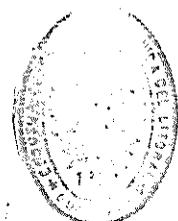


ESCUELA SUPERIOR
POLITECNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERIA MARITIMA
Y CIENCIAS DEL MAR

Estudio Preliminar en Laboratorio de la
Utilización del Humus de Lombriz
(Eisenia foetida) como un medio de
Cultivo para estimular la Producción de
Microalgas de Agua Dulce



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

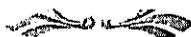
TESIS DE GRADO

Previa a la Obtención del TITULO de:

"A C U I C U L T O R"

Presentada por:

Sonia Magdalena Guartatanga A.



GUAYAQUIL - ECUADOR

1.991

A G R A D E C I M I E N T O



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Al Director de la presente TESIS,
Ing. Ecuador Marcillo por su cola-
boración y ayuda en la realización
de la misma.

A todos los profesores y amigos que
representan la Facultad de Ingenie-
ría Marítima y Ciencias del Mar por
el gran apoyo para la consecución
de la misma.

DEDICATORIA

A mis Padres

A mis Hermanos



Ing. Jorge Faytong Durango
Decano



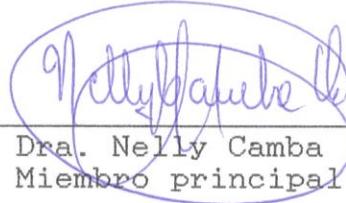
Ing. Ecuador Marcillo G.
Director



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



M.Sc. Fernando Arcos
Miembro principal



Dra. Nelly Camba
Miembro principal

DECLARACION EXPRESA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

"La responsabilidad por los derechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma; a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Sonia Guartatanga Argudo", is written over a horizontal dotted line.

Sonia Guartatanga Argudo



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

R E S U M E N

En el presente trabajo, se analizó la eficiencia del humus de lombriz como fertilizante en cultivos monoalgales. Los ensayos se realizaron en fiolas de 250 ml utilizando las concentraciones de 50 mg/l, 100 mg/l y 200 mg/l. Se tomó como control el medio nutritivo inorgánico WOODS HOLE MLB (medio desarrollado por Marine Biological Laboratory de Woods Hole Oceanographic Institute) el cual es específico para cultivo de algas de agua dulce. Para que la temperatura sea constante se utilizó una cámara que permitió mantener a $20^{\circ}\text{C} (\pm 2^{\circ}\text{C})$; en la iluminación de la misma se utilizaron lámparas fluorescentes frías, que proporcionaron intensidades entre 2500 - 3700 lux.

Las algas utilizadas fueron aisladas del medio natural, caracterizándose estas, por su abundancia y mayor predominancia en el contenido estomacal de los organismos presentes en dicho medio (Río Babahoyo). Estas fueron Diatoméas (*Nitzchia sp.*), Clorofícea (*Scenedesmus sp.*), Cianofícea (*Aphanothece sp.*).

Se realizó seguimiento del cultivo por 15 días. El número de células/ml para todos los ensayos fué proporcional a la concentración de humus utilizado. Los mejores crecimientos con humus resultaron para concentraciones de 200 mg/l. El mayor crecimiento con humus se

dió en Scenedesmus sp. (8,5 millones de cel/ml), a pesar que resultó ser menor que el control (medio inorgánico).

El cultivo de mejor crecimiento en relación a su control fué el de Aphanothece sp. (200 mg/l), aunque solo se llegó a un máximo de 7,5 millones de cel/ml.

El uso de un biofertilizante (orgánico-inorgánico) demostró ser mejor, llegando sus crecimientos ser similares ($r = 0,917$) a su control. Obteniéndose como resultado una reducción del costo hasta en un 47,6% .



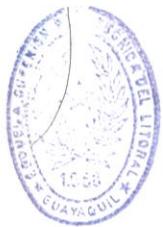
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

INDICE GENERAL

	Pag.
RESUMEN	5
INDICE GENERAL	7
INDICE DE FOTOS.....	10
INDICE DE TABLAS.....	11
INDICE DE FIGURAS.....	12
INTRODUCCION.....	13
I. IMPORTANCIA DE LA FERTILIZACION EN EL CULTIVO DE ALGAS.....	18
1.1. Características y composición del Fitoplanc- ton.....	18
1.2. Agentes que estimulan la productividad pri- maria.....	24
1.3. Los fertilizantes como agentes de estimulación de la productividad primaria.....	27
1.3.1 Acción de los abonos orgánicos.....	27
1.3.2 Acción de los abonos inorgánicos.....	29
1.4. El Humus, base de la fertilidad.....	30
II. PREPARACION DEL MATERIAL PARA EL SISTEMA DE CULTIVO.....	41



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Pag.

2.1. Construcción de una cámara para trabajo estéril.....	41
2.2. Selección y limpieza del equipo a utilizar....	44
2.3. Instalación del material para el sistema de cultivo.....	45
2.4. Obtención de las cepas de algas y selección...	47
III INSTALACION DEL SISTEMA DE CULTIVO.....	51
3.1. Preparación de las fiolas con los medios de cultivo (Humus y Woods Hole MBL) con sus respectivas réplicas.....	51
3.1.1. Preparación del medio de cultivo Humus.	51
3.1.2. Preparación del medio de cultivo con Woods Hole MBL.....	53
3.2. Inóculo de la algas a los medios de cultivos..	55
3.2.1. Inóculo de algas al medio orgánico....	55
3.2.2. Inóculo de algas al medio inorgánico...	55
IV. RUTINA DIARIA PARA EL SEGUIMIENTO DE LOS ENSAYOS...	58
4.1. Contaje diario de células algales.....	58
4.2. Análisis microbiológicos (coliformes totales) al termino de la rutina.....	60
V. RESULTADOS Y EVALUACION DE LAS RUTINAS.....	62

Pag.

