tipos de estanques en evaluación, a la salinidad de 1.5 M la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco) tienden a tener un mismo comportamiento en su producción, siendo el estanque de plástico blanco el más eficiente, seguido del estanque de vidrio y por último el estanque de plástico traslúcido.
- Las paredes de los estanque de plástico blanco favorecen a la acumulación de energía de las ondas de luz, dando como el resultado el buen desenvolvimiento de crecimiento en la microalga. El

estanque en mención facilita mucho el trabajo en el sistema de cultivo, por sus características físicas donde podemos tener un buen manejo (también en su limpieza).

- Se comprobó que la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco), a la salinidad de 1.5 M tiene una buena producción hasta el cuarto día y que sería óptimo su producción hasta esta etapa de cultivo.
- El rango de temperatura de 27 °C a 30 °C, fue la óptima ya que brindó las condiciones adecuadas para un buen manejo en el sistema de cultivo. Se comprobó que el recubrimiento en el sistema favorece en mantener la temperatura y crear un ambiente aséptico.
- Utilizar luz artificial en el sistema de cultivo favoreció notablemente en la producción masiva algal de la microalga puesto que se mantuvo constante durante el periodo de cultivo con 141 $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ (7,200 lux) por estantería.
- Por otro lado se comprobó que las mangueras de siliconas son las más adecuadas en este tipo de cultivo.

5.2. RECOMENDACIONES

- Iniciar los cultivos de *Dunaliella salina* (Teoderesco) con densidades algales iniciales de 200,000 cel/ml en los sistemas de cultivo.

- Seguir con los estudios que evalúen el traslado de los cultivos controlados en laboratorio de la microalga *Dunaliella salina* (Teoderesco), hacia ambientes abiertos de salinidades más altas.

- Seguir las investigaciones respecto al perfil nutricional que contiene la microalga en estudio para poder probarla en dietas alimenticias de determinadas especies.

- Seguir con los estudios experimentales sobre la extracción de carotenos en los cultivos de *Dunaliella salina* (Teoderesco).

CAPITULO VI

GLOSARIO Y FUENTES DE INFORMACION

6.1 GLOSARIO

- **ABIOTICO:** Sin vida ni derivado de seres vivos. Componente sin vida del ecosistema. Lugar en que la vida es imposible.
- **ACLIMATACIÓN:** Modificaciones compensatorias en un organismo durante su permanencia bajo condiciones de laboratorio. Término utilizado para acondicionar los organismos sometidos a un bioensayo a las condiciones ambientales del laboratorio donde se conducirán a pruebas, generalmente, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto.
- **ACUICULTURA:** Actividad que tiene por objeto la producción de recursos hidrológicos organizada por el hombre. Es el cultivo de organismos acuáticos, que incluye peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas.
- **AEROBICO:** Proceso respiratorio en el cual hay consumo de oxígeno.
- **AEROBIO:** Organismo que tan sólo puede vivir y crecer en presencia de oxígeno.

- **AFLORAMIENTO:** Proceso por el cual se levanta de una baja o una alta profundidad, usualmente con un resultado de divergencia y corrientes fuera de la costa. Ascenso de agua profunda, rica en nutrientes, producido por la acción de vientos regulares a lo largo de una costa.
- **AFOTICO:** Que carece de luz
- **AIREACIÓN:** Introducción de aire dentro del agua.
- **ALGA:** Planta que vive en el agua o en ambientes muy húmedos. De estructura simple y carece de flores (luche, cochayuyo, huiro).
- **AMBIENTE:** Medio biótico y abiótico que rodea a un organismo. Conjunto de circunstancias y condiciones externas a un organismo.
- **ANAEROBICO:** Todo proceso respiratorio que no requiere de oxígeno. No requiere de oxígeno libre para llevar a cabo la respiración.
- **ANOXICOS:** Pobre en oxígeno libre; sin oxígeno libre.
- **ANAEROBICA, DESCOMPOSICION:** Es la descomposición incompleta de la materia orgánica por las bacterias, en ausencia de oxígeno.

- **ASIMILACIÓN:** Utilización de parte de biomasa o energía que es ingerida o que llega a un organismo.
- **AUTÓTROFO:** Organismo capaz de sintetizar su propio alimento desde fuentes inorgánicas, como ocurre en la mayor parte de las plantas verdes y algunas bacterias.
- **BAHÍA:** Entrada de mar en la costa, de amplia área marítima, con profundidad, protección, buen acceso y mareas bajas.
- **BENTÓNICO:** Organismos que viven y realizan sus funciones vitales en dependencia estricta de un sustrato.
- **BENTOS:** Organismos que permanecen o están fijados al fondo del mar o de aguas dulces. Comunidades de animales o plantas que viven en el suelo submarino y sobre el mismo, pero en estrecha relación con él.
- **BIOMASA:** Cantidad de materia viva. Es la cantidad de materia en los organismos por unidad de superficie o volumen expresado en unidad de peso. masa de material viviente. Es la cantidad de materia en los organismos por unidad de superficie o volumen expresada en unidad de peso. Cantidad total de material vivo de un cuerpo de agua particular.

- **BLOOM:** Término que se refiere a un aumento explosivo de la densidad de los organismos. ("Florecimiento"). Se caracteriza por un aumento cuantitativo notable y localizado de algunas especies de plancton produciendo notables decoloraciones del agua.
- **CAPACIDAD DE CARGA:** Densidad a la cual una población llega a un estado de equilibrio dinámico con el ambiente en ausencia de competidores y predadores.
- **CONCENTRACIÓN:** Cantidad de una sustancia dada en una unidad específica de una mezcla.
- **CONCENTRACIÓN LETAL AL 50 % (LC50):** Concentración a la cual cierta proporción de los organismos ensayados produce una respuesta en un período definido de tiempo, generalmente 12, 24 ó 96 horas.
- **CONTAMINACIÓN MARINA:** La introducción, por acción del hombre, de cualquier sustancia o energía en el medio marino (incluidos los estuarios) cuando produzca o pueda producir efectos nocivos tales como daños a los recursos vivos y a la vida marina, peligros para la salud humana, obstaculización de las actividades marítimas incluida la pesca y otros usos legítimos del mar, deterioro de la calidad del agua de mar para su utilización y menoscabo de los lugares de esparcimiento.

- **COLONIA:** Agrupación de células o animales que viven juntos.

- **CRITERIOS DE CALIDAD** (Del agua): Usos dados al agua, mejor uso. Vienen definidos por Normas de Calidad que incluyen parámetros y establecen límites.

- **CUERPO DE AGUA RECEPTOR:** masa de agua marina o continental, individualizable por sus características naturales, sus usos o por sus límites administrativos, cuya definición espacial es expresamente definida por la Autoridad Marítima, y que recibe descargas de residuos líquidos.

- **D.B.O.:** Demanda Bioquímica de Oxígeno. Es la cantidad de oxígeno requerida, para estabilizar la materia orgánica contenida en aguas contaminadas o aguas industriales residuales, que pueden descomponerse por la acción de microbios aéreos. Cantidad de oxígeno absorbido por un residuo en descomposición.

- **DENSIDAD DE POBLACIÓN:** Número de individuos de una población por unidad de superficie o volumen.

- **DISPERSIÓN:** Movimiento de los organismos o de sus elementos de disseminación hacia adentro o hacia afuera del área de la población.

- **DIVERSIDAD:** Número y abundancia relativa de las especies de un área determinada.
- **DIVERGENCIA:** Lo opuesto a Convergencia, se refiere a aguas que se mueven aparte de, o divergen de otras.
- **D.Q.O.:** Demanda Química de Oxígeno. Es la cantidad de oxígeno requerida para oxidar la materia orgánica e inorgánica contenida en el agua después de corregir la influencia de los cloruros. Es la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación de la materia orgánica a partir de un oxidante químico fuerte.
- **ECOTOXICOLOGÍA:** Nueva división de la toxicología que trata del estudio de químicos persistentes que pueden ejercer varios efectos tóxicos en varios sitios de un ecosistema.
- **EFFECTO AMBIENTAL:** Una consecuencia medible sobre algún componente básico del ambiente, provocada o inducida por cualquier acción del hombre.
- **EVALUACIÓN DE IMPACTO AMBIENTAL (E.I.A.):** La predicción o presunción del impacto ambiental de una actividad o proyecto específico, y la proposición de alternativas para prevenir o atenuar los

efectos degradantes o deteriorantes del ambiente que puedan seguirse de su realización o ejecución. Se la representa normalmente en un documento público que tiene el mismo nombre de la actividad. Actividad diseñada para identificar, predecir, interpretar y comunicar información sobre el impacto de la acción sobre la salud del hombre o su bienestar.

- **EMIGRACIÓN:** Movimiento de los individuos de sentido único hacia afuera del área de la población.
- **EMULSIFICACIÓN:** Proceso por medio del cual un líquido es dispersado en otro en forma de pequeñas gotas.
- **ESTABILIDAD:** Es una característica descriptiva de las poblaciones. Se aplica a una población que fluctúa poco y entre límites muy próximos.
- **ESPECIES EXOTICAS O FORANEAS:** Especies que no son propias del lugar o país; lo opuesto son las especies nativas. Especies incorporadas por el hombre a un ecosistema en el cual no existía en forma natural.
- **FERMENTACIÓN:** Tipo de respiración sin oxígeno en que el aceptor de electrones es un compuesto orgánico.

- **FERTILIZANTE:** Compuesto químico que aumenta la productividad del suelo.
- **FILTRADORES:** Animales acuáticos que obtienen su alimento filtrando las partículas suspendidas en el agua (cholga, piure, picoroco).
- **FITOPLANCTON:** Conjunto de vegetales que constituyen el plancton. Se define así al plancton de naturaleza vegetal capaz de sintetizar sus propias sustancias por fotosíntesis utilizando agua, gas carbónico y energía luminosa.
- **FOTOSÍNTESIS:** Proceso mediante el cual las plantas captura la luz solar para sintetizar compuestos ricos en energía, como glucosa, a partir de agua y dióxido de carbono. Proceso natural de singular importancia y altamente complejo en virtud de la cual las plantas verdes sintetizan compuestos orgánicos de anhídrido carbónico y agua en asociación con clorofila, bajo la acción de la luz del sol.
- **GRADIENTE TÉRMICO:** Aumento o disminución gradual de la temperatura a lo largo de un espacio, geográfico o del tiempo.

- **HABITAT:** Corresponde al lugar donde vive o se encuentra un organismo. Lugar que ordinariamente habita un organismo o grupo de organismos. Ambiente en el que vive un organismo o población.
- **HETERÓTROFO:** Organismos que son capaces de sintetizar su propio alimento y necesitan alimentarse de otros organismos.
- **INDICADORES BIOLÓGICOS:** Organismos que por su presencia (o ausencia) tienden a indicar condiciones medio ambientales.
- **IMPACTO AMBIENTAL:** La alteración positiva o negativa de la calidad ambiental, provocada o inducida por cualquier acción del hombre. Es un juicio de valor sobre un efecto ambiental. es un cambio neto (bueno o malo) en la salud del hombre o en su bienestar.
- **INHIBICIÓN:** Suspensión transitoria de una función o actividad de un organismo mediante la acción de un estímulo adecuado.
- **ISOTERMA:** Línea que une los puntos con igual temperatura. Una línea sobre una carta hidrográfica que conecta todos los puntos de igual o constante temperatura.