5.1. Resultados de los contajes con Woods Hole MBL.	62
5.2. Resultados de los contajes con Humus.....	63
5.2.1. Concentración 1 (50 mg/lt).....	63
5.2.2. Concentración 2 (100 mg/lt).....	71
5.2.3. Concentración 3 (200 mg/lt).....	72
VI. ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	79
6.1. Análisis estadístico entre el número de divi- siones/día del control con cada una de las concentraciones.....	79
6.1.1. Control-Concentración 1.....	81
6.1.2. Control-Concentración 2.....	83
6.1.3. Control-Concentración 3.....	85
6.2. Análisis de costos para los medios utilizados.	87
6.2.1. Woods Hole MBL.....	87
6.2.2. Concentración 1.....	88
6.2.3. Concentración 2.....	89
6.2.4. Concentración 3.....	89
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	90
BIBLIOGRAFIA.....	94



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARTINEZ

INDICE DE FOTOS

	Pag.
Foto 1 Cámara para trabajo estéril.....	43
Foto 2 Sistema de Conexión de mangueras.....	43
Foto 3 Esterilización Humeda.....	46
Foto 4 Recolección de plancton.....	48
Foto 5 Algas más predominantes.....	50
Foto 6 Aislamiento de una <u>Scenedesmus</u> sp.....	50
Foto 7 Cultivos Primarios.....	57
Foto 8 Inoculación de cultivos.....	57
Foto 9 Contajes de células en hemocitómetro.....	59
Foto 10 Contajes de algas en hemocitómetro.....	59
Foto 11 Cultivo masivo de <u>Scenedesmus</u>	64
Foto 12 Cultivos con medios Orgánicos e Inorgánicos...74	



BIBLIOTECA
F&C. ING.
MARITIMA

INDICE DE TABLAS

	Pag.
I Comportamiento diario de <u>Nitzchia sp.</u> con sus respectivas divisiones/día. (Kf).....	65
II Comportamiento diario de <u>Aphanothece sp.</u> con sus respectivas divisiones/día (Kf).....	67
III Comportamiento diario de <u>Scenedesmus sp.</u> con sus respectivas divisiones/día.....	69
IV Comportamiento diario de <u>Scenedesmus sp.</u> con sus respectivas divisiones/día (Kf) con medio orgánico e inorgánico.....	77

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
1. Diatoméa (<u>Nitzchia sp.</u>). Crecimiento/día.....	66
2. Diatoméa (<u>Nitzchia sp.</u>) Divisiones/día.....	66
3. Cianofícea (<u>Aphanothece sp.</u>).Crecimiento/día.....	68
4. Cianofícea (<u>Aphanothece sp.</u>). Divisiones/día.....	68
5. Clorofícea (<u>Scenedesmus sp.</u>) Crecimiento/día.....	70
6. Clorofícea (<u>Scenedesmus sp.</u>) Divisiones/día.....	70
7. Clorofícea (<u>Scenedesmus sp.</u>) Crecimiento/día con medio orgánico e inorgánico.....	78
8. Clorofícea (<u>Scenedesmus sp.</u>) Divisiones/día con medio orgánico e inorgánico.....	78



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

INTRODUCCION

La fertilización orgánica es una técnica aceptada en el cultivo de peces en todas partes del mundo y ha sido en los últimos tiempos sujeto a investigaciones por acuaculturistas en Israel y EEUU, (Bardach et al. 1972); (Schroeder, 1974, 1975 a,b); (Rappaport et al., 1977); (Stickney et al., 1977); (Buck et al., 1978 a,b); (Burns, 1978); (Maddox et al., 1978); (Rappaport and Sarig, 1978); (Stickney and Hesby, 1978); tratando de dar respuestas a las diferencias significativas de los efectos que se tienen en las distintas condiciones de medio aplicado.

Los estudios a la fecha han examinado la eficacia de la aplicación de fertilizantes orgánicos tales como: excrementos de cerdos, ganado y aves, suministrados a piscinas conteniendo variadas especies en cultivo (Stickney et al., 1979), pero poco se ha hecho, utilizando humus como fertilizante en sistemas abiertos y cerrados.

El principal propósito de abonar es estimular el crecimiento de bacterias que se desarrollan en las partículas orgánicas, las mismas que entran a formar parte en la cadena alimenticia. Este crecimiento bacteriano depende por un lado de las condiciones ambientales (temperatura, oxígeno y minerales disponibles) y por otro

lado, del área de superficie de la materia orgánica libre para el ataque (Hepher y Pruginin, 1985). Mientras más pequeñas son las partículas de materia orgánica, más grande es el área total de superficie por unidad de volumen disponible para la fijación y ataque bacteriano y mayor la cantidad de bacterias producidas. Puesto que algunos organismos como la fauna del fondo están limitados en su movimiento, las partículas de abono deben ser dispersadas lo más posible por todo el estanque. Por lo antes anotado cualquier abono animal de granja que satisfaga las dos condiciones (partículas finas, de fácil dispersión) es adecuado para su uso en los estanques (Hepher y Pruginin, 1985).

Los incrementos en todos los costos de producción en nuestro país (hablando de Acuicultura en especial son: semilla, alimento, combustible y fertilizantes) ha generado la necesidad de buscar alternativas de manejo, que disminuyan los costos de los métodos tradicionales, sin restar eficiencia en los resultados. Pero antes de emprender con nuevas alternativas, es preciso la realización de ensayos previos y análisis del nuevo material a introducir.

El uso del humus como fertilizante, se sabe, es base de la fertilidad del suelo y, por ello, resulta del máximo interés para agrónomos y especialistas en fertilización





BIBLIOTECA
NACIONAL
HONDURAS

(Gros, 1981).

Se conoce que la población mundial era 1500 millones de personas en 1900, 4000 millones en 1973 y podrán alcanzar los 6000-7000 millones de personas en el año 2000. En 1978 la situación alimenticia estaba lejos de ser buena. Según Gros (1981), la población mundial en un 50% está mal alimentada y el 10% se encuentra con carencia grave de alimentación. Lo que hace pensar que la situación sería más crítica conforme transcurre el tiempo; mas aún si no se toma conciencia de la grave destrucción que estamos haciendo en nuestros suelos, con el uso indiscriminado de fertilizantes inorgánicos; que lo que hace es aniquilar los microorganismos que son los responsables del mantenimiento de la capa húmica, la misma que mantiene características físicas y químicas favorables para el mantenimiento de la vida terrestre y acuática.

Se puede pensar que la solución a la grave crisis alimenticia sería el incremento en las tierras cultivables, pero no es así; se trata en todo caso de innovar manejos y métodos de producción que tenga como intereses generales: incremento de la producción necesaria para alimentar adecuadamente a la población y eventualmente aumentar la exportación de excedentes; incrementar la eficiencia de la producción en cuanto a la pro-



ductividad por hombre/hectárea y disminución debida a plagas, enfermedades, malas condiciones de almacenaje y transporte (De Schutter et al., 1982).

El humus, debido a sus características físicas y químicas resulta una alternativa que daría excelentes resultados para la producción de fitoplancton y consecuentemente del zooplancton.

Ha sido probado que fertilizantes que usualmente son utilizados en la agricultura (suelo), han dado buenos resultados en cultivos de algas (Triviño y Arellano, 1987). La idea fundamental es dar nutrientes en las formas y cantidades que el plancton necesita. La utilización del humus como estimulador de la productividad primaria no ha sido aclarada, pero su uso en la agricultura está bien definido.

La Lombricultura, a más de producir proteína proporciona en forma controlada humus. Procurando esta actividad ser anexada a la acuicultura, por lo que sus dos productos principales (lombrices y humus) son de gran importancia para ésta.

El humus al mineralizarse libera poco a poco los elementos nutritivos para las plantas, sirve además de sostén a un gran número de productos orgánicos (antibióticos microbianos, sustancias hormonales y catalí-

ticos) que se liberan durante la descomposición de la materia orgánica en el suelo o que son sintetizados por los microbios, y cuya importancia en la actividad biológica de las tierras es indudable, aunque mal definida todavía (Gros, 1981).

El término humus designa las sustancias orgánicas variadas de color pardo negrusco, que resultan de la descomposición de materias orgánicas de origen exclusivamente vegetal (estiércoles, pajas, cultivos enterrados, restos de cosechas, etc), bajo la acción de microorganismos del suelo y las lombrices de tierra (Gros, 1981). Se conoce que el humus presenta concentraciones elevadas de carbón, nitrógeno, fósforo y potasio, tratándose de demostrar en el siguiente trabajo, si las concentraciones normales en el suelo (1% - 3%) o menores a esta pueda tener efectos positivos en el agua.

Se busca en el presente trabajo probar la eficiencia entre los fertilizantes orgánico (humus de lombriz) utilizando como patrón de medida un nutriente inorgánico (WOODS HOLE MBL) en tres cultivos monoalgales y determinar curvas de crecimiento durante sus fases de desarrollo.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CAPITULO I IMPORTANCIA DE LA FERTILIZACION EN EL CULTIVO DE ALGAS

1.1 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL FITOPLANC- TON

El fitoplancton que forma parte del plancton ha sido más estudiado y mejor conocido que los organismos del bentos. Al fitoplancton se lo definiría como "el plancton capaz de fotosintetizar". Esta capacidad no significa necesariamente autotrofia, entendiéndose por tal la capacidad de nutrirse sintetizando todos sus constituyentes celulares a partir exclusivamente de sustancias inorgánicas. Por lo tanto, capacidad fotosintética no es sinónimo de autotrofia. Hay organismos fotosintetizantes autótrofos y aún heterótrofos facultativos y fagótrofos, que ingieren partículas orgánicas figuradas e incluso ejercen predación, así como hay autótrofos no fotosintéticos.

Actualmente, la mayor parte de los conocimientos sobre el fitoplancton se basa en el estudio del material sedimentado o filtrado de muestras de agua a la que se añade un fijador. Es posible separar células del fitoplancton de otros materiales (y aún unos grupos de otros), por medio de centrifugación en gradientes de densidad, pero conviene recordar que gran parte de los conocimientos sobre la organización y vida de los productores primarios del plancton se han obtenido a base de cultivos axénicos, o unialgales, de las diferentes especies.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Las algas en general pueden ser definidas como "pequeños organismos planctónicos pigmentados de estructura relativamente simple".

Por lo antes mencionado el fitoplancton incluye algas autótrofas fotosintéticas. Son principalmente formas unicelulares, aunque algunas de ellas forman cadenas (por ejemplo, las algas verde-azules filamentosas como Trichodesmium y las diatoméas coloniales) o bien son plantas multicelulares macroscópicas.

El número de Clases de organismos conside-

rados como "algas" varía según los distintos autores.

Según Pascher (1931); Burrelly (1966-1972); Taylor (1978) y Cox (1980), la clasificación mas generalmente aceptada es:

Cyanophyceae
 Rhodophyceae
 Dinophyceae
 Cryptophyceae
 Raphidophyceae
 Chrysophyceae
 Bacillariophyceae
 Xanthophyceae
 Euglenophyceae
 Prasinophyceae
 Euchlorophyceae



BIBLIOTECA
 FACULTAD DE
 BILOGIA

De las anteriormente señaladas las más importantes como alimento de las especies son, según Morris (1967).