- **K (CAPACIDAD DE CARGA):** Corresponde a la densidad máxima que alcanza una población que se encuentra limitada por los recursos ambientales, en ausencia de depredadores y parásitos.
- **MAREA ROJA:** Crecimiento cuantitativo notable de algunas especies de dinoflagelados.
- **MATERIAL INERTE:** Refiérase en Contaminación proveniente de fuentes Mineras, a las escombreras o material diferente de los minerales que se explotan.
- **METALES PESADOS:** Iones de elementos metálicos como cobre, zinc, hierro, cromo y mercurio, los cuales generalmente son removidos del agua mediante la formación de precipitados insolubles, generalmente como hidróxidos metálicos.
- **MICROORGANISMO:** Organismo pequeño que no se ve a simple vista (bacteria, virus).
- **MONOCULTIVO:** Cultivo compuesto por una sola especie.

- **MONITOREO:** (Seguimiento) Medida de los contaminantes y de sus efectos con objeto de ejercer control sobre la exposición del hombre o de elementos específicos de la biosfera a esos contaminantes.
- **NECTON:** Organismos flotantes capaces de navegar, como peces, anfibios, pulpos, etc. Conjunto de organismos que nadan activamente venciendo los movimientos propios de las masas líquidas. Su tamaño fluctúa entre unos pocos centímetros a varios metros.
- **NERITICOS, ORGANISMOS:** Formas de vida que habitan en las aguas costeras.
- **PARAMETRO:** Constante numérica cuyo valor caracteriza a un miembro de un sistema. Como función matemática, es una cantidad a la cual el operador puede asignarle un valor arbitrario, se distingue de variable, la cual puede tomar sólo aquellos valores que haga la función posible.
- **PATÓGENO:** Que causa enfermedad.
- **PERTURBACIÓN:** Alteración de las condiciones de equilibrio de un sistema.

- **POLUCIÓN:** Es sinónimo de contaminación. Es un concepto legal y se refiere a lo que hace que un medio determinado, generalmente fluido, el agua o la atmósfera, se considere ya inapropiado para determinado uso.
- **POBLACIÓN:** Grupo de organismos que habitan un espacio en un tiempo dado y se reproducen entre ellos. Conjunto de individuos de una misma especie que habitan áreas comunes y presentan un nivel de organización y estructura propia, con un patrón reproductivo, comportamiento, crecimiento y tasa de renovación similar.
- **PRODUCTIVIDAD PRIMARIA:** Producción de biomasa por unidad de tiempo. cantidad total de materia orgánica que es formada en cierto tiempo por actividad fotosintética de las plantas.
- **PRESERVACIÓN:** La mantención del estado natural original de determinados componentes ambientales, o de lo que reste de dicho estado, mediante la limitación de la intervención humana en ellos al nivel mínimo, compatible con la consecución de dicho objetivo.
- **RESIDUOS BIOLÓGICOS:** Desechos producidos por organismos vivos, mirado desde un punto de vista del hombre.
- **RESIDUO LÍQUIDO:** Efluente residual evacuado desde las instalaciones de un establecimiento productivo o de servicios de carácter público o

privado, cuyo destino directo o indirecto son los cuerpos de agua receptores.

- **REPOBLACIÓN:** Es la acción que tiene por objeto incrementar el tamaño o la distribución geográfica de la población de una especie hidrobiológica, por medios artificiales.
- **SALINIDAD:** Es el contenido de sal que se encuentra disuelto en suelo o en agua.
- **SEDIMENTACIÓN:** Proceso en el cual las sustancias en suspensión se depositan en el fondo.
- **SEDIMENTO:** Material (minerales, materia orgánica, etc.) que habiendo estado suspendido en un líquido, se deposita en el fondo.
- **SÓLIDOS TOTALES:** es la suma de los sólidos disueltos y los sólidos en suspensión.
- **SÓLIDOS SUSPENDIDOS:** Son los residuos filtrados del agua, desecados a la temperatura normalizada, después de haberlos lavado con un disolvente orgánico con el fin de eliminar aceites.

- **SÓLIDOS DISUELTOS:** Son los residuos de la evaporación del agua filtrada, desecados a la temperatura normalizada.
- **SUSTANCIAS ORGÁNICAS:** se designa una amplia gama de sustancias simples o compuestas, de rápida o lenta degradación y/o persistencia, de ninguna, poca o alta toxicidad, generalmente presentes como residuos de las actividades humanas, que llegan al medio marino por diversas fuentes.
- **TASA DE AUMENTO:** Índice numérico que indica el incremento de individuos en el tiempo.
- **TASA DE MORTALIDAD:** Fracción de la población existente al comienzo de un año que morirá en el transcurso del mismo.
- **TASA DE SUPERVIVENCIA:** Fracción de la población que sobrevive en el transcurso de un año.
- **TERMOCLINA:** Gradiente vertical brusco de temperatura que se produce por la mezcla de aguas frías y calientes. Es aquella zona de la capa superficial del océano en la cual la temperatura del agua del mar tiene una rápida disminución en sentido vertical, con poco aumento de la profundidad. Capa delgada de agua colocada entre la parte superficial más

cálida y la más fría del fondo. se caracteriza por el rápido cambio de un grado de temperatura o más por metro de profundidad.

- **TOLERANCIA:** Resistencia adquirida por los organismos contra los tóxicos u otros estímulos, seguido de exposiciones continuas o exposiciones repetidas.
- **TOPOGRAFIA:** Conjunto de particularidades que presenta un terreno en su configuración superficial.
- **TOXICO:** Venenoso, que posee las propiedades de un veneno.
- **TRATAMIENTO QUIMICO:** Tratamiento de efluentes, generalmente oxidación química, reducción, neutralización ácido-álcali, precipitación, coagulación y sedimentación.
- **TURBIEDAD:** Es el aspecto que ofrece un líquido a causa de la presencia de materias en suspensión. Su intensidad puede servir para apreciar la concentración de estas materias.
- **VARIANZA:** Dispersión que presenta un conjunto de datos en torno a la media. Medida de dispersión de los datos con respecto al promedio.

- **VOLATILES:** Que se evapora rápidamente.

6.2. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. ABC K, Nishimura N, Hirano (1999) Simultaneous production of – carotene, vitamin E and vitamin C By the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. J. appl. Phycol.
2. Aguilar CP (1995) Crecimiento y ciclo de vida de la microalga *Dunaliella salina* Teoderesco (chlorophyta, volvocales) de las salinas de los Chimus (Ancash) y las salinas de Chilca (Lima), Tesis para obtener el título de Licenciado en biología.
Universidad Ricardo Palma. Lima – Perú.
3. Anderson, D.W. y N. Smith. 1983. The culture of larval foods at the Oceanic Institute Hawaii. En *Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture*, de J. McVey, pp. 97 – 101.
4. Arena P, Tapia I, Goimez-Silva microalgas del Norte de Chile II. Cultivo en medios de bajo costo de dos cepas de *Dunaliella salina* (Teoderesco 1905) nativas del desierto de Atacama. *Estud. Oceanol. Atacama desierto – Chile*.
5. Barbieri Junior, Roberto. 1999. Perspectivas para la acuicultura latinoamericana en el III milenio. En *Revista Peruana De Acuicultura*,

Suplemento Especial; Anales "I Seminario Internacional Acuicultura: Proyecciones para el Nuevo Milenio" 22-24 Sept. 1999 Lima – Peru, 61 p.

6. Bardach, J.E., J. H. Ryther y Mc. Larney. 1972. Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms. New York: Wiley Interscience.
7. Ben-Amotz A, Katz A and Avron M. 1982. Accumulation of beta-carotene in halotolerant algae: purification and characterization of beta-carotene rich globules from *Dunaliella Bardawil* (Chlorophyceae). J. Phycol. 25: 175-178.
8. Ben-Amotz, A & M, Avron. 1990. The biotechnology of cultivating the halotolerant alga *Dunaliella*. Trends in Biotechnology p 121-122.
9. Billard, R. 1980. La polyculture en Etang. En la pisciculture en Etang, ed. Billard, pp 267-289. Paris.
10. Borowitzka L.J., Borowitzka MA, Moulton TP 1984. The mass culture of *Dunaliella salina* for fine chemical: the laboratory to pilot plant. Hydrobiologia 116/117: 115-121.

11. Borowitzka MA and Borowitzka L.J.: 1988. *Dunaliella*. In Microalgal Biotechnology MA Borowitzka and L.J. Borowitzka (eds.). Cambridge University Press, Cambridge: 27-58.
12. Borowitzka, L.J. & A, Brown. 1974. The salt relations of marine and halophilic strains of the unicellular green alga, *Dunaliella*. The role of glycerol as a compatible solute. Archives of Microbiology, 96:374-52.
13. Brown, A.D. & L.J, Borowitzka 1979. Halotolerance of *Dunaliella*. In Biochemistry and physiology of protozoa, Vol 1,2, ed. M. Levandowsky & Hunter, pp 139-190. New York. Academic Press.
14. Bruce, J.R.,m. Knight y M.W. Parke. 1940. The rearing of oyster larvae on an algal diet. J. Mar. Biol. Assoc. UK 24: 337-74.
15. Burlew, J.S. 1953. algal culture from laboratory to pilot plant. Carnegie Institution of Washington Publ. 600, Washington. DC, ixz 357 p.
16. Cifuentes AS, Gonzales M. Parra O y Zúñiga M 1996. Cultivo de cepas de *Dunaliella salina* (Teoderesco 1905) en diferentes medios bajo condiciones de laboratorio. Rev. Chilena de Hist. Natural 69: 1-8.
17. Cifuentes, A. S., M.a, Gonaes & O.O. Parra. 1995. Metodos para el cultivo de microalgas de ambientes hipersalinos. En Manual de Metodos

Ficologicos. K. Alveal, M.E. Ferrario, E. C. Olivera y E. Sar (eds.).

Universidad de Concepción. Concepción – Chile: 251-274.

18. Claus, 1981. Trends in nursery rearing of biovalve mollusks. European Mariculture Society-Special publication, 7, 35-69.
19. Cowan AK, Rose PD and Horne L.G. 1992. *Dunaliella salina*: a model system for studying the response of plant cells to stress. J. of Experimental Botany 43:1535-1547.
20. Cueva, C. y N. Aguado. 1997. Efecto de salinidad y fotoperiodo en la Bioquímica de *Dunaliella salina*. Anales del Congreso Peruano de Ecología, 25-28 Marzo de 1997.
21. Davis, H & R. Guillard 1958. Relative value of ten genera of micro-organisms as food for oyster and clam larvae. Fishery Bulletin of the fish and wildlife service, 58. 293-304.
22. De Pauw, N y Jaspers. 1981. Nursery culturing of bivalve mollusc. Bredene: European Mariculture society.
23. Falkowsky PG 1994. Physiological responses of phytoplankton to natural light regimes. J. Plankton Res. 6: 295-307.