Clase Bacillariophyceae.- Las diatoméas son plantas diminutas que transforman los nutrientes inorgánicos del agua en orgánicos, mediante un proceso fotosintético. Presentan coloración pardo dorada ya que poseen clorofila a y c y pigmentos carotenoides (Dawes,

1986).

El silicio, que es característico de las diatomáceas no solo es necesario para las valvas, sino que también forma parte de enzimas de estas algas y, posiblemente, en otras (Margalef, 1983).

En lo que concierne a la reproducción se conocen cuatro maneras diferentes:

- División celular
- Auxosporos
- Esporos de resistencia y
- Microsporos

Estos organismos son componentes comunes del plancton y del bentos en hábitats marinos y dulce acuícolas, así como del hábitat terrestre, siendo productores primarios muy importantes en los ecosistemas.

Entre las especies más útiles y representativas usadas en Acuicultura tenemos: Skeletonema costatum, Thalassiosira pseudonana, T. fluviatilis, Phaeodactylum tricornutum, Chaetoceros calcitrans, C. simplex, Ditylum brightwellii.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Clase Haptophyceae.- Sus representantes se caracterizan por poseer, además de un par de flagelos, un órgano especial flageliforme, el haptonema. Contienen clorofila a y c, cubiertas por pigmentos carotenoides que son los que le dan la coloración café-dorado. Su reproducción es por división celular o zoosporas y no se les conoce reproducción sexual. Son organismos principalmente marinos. Entre las especies más comunes de este grupo tenemos: Isocrisis galbana, Dicrateria inornata, Crisosphaera carterae, Coccolitnus huxlevi; probablemente Monocrisis lutheri pertenece a este grupo.

Clase Prasinophyceae.- Comprende tanto organismos unicelulares, como grupos de células, inmóviles o móviles, estas últimas con uno, dos o cuatro flagelos. La reproducción se lleva a cabo mediante división celular o esporas móviles, sin que exista evidencia de reproducción sexual. Las especies de esta clase son predominantemente marinas entre las que tenemos: Pyranimonas grossii, Tetraselmis suecica, y Micromonas pusilla.

Clase Chlorophyceae.- Son organismos caracte-

rizados por contener clorofilas a y b por lo que su color es verde intenso. Constituyen un grupo muy amplio y variado de algas unicelulares, de vida colonial y filamentosas. Se conoce que estos tipos de algas poseen una acumulación excepcional de silicio (Margalef, 1983). Se hallan mejor representados en las aguas dulces que en las marinas. Entre estas tenemos: Dunaliella tertiolecta, Chrorella autotrophyca, Chlorococcum sp., Scenedesmus sp., Nannochloris atomus, Chlamydomonas coccoides, Brachiomonas submarina.

Clase Chrysophyceae.- Predomina la forma flagelada y son de color café dorado poseen clorofila a y c . El desarrollo de estas especies parece estar asociado a concentraciones relativamente bajas en nutrientes. Su reproducción se lleva a cabo mediante división celular o zoosporas. La mayoría de los miembros son dulce acuícolas, aunque existen algunas formas marinas. Como por ejemplo ciertas especies de Monochrysis.

Clase Cryptophyceae.- Son organismos unicelulares eucarióticos que poseen dos flagelos con pelillos y de diferente longitud.

Presentan varios colores debido a la presencia de clorofila a, carotenoides y ficobilinas. La división celular es el único tipo de reproducción que se les conoce. Sin embargo, a veces alcanzan una alta densidad poblacional y pueden elevar significativamente el zooplancton ya que constituyen excelente alimento para ellas (Infante y Litt, 1985). Abundan más en las aguas costeras que en las oceánicas entre las mismas tenemos: Chroomonas salina (frecuentemente puesta dentro del género Cryptomonas o el género Rhodomonas).



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

1.2 AGENTES QUE ESTIMULAN LA PRODUCTIVIDAD PRIMARIA

Las propiedades del plancton como componente del ecosistema, son el resultado de lo que ocurre en espacios muy pequeños, donde se manifiesta la interacción de los microorganismos con el agua o ambiente (Margalef, 1983). La reacción de los organismos a las condiciones de luz, nutrientes, temperatura, pueden tener una base genética y, como tal, es susceptible de cambio y evolución.

El fitoplancton, en consecuencia más parece una comunidad menos controlada desde dentro que desde fuera. No hay en el plancton nada comparable a la estructura rígida y al sistema de transporte que caracteriza al bosque, con hongos, raíces, madera y hojas.

En el plancton el control se ejerce por el medio físico, por la estructura móvil de las masas de agua, con celdillas de circulación y remolinos de todos los tamaños. Es importante que para todos los proyectos de cultivos de algas unicelulares, se acabe diseñando un "árbol tecnológico" que incluya soluciones nutritivas, bombas de circulación o agitación, dispositivos de iluminación con espejos, etc.

Para poder entender el comportamiento del plancton es importante conocer su comportamiento en el medio natural; como por ejemplo, en aguas naturales las condiciones de luz y temperatura, están estrechamente asociadas con las relaciones estacionales y latitudinales a la radiación solar y distribución con la profundidad.

En aguas naturales los efectos de luz son

claramente presentes por la distribución y actividades a las distintas profundidades. La penetración de la luz es diferente en aguas naturales y es extremadamente variada, pero, las profundidades con 1% de la intensidad superficial usualmente marca el nivel mínimo de la zona eufótica en la cual puede ser apreciable el crecimiento y fotosíntesis.

A más de la luz y temperatura existen otros factores que influyen sobre el cultivo de algas; estos son: salinidad, pH y potencial redox (Coll, 1983). En cultivos masivos de algas la iluminación puede ser natural y artificial. La cantidad de energía lumínica (lux) debe ser óptima para la especie en cultivo, pudiendo variar la intensidad desde 200-15000 lux (Coll, 1983). La temperatura para las algas de agua dulce varia entre 20-30°C siendo menor en las algas marinas (Coll, 1983). El pH óptimo para la alga depende de la especie pero varía entre 7 y 9. La producción de oxígeno que llega aparejada una activa fotosíntesis, hace que el medio de cultivo de microalgas en presencia de la luz sea oxidante, por lo que en concentraciones muy altas es recomendable usar reductores para el

equilibrio del potencial redox (Coll, 1983). Los factores anteriormente mencionados no son independientes, sino que se influyen mutuamente, esto hace que el proceso de optimización de las variables de cultivo de una determinada especie, sea un estudio complejo.

1.3 LOS FERTILIZANTES COMO AGENTES DE ESTIMULACION DE LA PRODUCTIVIDAD PRIMARIA

1.3.1 ACCION DE LOS ABONOS ORGANICOS

Los fertilizantes son frecuentemente adicionados a las piscinas para incrementar la abundancia de plantas microscópicas (fitoplancton) y animales (zooplancton) e incrementar la producción de otros organismos bioacuáticos.

Altas concentraciones de nutrientes favorece el desarrollo de densos floraciones de cianofitas; estas, en exceso, son responsables de problemas en los estanques, incluyendo olores y presencia de sustancias tóxicas (Huet 1983).

Se conoce que el abono orgánico posee una acción favorable bien comprobada por las altas producciones obtenidas en las

piscinas alimentadas por aguas con purinas de granjas y/o aglomeraciones agrícolas.

Esta acción favorable se debe al hecho de que los abonos orgánicos:

- 1) Contienen a la vez casi todas las sustancias nutritivas indispensables para el ciclo biológico de las plantas.
- 2) Tienen con frecuencia una acción favorable sobre la estructura del suelo.
- 3) Favorecen la multiplicación de bacterias en suspensión en el agua, lo que tiene acción favorable sobre el desarrollo de zooplancton.
- 4) Son indispensables para la acción de los abonos fosfatados y potásicos.

Sin embargo, el abono orgánico puede presentar algunos inconvenientes tales como:

- 1) Puede provocar la deficiencia de oxígeno la cual es temible en horas matinales en tiempos cálidos.
- 2) Puede ayudar a la acción de algunas enfermedades provocadas por la descomposición de las branquias de los orga-

nismos allí cultivados.

1.3.2 ACCION DE LOS ABONOS INORGANICOS

El abonamiento inorgánico es el medio más sencillo para aumentar la producción natural. Esta aumenta sin hacer correr a los peces el riesgo de enfermedades alimenticias, por el contrario mejora el estado sanitario del estanque. Mientras la luz y el calor sean suficientes, la productividad depende de la abundancia relativa inorgánica que interviene; aquí se establece la ley del mínimo, según la cual, la base de la producción total se establece sobre las sustancias indispensables (para la alimentación de las plantas) que se encuentran en menor cantidad teniendo en cuenta su utilidad relativa.

Los abonos ejercen su acción sobre la beneficiosa influencia que tiene sobre el fango, que es el verdadero laboratorio productivo del estanque y no por acción directa sobre la masa acuosa y los organismos que contiene en suspensión (Huet, 1983). Por lo anteriormente ano-

tado la productividad del estanque viene determinado por la buena actividad del suelo.

Las sustancias fertilizantes liberadas por los abonos son absorbidos por el fango, que los restituye lentamente. animales no tienen entonces directamente nada que ver con las materias minerales nutritivas. Los mejores vegetales acuáticos desde el punto de vista productivo, por tener las raíces poco desarrolladas, solo pueden utilizar las materias minerales cuando están disueltas en el agua, lo mismo pasa con el plancton vegetal.

1.4 EL HUMUS, BASE DE LA FERTILIDAD

1.4.1 PROCESO PARA LA OBTENCION DEL HUMUS

Desde hace miles de años el hombre reconoció la importancia que tiene la materia orgánica en la producción de alimentos.

La historia data de como el indio llamado Squanto enseñó a los peregrinos a

cultivar el maíz enterrando un pez muerto en cada planta.

Casi todas las formas de vida que existen en los suelos depende de la materia orgánica para la obtención de energía y nutrientes (Foth, 1986). A pesar de ello se conoce también las limitantes, ya que hace más de 100 años Liebig (1952) señaló que aquellos suelos constituidos en un 100% con materia orgánica son de naturaleza muy infértiles.

Los residuos orgánicos que se añaden al suelo no se descomponen como un todo, quienes lo hacen, son los constituyentes químicos que se descomponen de manera independiente entre sí. En la formación de humus a partir de residuos vegetales hay una rápida reducción de: a) constituyentes solubles, b) celulosas y c) hemicelulosas. Un incremento relativo en porcentajes de lignina y un aumento en el contenido de proteínas. Se piensa que las nuevas proteínas en su mayor parte son formadas por las actividades sintetizadoras de los microorganismos (Foth,

1986).

En el proceso de la descomposición de la materia orgánica del suelo se distinguen dos fases: la humificación (humus joven, y después humus estable), y la mineralización que es la destrucción del humus estable debido a otros microbios que lo destruyen progresivamente (1 a 2% al año).

Se conoce que la alteración de los restos vegetales y su transformación en sustancias húmicas es el resultado de la acción conjunta de asociaciones de microorganismos, que poseen funciones bioquímicas multifacéticas (Kononova, 1982).