24. Foyns, B. 1934. Labenszylus, cytology und sehialitat der Chorophycvee
Cladophora Suhriana Kutzing Arch. Protistent, 8., 1-56.
25. Goldman, J.C. 1979. Outdoor algal mass cultures. I Applications Water
Research, 13, 1-19 p.
26. Gomez-Pinchetti JL. Ramazanoz LK, Fonter A and Garcia-Reina G 1992.
Photosinthetic Characterist of *Dunaliella salina* (Chlorophyceae,
Dunaliellales) in relation to beta-carotene content. J. Applied Phycol. 4:
11-15.
27. Hall, R.P. 1965. Protozoan nutrition. Blasdell Publ. Co., New York, 90 pp.
28. Huet, M. 1970. }Traite de pisculture, 4 Th edm. Bruxelles: Editions de
wijngaest.
29. Jeffrey, S.W., M.R. Brown y C.D. Garlan. 1994. Microalgae for
mariculture. CSIRO Division of Fisheries, Hobart, Tasmania, Australia, 79
pp.
30. Korringa P. 1976. Farming marine Organisms Law in the Food Chain.
Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam, 264 pp.

31. Krinski, N.I. 1988. The evidence for the role of carotenes in preventive health *Clinical Nutrition* 7:107-112.
32. Langdon, C.J., D.M. Levine y D.A. Jones. 1985. Microparticulate feeds for marine suspension-feeders. *J. Microencapsulation* 2:1-11.
33. Langdon, C.L. y M.J. Waldock. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 61:31-48
34. Langdon, C.L. y R. I. Newell. 1996. Digestion and nutrition of larvae and adults. In Kennedy, V.S., Newell, R.I. y Eble, A. *The Easterns Oyster, Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant Publication, Maryland Sea Grant College, College park, MD. pp. 231-70.
35. Loeblich, L.A: 1982. Photosynthesis and pigments influenced by intensity and salinity in the halophilie *Dunaliella salina* (Chloropyta). *Journal of the Marine Biological Association, UK*, 62, 493-508.
36. Loosasanoff, V.L. y H.C. Davis. 1963. Rearing of bivalve mollusks. In Russell, F,S, *Advances in Marine Biology*, I Academic Press, London, pp. 1-136.

37. Mogollon A., S. V. 1987. Aislamiento u cultivo de microalgas de ambientes marinos y dulce acuicolas. Tesis optar titulo de Ing. Pesquero, Hidrobiologo y Oceanógrafo. Univ. Nac. Federico Villareal, Lima-Peru. 116 pp.
38. Navalho, J. (1998). Biotecnología de *Dunaliella salina* para la producao de beta-caroteno. Tese de Maestrado em aquacultura. Universidade do Algarbe (Unidade de Ciencias e Tecnologías dos Recursos Aquaticos). 115 p.
39. Olivera, A., C. Barberena y L. Vinatea. 1988. Producción en masa de microalgas *Chatoceros gracilis*, *Isochrysis* sp., *Tetraselmis chui* y *Dunaliella viridis*. En anales noveno Congreso Nacional de Biología y IV Simposio Nacional de Educación en Ciencias Biológicas, 27 Nov. Al 02 de Dic. 1988. Piura – Peru.
40. Olliver B, Caumette P, Garcia J.L. and Mah RA. 1994. Anaerobic bacteria from hypersaline environmentys. *Microbiological Reviews* 58: 27-38.
41. Oren A. 1999. Bioenergetic aspects of halophilism. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 334-348.

42. Parsons, T.R., K. Stephens y J.D. Strickland. 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. J. Fish. Res. Board Can. 18:1001-16.
43. Persoone, G. y C. Claus. 1980. Mass culture of algae: a bottle-neck in the nursery culturing of mollescs. In *Algae Biomass*, de G. Shelef & C.J. Soeder, pp. 365-85. Amsterdan, Elsevier/North Holland Biomedicval press.
44. Powell, R.C. y E.M. Nevels. 1958. Algae feeding in humans. J. Nutr. 75:7-24.
45. Preisig HR 1992. morphology and taxonomy of *Dunaliella*. In *Dunaliella Physiology. Biochemistry and Biotechnology* M. Avron & A. Ben-Amozt (eds.). CRC Press, Boca raton, Florida: 1-16.
46. Pringshein A., E.G. 1967. Kultuversuche mit chlorophyll fiihrenden Mikrooorganismen. Beltt. Biol. Pfl.,
47. Provasoli, L 1963. Growing marine seaweeds. In deyirviller, D. and Feldmann, J., eds., proc. Int. seaweed. Symp. (composition of marine mediawith an indication of suitability for various species).

48. Quesquen F., R. 1996 Evaluacion del Crecimiento de Artemia del departamento de Lima. Tesis para optar titulo de ingeniero Pesquero. Univ. Nac. del Callao. 169p.
49. Robert, J.M., S.Y. Maestrini, M. Bages, J.P. Oreno y E Gonzales-Rodriguez. 1979 Estimation, au moyen de tests biologiques, de la fertilité pour tríos diatomess des eauxides claires a huitres de vendee. Oceanologica Acta 1, 275-286.
50. Robert, R. y P. Trintignac. 1997. Substitutes for live microalgae in mariculture: a review. Aquat. Living Resour. 10:315-27.
51. Serpa Ibáñez Felipe (2000) Caracterización Bioquímica del Contenido de carotenoides y Clorofila de Cuatro Cepas Peruanas de *Dunaliella salina* Teoderesco, tesis para obtener el título de licenciado en Biología. Universidad Agraria la Molina.
52. Spectorova, L.V. O.I. Goronkova, L.P. Nosova & O.N. Albitskaya. 1982. Hig density culture of marine microalga- promising items for mariculture. I. Mineral feeding regime and installations for culturing *Dunaliella Tertiolecta* butch. Aquaculture, 26. 289-302.

53. Spencer, C. 1954 Studies on the culture of a marine diatom. J. Mar. Biol. Ass. UKJ. 33:265-290.
54. Stowe, H.D. 1984. Beta-carotene and bovine reproduction in: The compendium on continuing Education for the practicing Veterinarian, Vol 6, pp 5167-5175.
55. Sukenik A, Bennet J, Mortain-Bertrand A and Falkowski 1990. Adaptation of the photosynthetic apparatus to irradiance in *Dunaliella salina*. Plant Physiol. 92: 891-898.
56. Ukeles, R y G.H. Wikfors. 1982. Design, construction, and operation of a rearing chamber for spat of *Crassostrea virginica*. (Gmelin). J. Shellfish Res. 2:35-9.
57. Ukeles, R. 1976. Views on bivalve larvae nutrition. In Price, K.S., J.R. Shaw, W.N. y Danger, K.S. Proceedings of the First International Conference on Aquaculture Nutrition. Delaware Sea Grant Publ. DEL-SG-17-76, Lewes, Delaware. Pp. 127-62.
58. Villanueva Irma 2000. Cultivo de microalgas halotolerantes de interes en la acuicultura. Tesis para optar titulo de Ing. Pesquero. Univ. Nac. del Callao – Peru. 285pp

59. Vos, J., P.H. Leger, P. Vanhaecke y P. Sorgeloos. 1984. Quality evaluation of brine shrimp *Artemia* cysts produced in Asian Salt ponds. *Hydrobiologic*, 108: 17-23 p.
60. Watanabe, T. y R.G. Ackman. 1974. Lipids and fatty acids of the American (*Crassostrea virginica*) and European flat (*Ostrea edulis*) oysters from a common habitat and after one feeding with *Dicrateria inornata* or *Isochrysis galbana*. *J. Fish. Res. Board Can.* 70:1417-24.
61. Wikfors G.H. y M. Ohno. 2001. Impact of algal research in aquaculture. *J. Phycol.* 37, 968-974.
62. Willians, W.D. 1981. Inland salt lakes. An introduction *hydrobiologia* 81:1-14.
63. Yamano, S; Ishii, T; Nakagawa, M; Ikenaga, H; Misawa, N. (1994). Metabolic emngineering for production of beta-caroteno and lycopene in *Saccharomyces cervisiae*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1112-1114.

ANEXOS

TABLAS Y FIGURAS

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido, a la salinidad de 1.5 M. Teniendo como inicio de cultivo a 200,000 cel/ml.

Días	ESTANQUES		
	Vidrio	Plástico Traslúcido	Plástico Blanco
0	200,000	200,000	200,000
1	575,000	500,000	560,000
2	1,300,000	1,190,000	1,560,000
3	3,350,000	3,000,000	4,135,000
4	8,260,000	7,550,000	8,610,000
5	9,050,000	8,260,000	9,490,000
6	9,960,000	9,130,000	10,450,000
$\sigma \times 10^6$	4.28	3.92	4.44

Figura 1. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido.

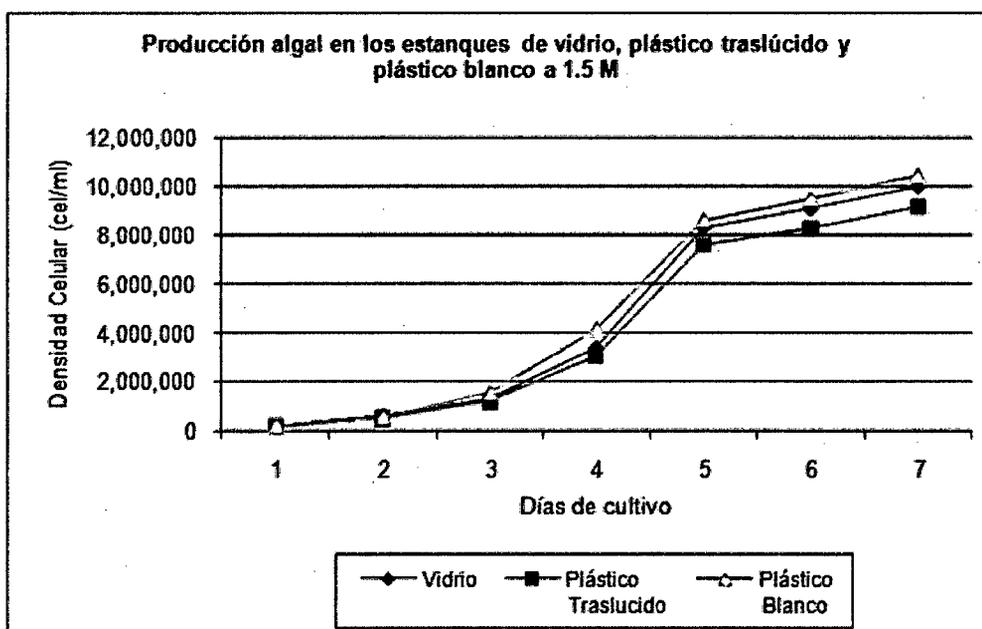


Figura 2. Número de generaciones celulares obtenidas en la producción algal a la salinidad de 1.5 M.