De la actividad de los microorganismos depende en gran medida el destino posterior de las sustancias húmicas recién formadas. Esta se dá de dos maneras: por su incorporación a nuevos procesos biológicos y descomposición hasta productos finales de mineralización; o por la conservación en el suelo por períodos de tiempo más o menos prolongados gracias a

la correlación de la intensidad de los procesos de neoformación y descomposición de las sustancias húmicas se determina la reserva de humus en el suelo.

Es importante conocer estos principios ya que de aquí se fundamenta la importancia de las condiciones naturales en la acumulación del humus.

Los distintos representantes de la macro, meso y microfauna son reconocidos como los que toman parte activa en los procesos tales como: la acción de mullir el suelo, el transporte de los restos orgánicos dentro de los límites del perfil y fuera de él, la redistribución de las reservas de sales, el desmenuzamiento y transformación del material humificado, y la creación de una estructura hidrorresistente. A esta fauna pertenecen ácaros, colémbolos, enquitreidos, lombrices, cochinillas de la humedad, arácnidos, insectos, caracoles, nemátodos, turbelarios, y otros invertebrados. De los vertebrados, juegan un importante papel en el suelo los roedores, topes y otros animales.

Un papel activo de los animales en la transformación de los restos orgánicos condujo a los investigadores a la conclusión de que la formación de las sustancias húmicas se efectúa principalmente en el intestino de los animales, donde la lignina de restos vegetales se condensa con el amoniaco que se forma al descomponerse el plasma de los microorganismos habitantes del intestino, y que por eso la acumulación del humus depende en primer lugar, no de cuánta materia orgánica ingresó en el suelo, sino de cuanta pasara a través del aparato digestivo animal (Kononova, 1982).

Al comentar sobre las funciones de los animales, no se puede dejar de mencionar su gran papel en la formación de agregados de suelo hidrorresistentes. La mezcla de los restos vegetales con los elementos minerales, en el intestino del animal y su aglutinación por secreciones mucilaginosas, favorece la formación de agregados estructurales que poseen una solidez excepcional; como por ejemplo, los excrementos de las lombrices de tie-

rra. Investigaciones sobre el problema de la formación de agregados hidrorresistentes en el intestino de los invertebrados (colémbolos, lombrices de tierra, etc.) fueron realizados por Sentylar (1938), Ponomareva (1948, 1953), Zrazhevskiy (1957), y otros autores. Merecen atención los trabajos que han demostrado la posibilidad de nuevas formaciones en el intestino de los animales; en particular, se ha determinado la formación de calcita en el intestino de las lombrices de tierra (Ponomareva, 1948).

Es bién conocido que la lombriz (Eisenia foetida) presenta la capacidad de humificar, en un periodo de horas, el material orgánico ingerido; este proceso se inicia con la fermentación y mineralización enzimática del material consumido con lo cual se obtiene fragmentos de moléculas orgánicas complejas, nitrógeno y minerales. Esta etapa comienza en la actividad bucal y termina en la molleja. El material orgánico degradado en su paso por la fracción intestinal, es colo-

nizado por una alta carga microbiana simbiótica, la cual forma a partir de estos materiales, complejos amorfos coloidales que son expulsados como deyecciones y que reciben el nombre de humus de lombriz.

1.4.2 DEFINICIONES Y CONSTITUCION DEL HUMUS

La variedad de sustancias orgánicas del suelo puede ser sistematizada en dos grupos fundamentales. La primera variedad esta formada por restos orgánicos los cuales representan los productos de su descomposición; o los productos de la actividad vital (metabolismo y síntesis) de la población viva, aquí tenemos a las proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono simples, ácidos orgánicos de distinta naturaleza, ceras, resinas, ligninas y otros. En suma, los compuestos orgánicos de naturaleza individual constituyen en los suelos minerales aproximadamente del 10 al 15% de la reserva total de materia orgánica. La otra variedad es la porción principal de la parte

orgánica, estando representada por sustancias húmicas propiamente dichas, la formación de las cuales se verifica en procesos de complicadas transformaciones de los restos vegetales y animales; constituyendo hasta el 85 y 90% de la reserva total de humus. Estos son los ácidos húmicos y úlmicos, los ácidos crénicos y apocrénicos (fulvoácidos), ácido himatomelánico, y por último las huminas y ulmina.

Bajo un breve análisis comparativo se puede presentar una composición elemental comparativa de las sustancias vegetales y húmicas.

Composición elemental comparativa de las sustancias vegetativas y húmicas

(en % a la materia absolutamente seca, sin cenizas)

Sustancia	C	H	O	N
Acidos húmicos	52-62	3-3,5	30-33	3,5-5,0
Fulvoacidos	44-49	3,5-5,0	44-49	2,0-4,0
Proteinas	50-55	6,5-7,3	19-24	15-19
Celulosa	44,4	6,2	49,4	no hay
Pentosanas	45,4	6,1	48,5	no hay
Lignina	62-69	5-6,5	26-33	no hay

Ref.: Materia orgánica del suelo. (Kononova, 1982)

Debido a los adelantos científicos se ha podido determinar la siguiente característica de composición del humus de lombriz (Eisenia foetida):