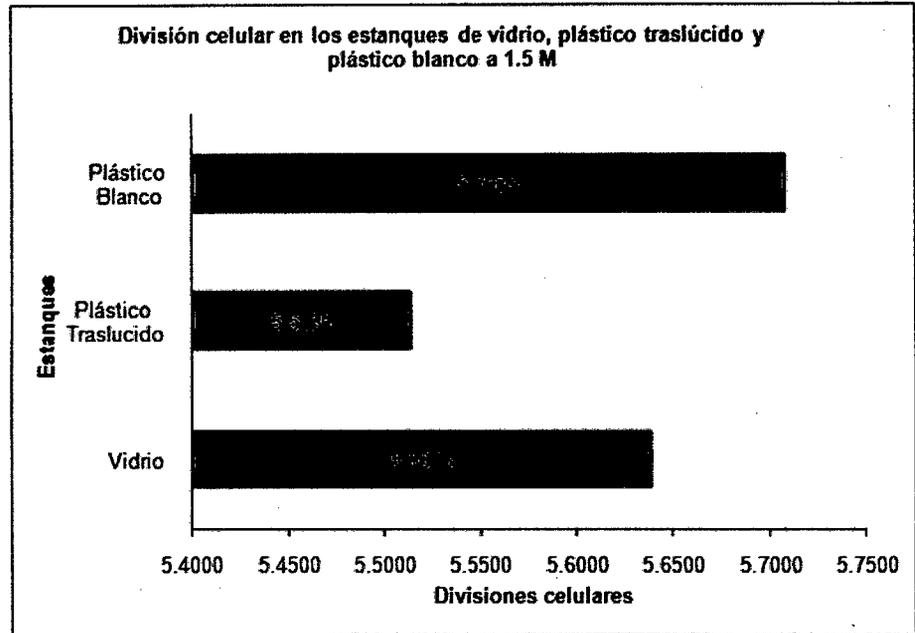


Figura 3. Evaluación de la producción algal teórica y práctica a la salinidad de 1.5 M.

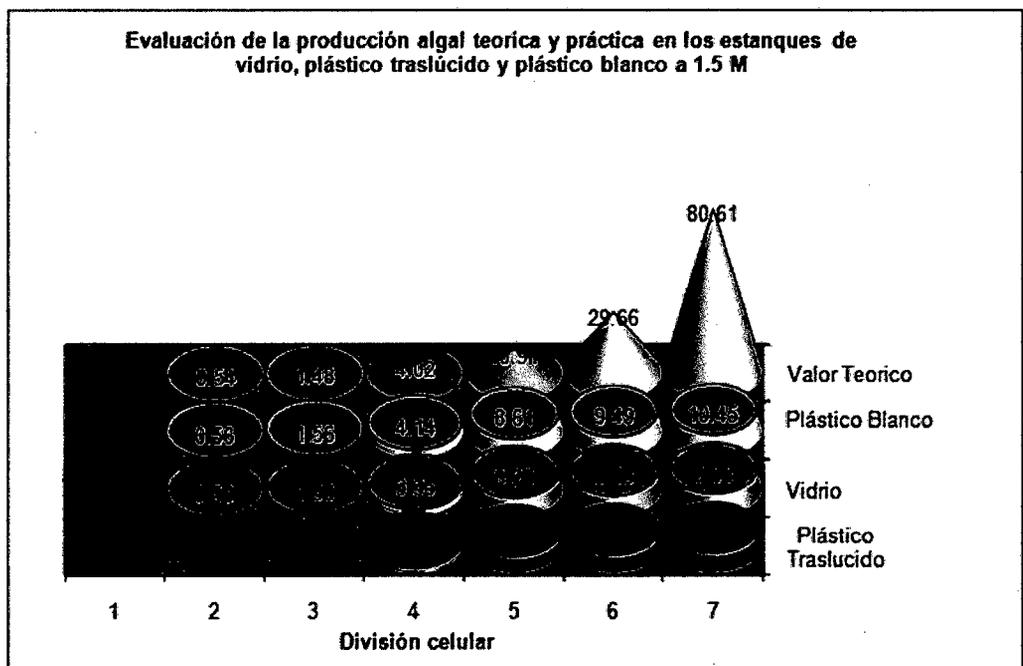


Tabla 2. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido, a la sanidad de 1.5 M. Teniendo como inicio de cultivo de 200,000 cel/ml.

Dias	ESTANQUES		
	Vidrio	Plástico Traslúcido	Plástico Blanco
0	200,000	200,000	200,000
1	570,000	490,000	600,000
2	1,280,000	1,160,000	1,580,000
3	3,360,000	3,050,000	4,317,500
4	8,210,000	7,580,000	8,650,000
5	9,080,000	8,370,000	9,450,000
6	9,963,500	9,170,000	10,430,000
$\sigma \times 106$	4.28	3.95	4.42

Figura 4. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido.

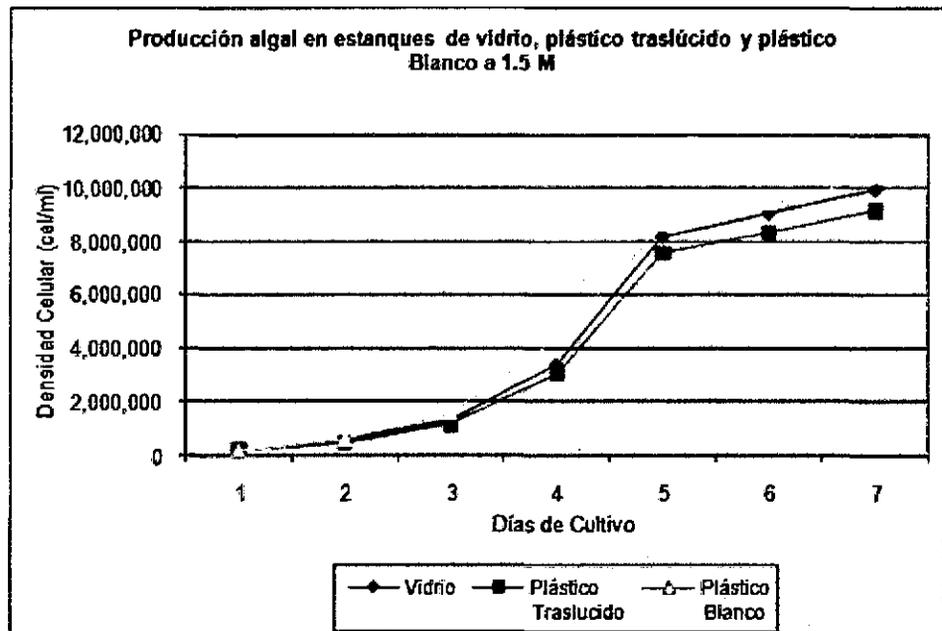


Figura 5. Número de generaciones celulares obtenidas en la producción algal a la salinidad de 1.5 M.

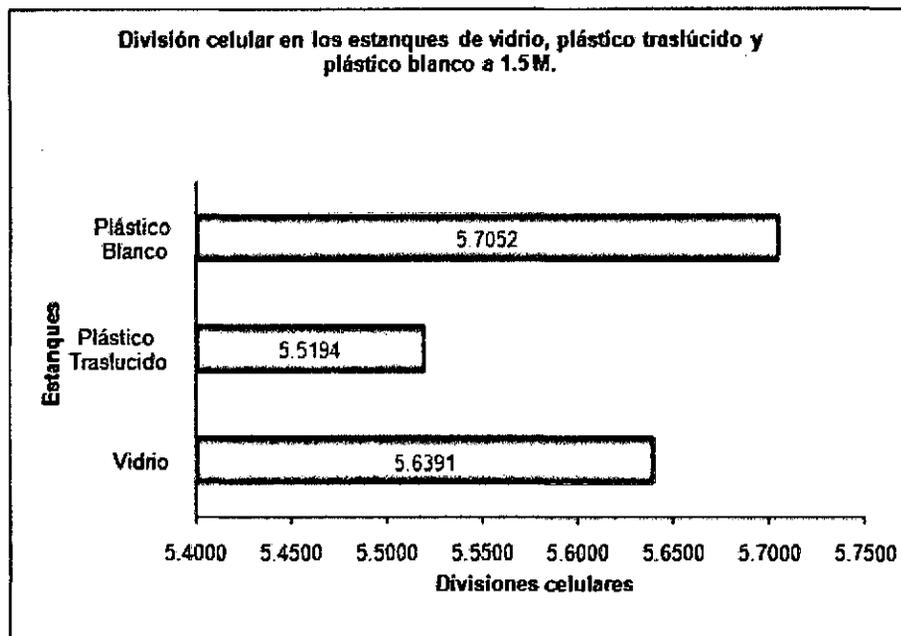


Figura 6. Evaluación de la producción algal teórica y práctica a la salinidad de 1.5 M.

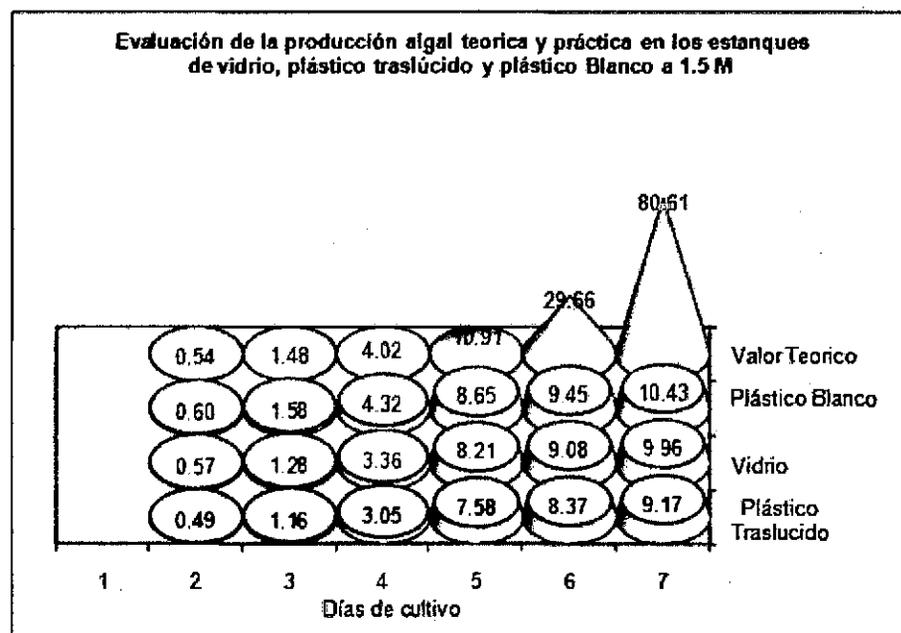


Tabla 3. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido, a la sanidad de 1.5 M. Teniendo como inicio de cultivo de 200,000 cel/ml.

Días	ESTANQUES		
	Vidrio	Plástico Traslúcido	Plástico Blanco
0	200,000	200,000	200,000
1	590,000	510,000	610,000
2	1,230,000	1,130,000	1,540,000
3	3,430,000	3,040,000	4,137,500
4	8,250,000	7,580,000	8,600,000
5	9,065,000	8,340,000	9,500,000
6	10,000,000	9,180,000	10,410,000
$\sigma \times 10^6$	4.29	3.95	4.43

Figura 7. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido.