CARACTERITICAS DE HUMUS DE LOMBRIZ
(S.C.I.C)

pH		6,8 - 7,2
CaCO ₃	(%)	8,0 - 14,0
Cenizas	(%)	27,9- 67,7
Carbono orgánico	(%)	18,7- 38,8
Nitrógeno total	(%)	1,50- 3,35
NH ₄ /N. total	(%)	20,4- 6,1
NO ₃ /N. Total	(%)	79,6- 97,0
N-NH ₄	(ppm)	52 - 70
N-NO ₃	(ppm)	218 - 1698
C.I.C.	(meq/100 gr.)	75 - 81
Acid. húmico/fulvico		1,43 - 2,06
P total	(ppm)	700 - 2500
K total	(ppm)	4400 - 7700
Ca total	(%)	2,8 - 8,7
Mg total	(%)	0,2 - 0,5
Mn total	(ppm)	260 - 576
Cu total	(ppm)	85 - 490
Zn total	(ppm)	87 - 404
Capacidad de retención de humedad:		1,3 su Vol.
Superficie específica		700 a 800 m/gramo
Microorganismos/g. seco		20 a 50 mil millones

Una de las propiedades importantes del humus es su contenido de nitrógeno, que varía del 3 al 6%, aunque con frecuencia la concentración de nitrógeno puede ser mayor o menor.

El contenido de carbono es menos variable, en general se estima en un 58%. Estas cantidades pueden variar según la naturaleza del humus, su estado de descomposición, en la naturaleza y profundidad del suelo, así como las condiciones climatológicas y ambientales en que se haya formado. El humus es también una reserva importante de fósforo y azufre.

Otra propiedad importante del humus es su elevada capacidad de intercambio catiónico. El humus absorbe grandes cantidades de agua, reteniéndola, ayudando así a evitar la erosión de los suelos.

1.4.3 PRINCIPALES FUENTES DE HUMUS EN LA EXPLOTACION

En un suelo normalmente explotado (en cultivo) se produce una destrucción de alrededor de 700 a 1000 Kg/ha de humus, debido a su mineralización la cual es supuesta en un 1,2 a 1,5% . Esta velocidad de mineralización depende del clima, la estructura física del suelo la intensidad del laboreo y su profundidad.

Es necesario restituir el humus que está siendo mineralizado y mantener así un nivel adecuado en el medio, las fuentes para realizarlo son algunas, tales como:

- Estiercol seco y semilíquido, purin.
- Enterrado de rastrojos
- Residuos de cosechas
- Cultivos enterrados de vegetales verdes.

Otras fuentes de humus tenemos: Los compost de algas, la turba, y compost urbanos.

El humus es un producto que presenta un amplio espectro de utilización dentro de los sistemas de producción vegetal y las ventajas que él ofrece justifican ampliamente su producción. Las aplicaciones del humus son: frutales, hortalizas, ornamentales, cultivos industriales, cereales y forestales.

CAPITULO II PREPARACION DEL MATERIAL PARA EL SISTEMA DE CULTIVO

2.1 CONSTRUCCION DE UNA CAMARA PARA TRABAJO ESTERIL

Las cámaras o vitrinas son usadas en trabajos estériles, esencialmente dando una protección contra corrientes de aire y contaminación por el polvo.

Para el control de las variaciones ambientales durante el ensayo, se diseñó una cámara, la misma que a más de mantener un microclima constante (temperatura y luz) permitió que el medio esté libre de proliferación microbiana ambiental (foto 1). La cámara diseñada fue adecuada a las necesidades del experimento (número y disposición de distribuidores de aire). El material utilizado para la construcción fueron láminas de vidrio (4 milímetros de espesor) con una base de hierro. Se estableció las siguientes dimensiones para

la cámara: 60 cm de largo, 40 cm de ancho y 30-40 cm de altura. Dos de las paredes están provistas de orificio: por la pared derecha se acondicionó la manguera principal de aire (0,5 cm de diámetro) para las fiolas; y por el frente la manguera (3 cm de diámetro) de aire frío (foto 2).

La manguera que suministra el aire frío estuvo recubierta de material aislante, y en su extremo se conectó a un acondicionador de aire, el que mantuvo la cámara a temperatura constante de 20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$).

En la parte superior de la cámara estaba localizada la compuerta, por la cual se introdujo los materiales a utilizar (foto 2).