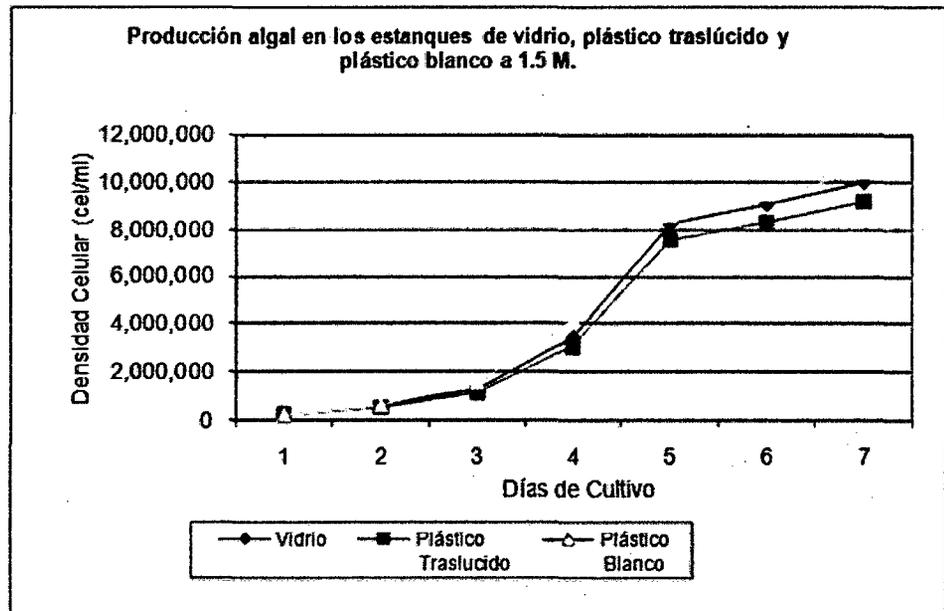


Figura 8. Número de generaciones celulares obtenidas en la producción algal a la salinidad de 1.5 M.

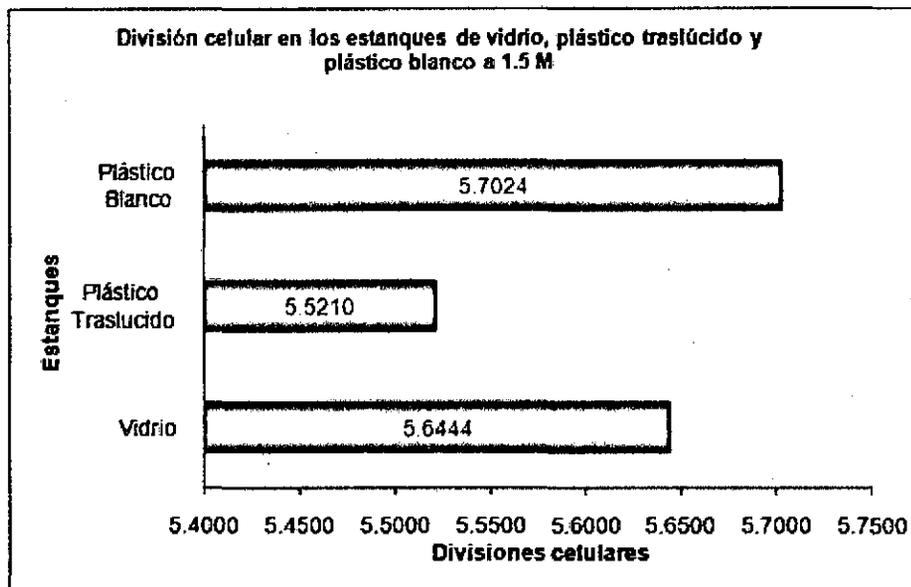


Figura 9. Evaluación de la producción algal teórica y práctica a la salinidad de 1.5 M.

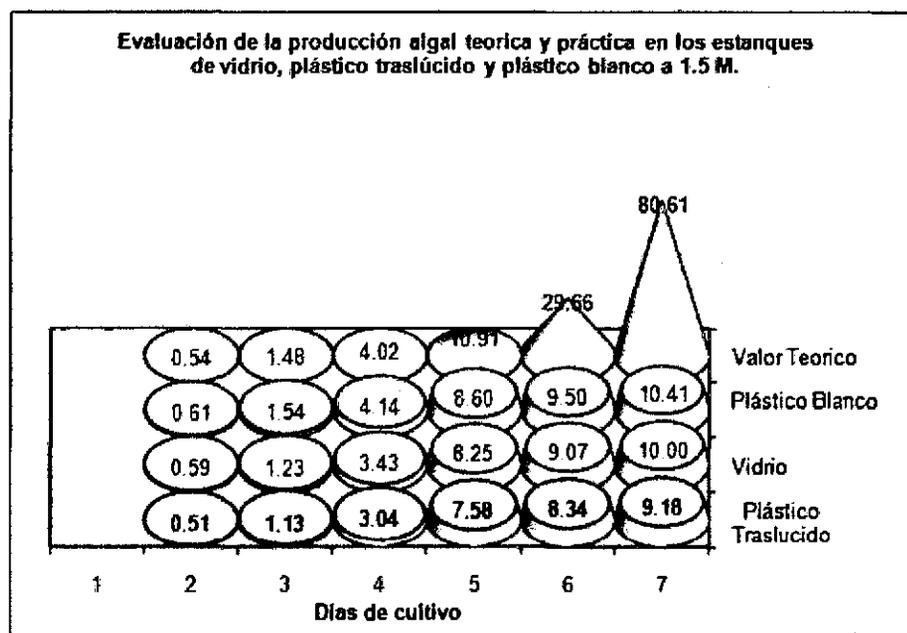


Tabla 4. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido a la salinidad de 2.5 M. Teniendo como inicio de cultivo de 200,000 cel/ml.

Días	ESTANQUES		
	Vidrio	Plástico Traslúcido	Plástico Blanco
0	200,000	200,000	200,000
1	410,000	422,500	415,000
2	757,500	880,000	925,000
3	1,090,000	1,187,500	1,447,500
4	2,230,000	3,022,500	3,850,000
5	2,475,000	3,845,000	4,582,500
6	3,527,500	4,325,000	5,017,500
$\sigma \times 10^6$	1.24	1.71	2.06

Figura 10. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido.

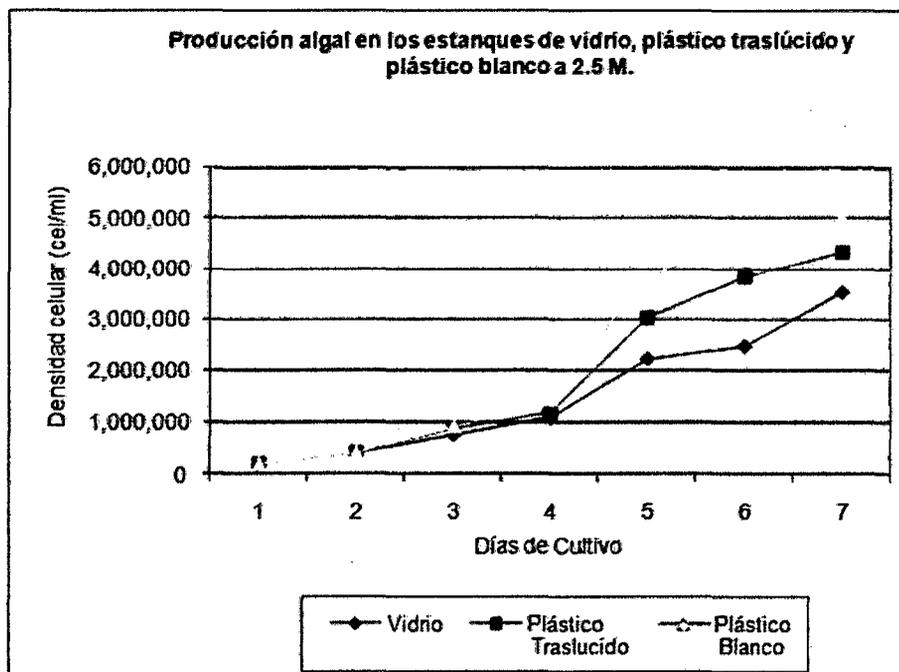


Figura 14. Número de generaciones celulares obtenidas en la producción algal a la salinidad de 2.5 M.

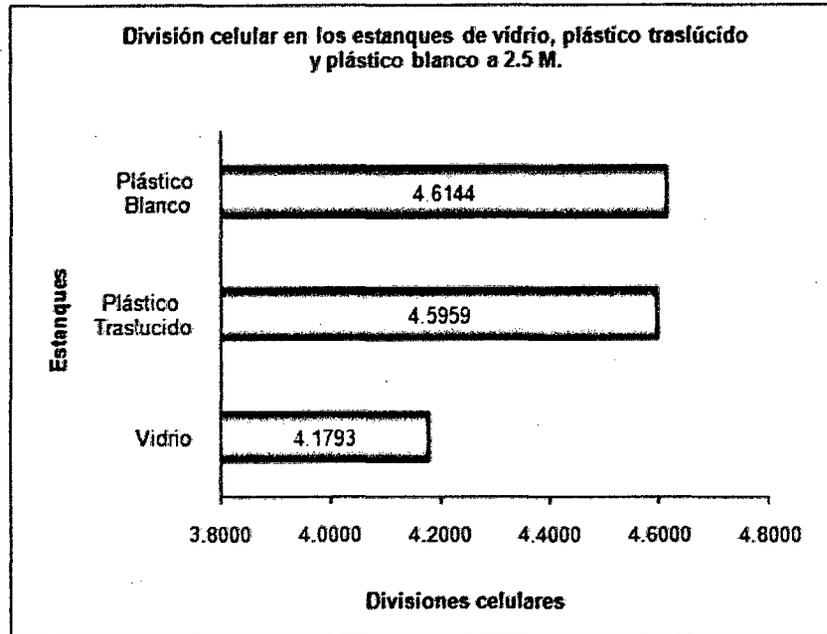


Figura 15. Evaluación de la producción algal teórica y práctica a la salinidad de 2.5 M.

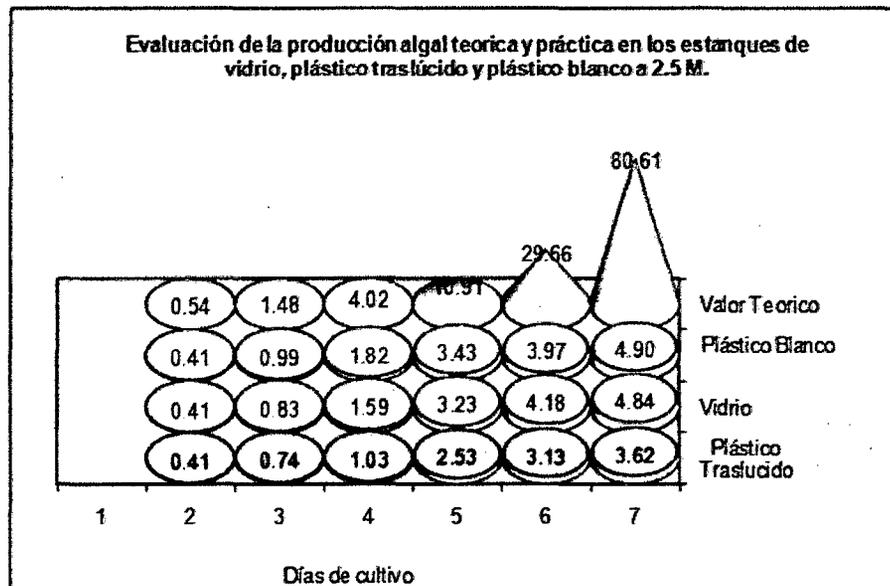


Tabla 6. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido a la salinidad de 2.5 M. Teniendo como inicio de cultivo de 200,000 cel/ml.

Días	ESTANQUES		
	Vidrio	Plástico Traslúcido	Plástico Blanco
0	200,000	200,000	200,000
1	422,500	405,000	417,500
2	797,500	855,000	1,042,500
3	972,500	1,495,000	1,872,500
4	2,280,000	3,240,000	3,492,500
5	3,365,000	4,455,000	4,500,000
6	3,562,500	4,675,000	5,227,500
$\sigma \times 10^6$	1.40	1.91	2.02

Figura 16. Producción algal de la cepa *Dunaliella salina* (Teoderesco), en un medio de cultivo enriquecido.

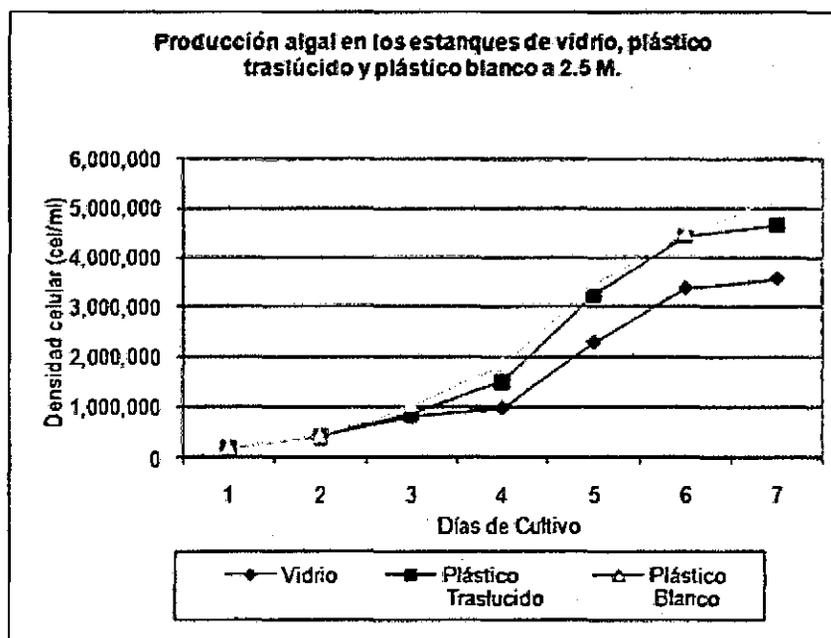


Figura 17. Número de generaciones celulares obtenidas en la producción algal a la salinidad de 2.5 M.

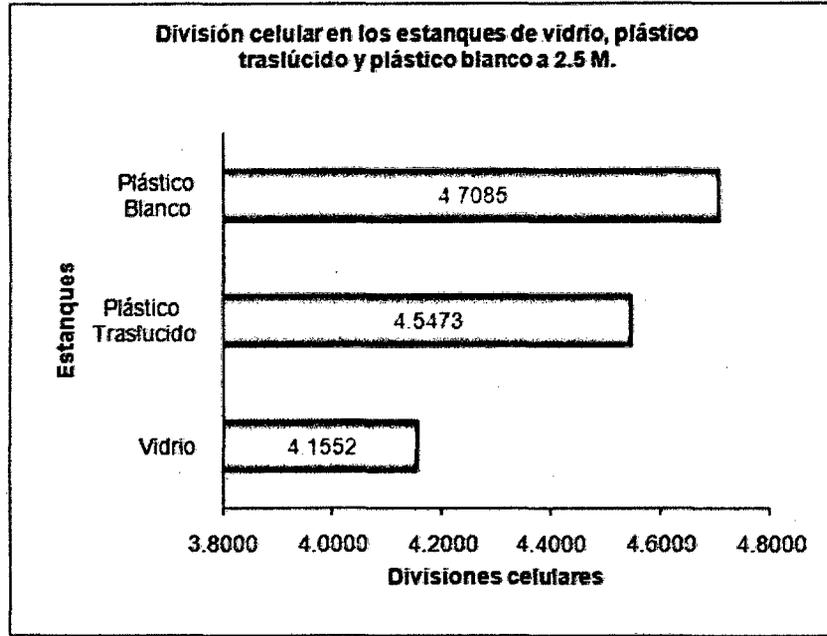


Figura 18. Evaluación de la producción algal teórica y práctica a la salinidad de 2.5 M.

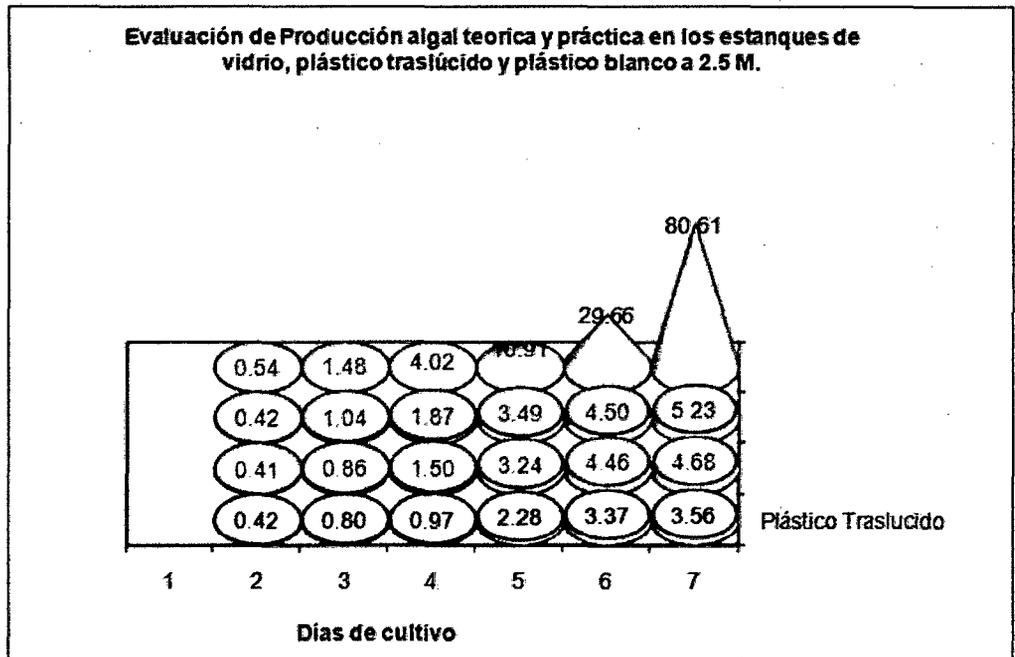


Tabla 7.- Tasa de crecimiento en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico en las salinidades de 1.5 M y 2.5 M, y mostrándose los valores mínimos y máximos obtenidos durante el periodo de evaluación.

Días	ESTANQUES DE CULTIVO MASIVO ALGAL DE <i>Dunaliella salina</i> (Teoderesco)					
	Vidrio a 1.5 M	Plástico Traslucido a 1.5 M	Plástico Blanco a 1.5 M	Vidrio a 2.5 M	Plástico Traslucido a 2.5 M	Plástico Blanco a 2.5 M
1	0.0638	0.0551	0.0650	0.0436	0.0433	0.0439
2	0.0473	0.0506	0.0585	0.0370	0.0441	0.0518
3	0.0589	0.0577	0.0595	0.0178	0.0301	0.0330
4	0.0536	0.0550	0.0433	0.0494	0.0484	0.0448
5	0.0057	0.0057	0.0057	0.0142	0.0164	0.0115
6	0.0057	0.0058	0.0057	0.0112	0.0062	0.0090
Minimo	0.0057	0.0057	0.0057	0.0112	0.0062	0.0090
Maximo	0.0638	0.0577	0.0650	0.0494	0.0484	0.0518

Tabla 8.- Promedio de la producción algal durante el proceso de cultivo en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a la salinidades de 1.5 M y 2.5 M, donde se aprecia en número de generaciones, la velocidad de crecimiento (generaciones/hora) y el tiempo de generaciones (hora/generaciones).

Resultados	Estanques de Producción de 30,000 ml.					
	Vidrio 1.5 M	Vidrio 2.5 M	Plástico Traslúcido 1.5 M	Plástico Traslúcido 2.5 M	Plástico Blanco 1.5 M	Plástico Blanco 2.5 M
Cultivo Inicial (cel/ml.)	200,000	200,000	200,000	200,000	200,000	200,000
Cultivo Final Promedio (cel/ml.)	9,974,500	3,570,800	9,160,000	4,611,700	10,430,000	5,047,500
Desviación Estándar Promedio ($\times 10^6$)	4.28	1.35	3.94	1.84	4.43	1.98
Nº de Generaciones	5.64	4.16	5.52	4.53	5.71	4.66
Tiempo de Generaciones (hora/generaciones)	36.83	49.95	37.65	45.88	36.41	44.6

Figura 19.- Producción algal en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a la salinidades de 1.5 M y 2.5 M durante el periodo de cultivo, la densidad inicial es de 200,000 cel/ml y los datos finales también son expresados en cel/ml, en los estanques de 30,000 ml por estanque.

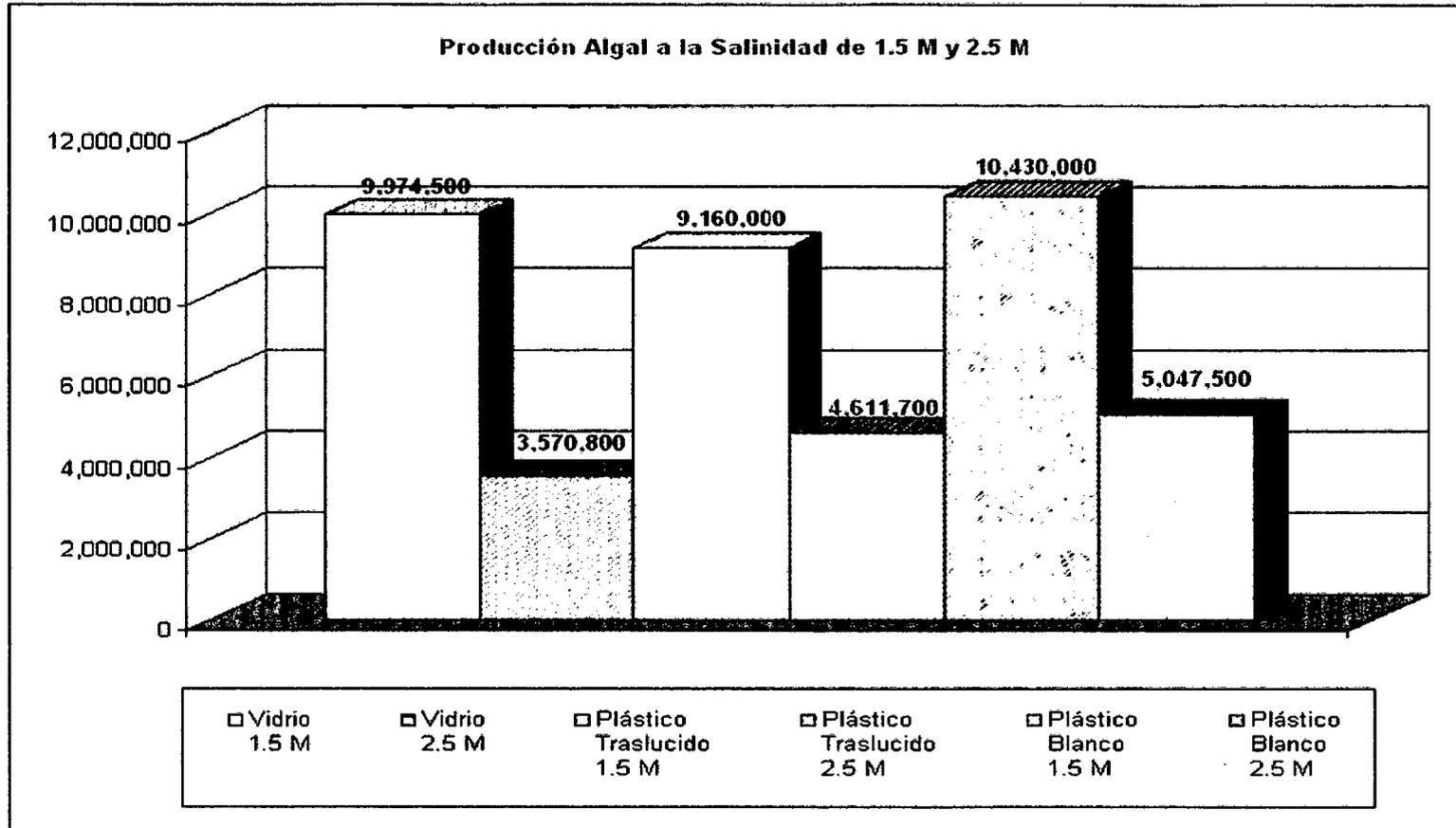


Figura 20.- Diferencia de producción masiva algal durante el periodo de cultivo de los estanques de plástico blanco, vidrio y plástico traslúcido a la salinidad de 1.5 M frente a los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a 2.5 M. (las unidades establecidas en densidad celular es de cel/ml).

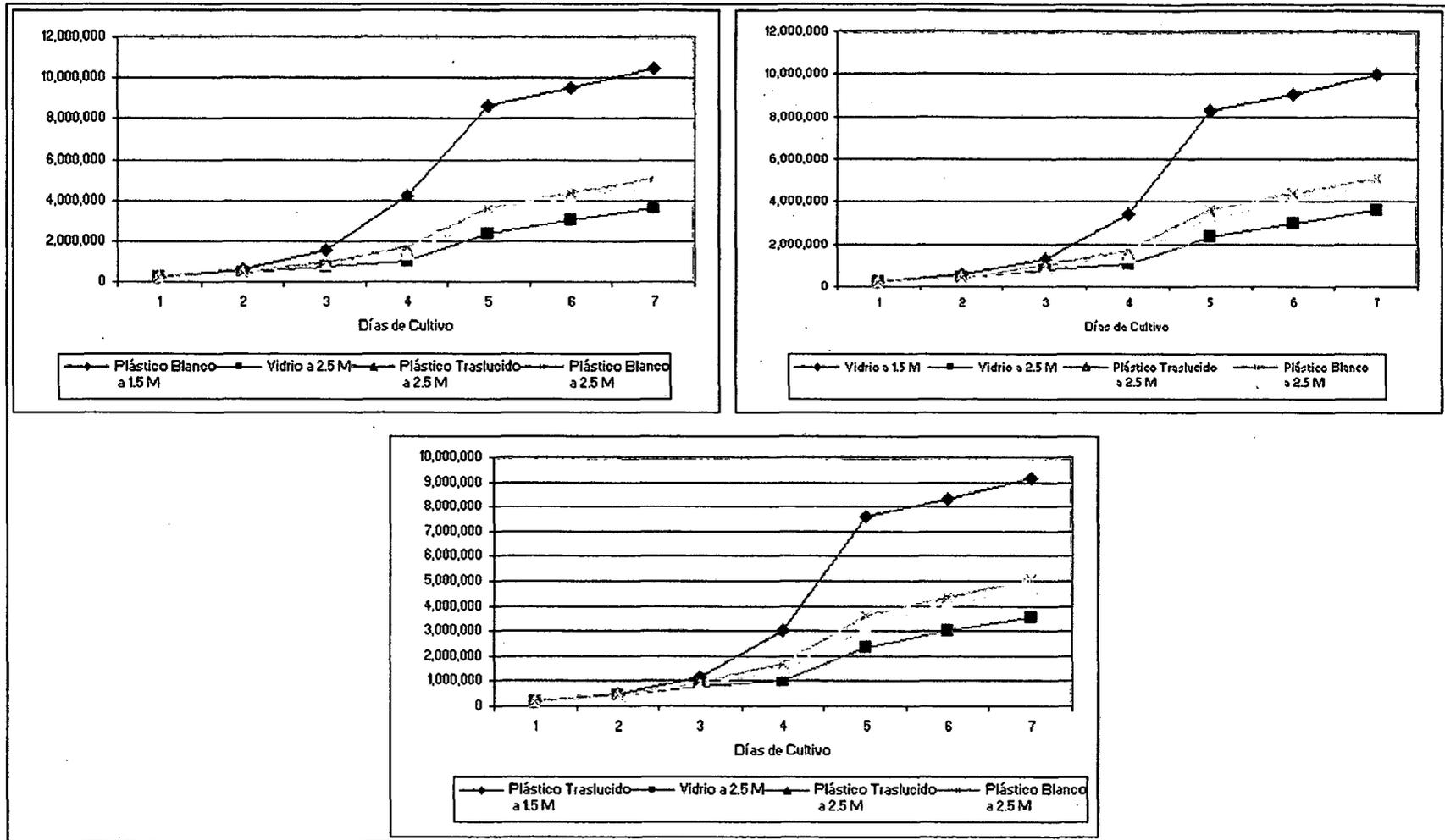


Figura 21.-

Evaluación del número de generaciones obtenidas durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a las salinidades de 1.5 M y 2.5 M.

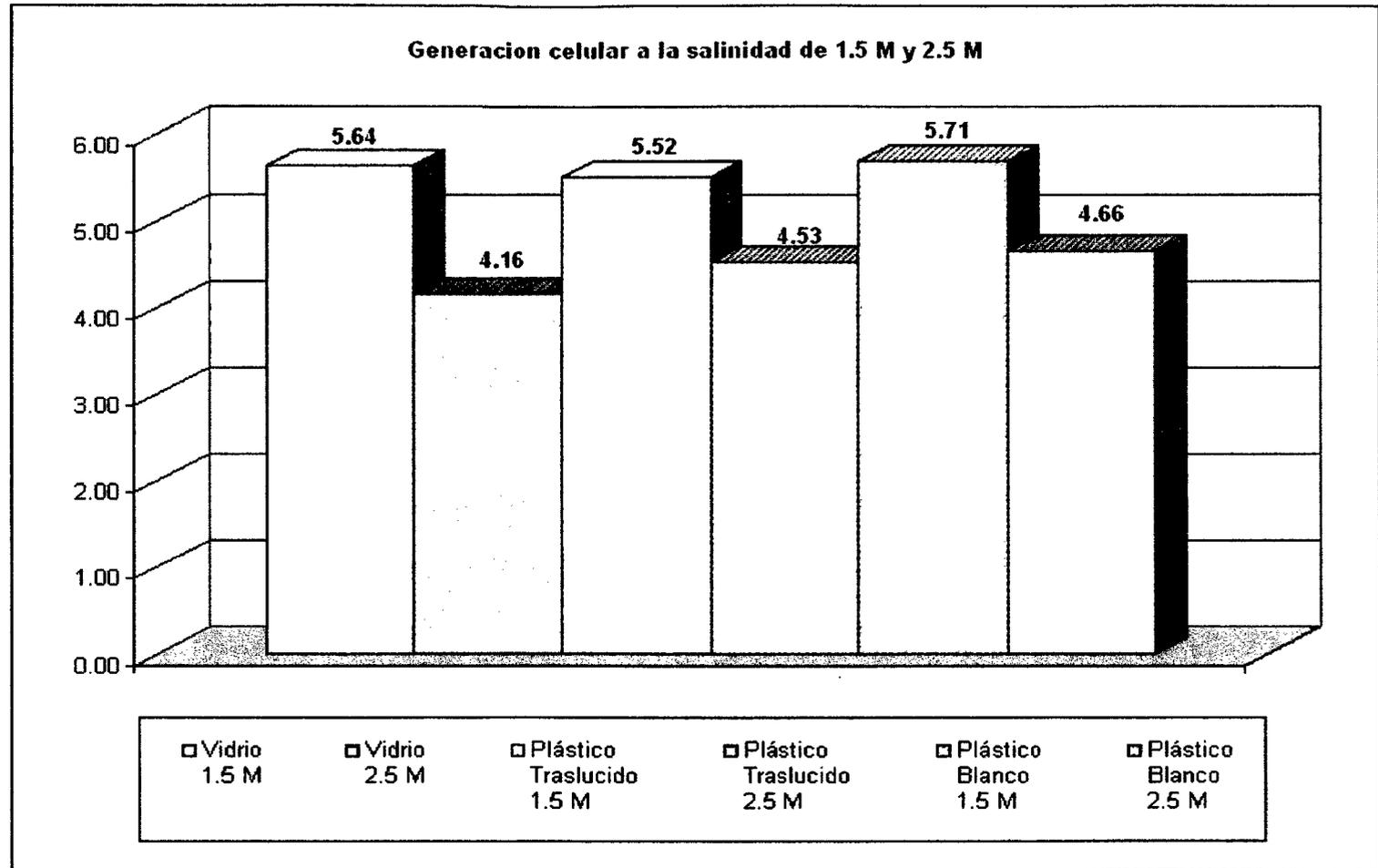


Figura 22.-

Evaluación del crecimiento celular obtenido durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a las salinidades de 1.5 M y 2.5 M (expresada en generación/hora).

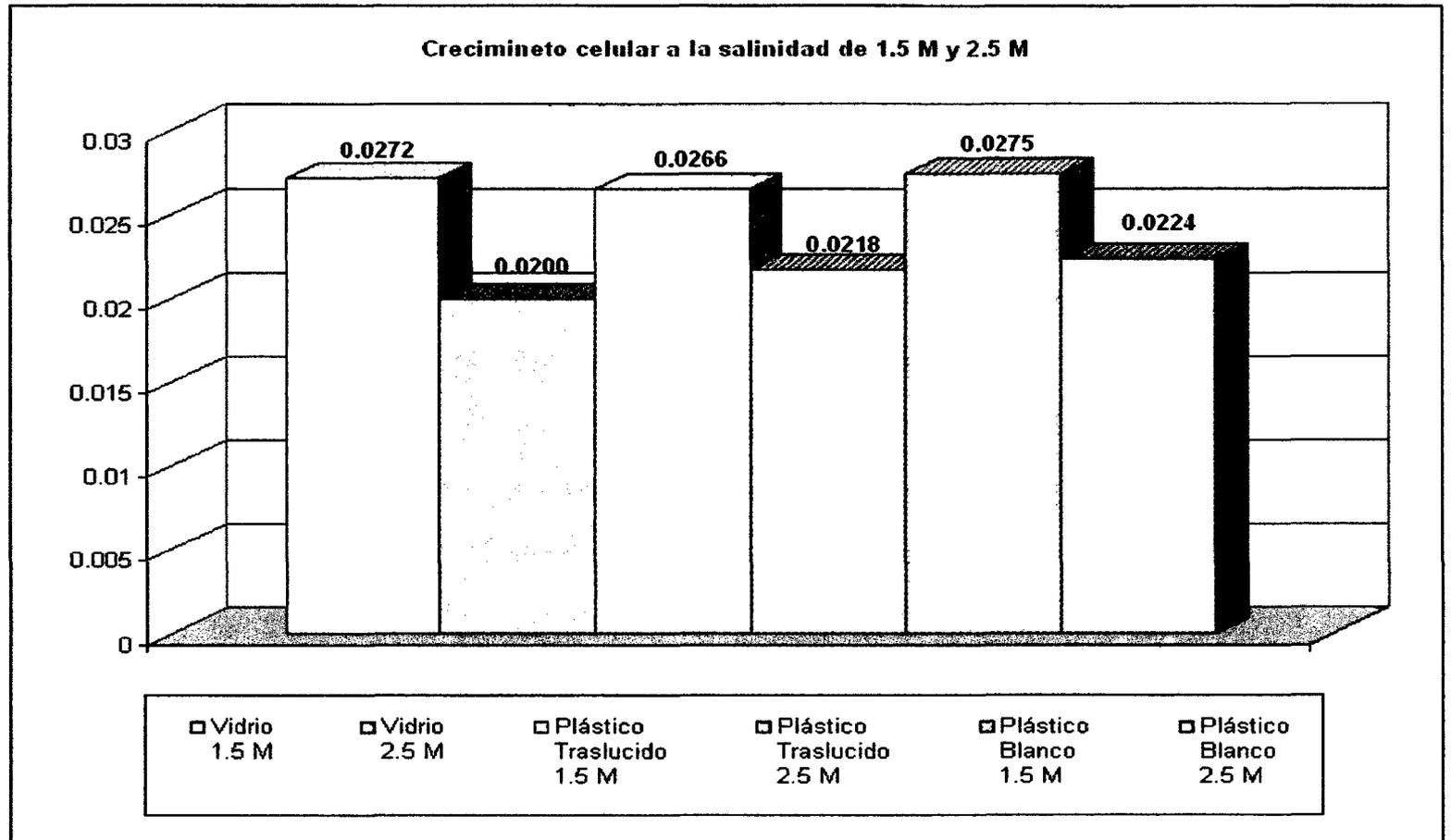


Figura 23.- Evaluación del tiempo de división celular obtenido durante el periodo de cultivo en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a las salinidades de 1.5 M y 2.5 M (expresada en hora/generaciones).

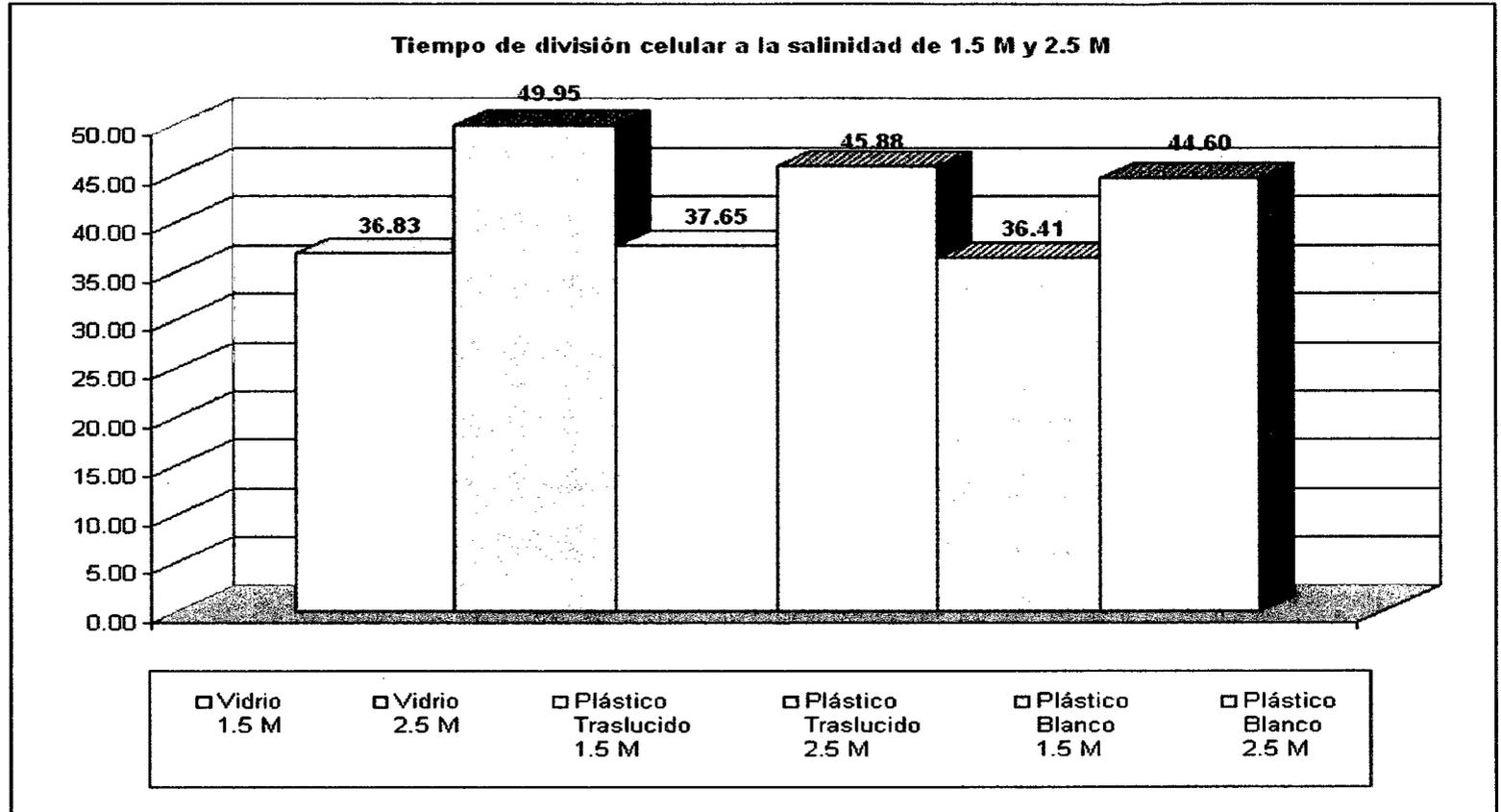


Figura 24.- Tasa de crecimiento en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a la salinidad de 1.5 M.

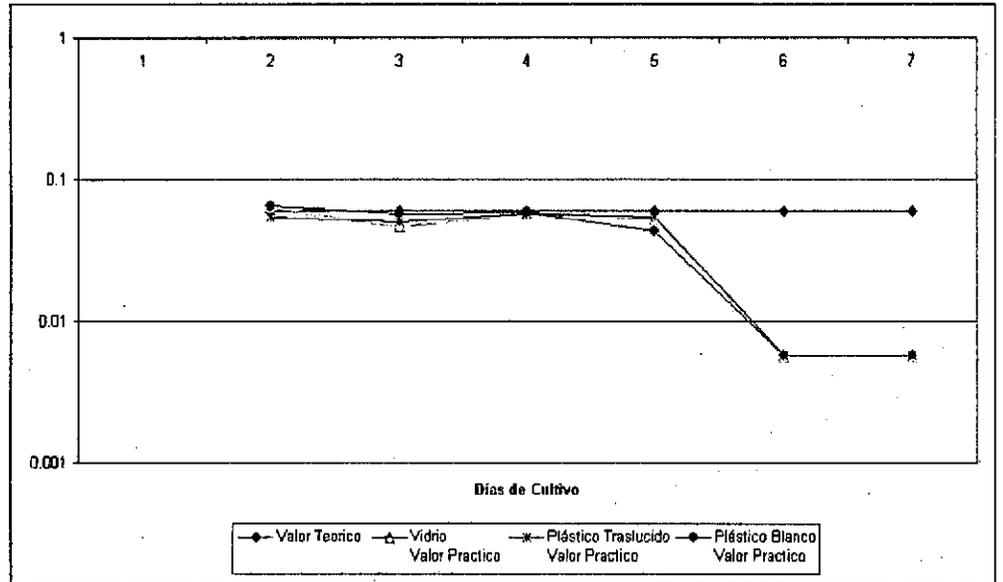
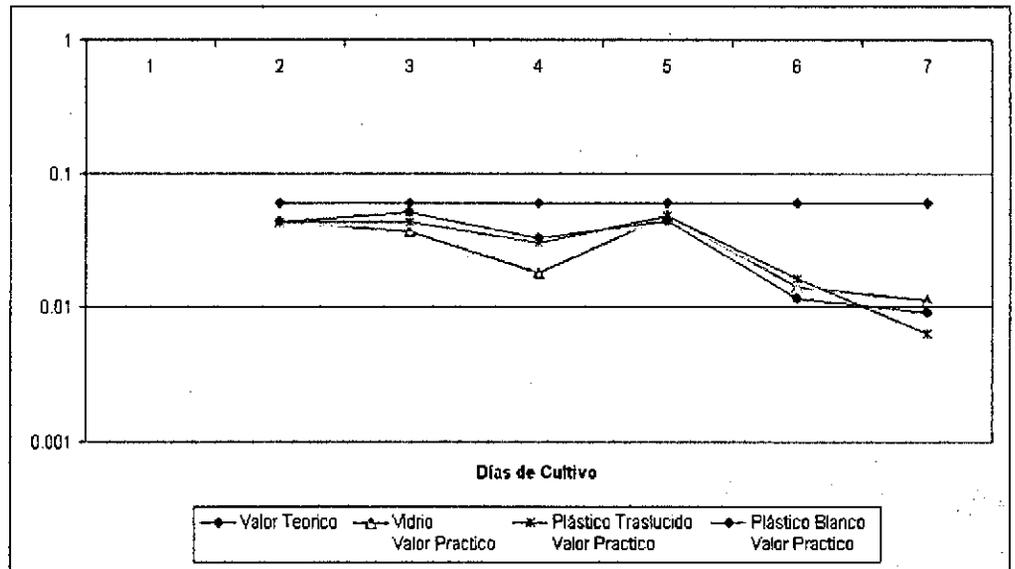


Figura 25.- Tasa de crecimiento en los estanques de vidrio, plástico traslúcido y plástico blanco a la salinidad de 2.5 M.





Erickson Josue Suarez Alva
Tesista



Ing. Roberto Quesquen Fernández
Asesor