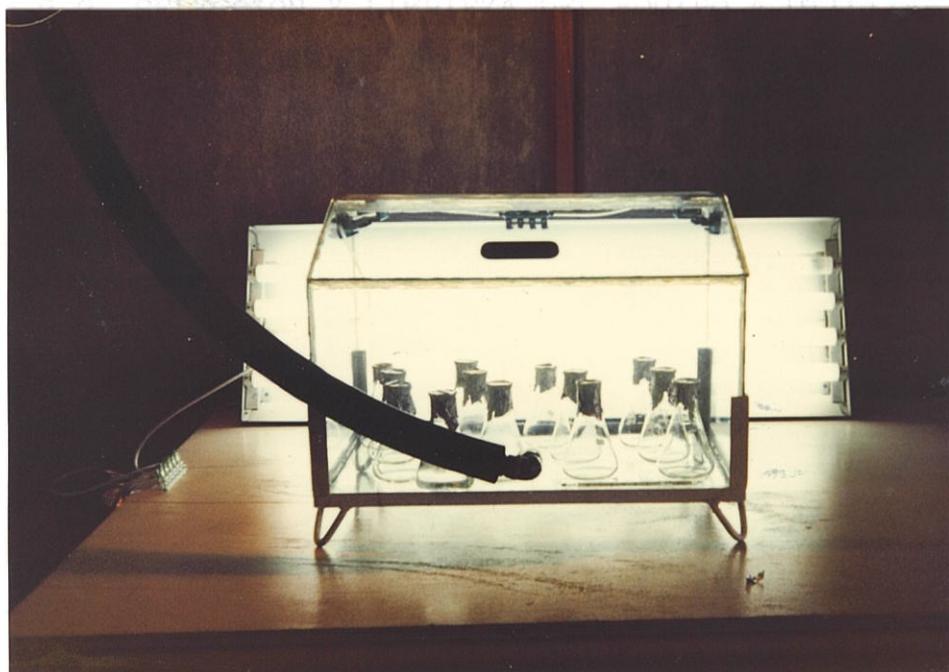


Foto 1 Cámara para Trabajo estéril

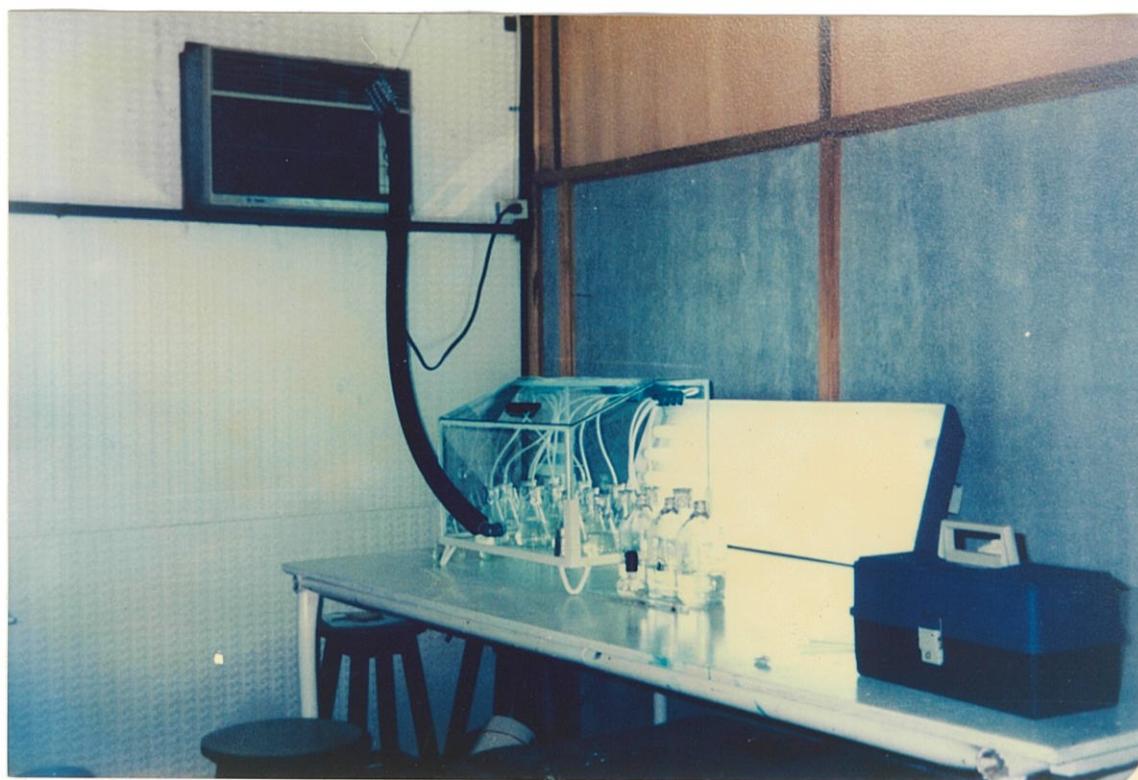


Foto 2 Sistema de conexión de mangueras



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

2.2 SELECCION Y LIMPIEZA DEL EQUIPO A UTILIZAR

Para la ejecución de los ensayos se emplearon:

- Materiales de vidrio:

13 fiolas de 250 ml, en las cuales se llevo a cabo el cultivo.

13 varillas de vidrio, mangueritas conectadas a las fiolas, pipetas Pasteur, pipetas graduadas de 1, 2 y 20 ml, 5 fiolas de 250ml para la preparación de los medios "stock", tubos de ensayo, cámara Neubauer, porta y cubre objetos, termómetro, mechero de alcohol.

- Además se utilizaron:

Un bidón de 10 litros de capacidad, para agua destilada, alcohol, algodón, papel aluminio, gasa y servilletas.

Previo a la esterilización del material de vidrio, fueron lavados con detergente y enjuagados con agua destilada, el método utilizado para la esterilización fué calor seco. Se lo efectuó en un horno calentado electricamente, controlado mediante termostatos provisto de un gran ventilador circundante que asegura la uniformidad de la tempe-



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

ratura en todas las partes del contenido.

El material plástico (mangueritas para el aire) fué desinfectado con solución de cloro (300 ppm Hipoclorito de sodio).

Los preparados líquidos (medios de cultivo) se los esterilizó en una olla de presión (autoclave). El vapor concentrado en la olla mata las bacterias por desnaturalización de sus proteínas. Una condición de seguridad convenida para la esterilización es utilizar vapor a 121°C durante 15 minutos (Lancet, 1959). Esta temperatura es adecuada para los medios de cultivo y soluciones acuosas (Foto 3).

2.3 INSTALACION DEL MATERIAL PARA EL SISTEMA DE CULTIVO

Antes de iniciar los ensayos se desinfectó con alcohol la cámara, para luego ingresar todos los materiales para el ensayo, los mismos que fueron previamente esterilizados por medio de calor seco, o vapor a presión. Posteriormente se colocaron las mangueritas-varillas en sus respectivos difusores.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



Foto 3. Esterilización por calor humedo

La disposición de las fiolas fue la siguiente:

3 fiolas para el control

3 fiolas con la concentración-humus 1 (50 mg/l)

3 fiolas con la concentración-humus 2 (100 mg/l)

3 fiolas con la concentración-humus 3 (200 mg/l)

A 30 cm de la cámara se colocó cuatro lámparas fluorescentes de 60 watts las mismas que permitían mantener una intensidad entre 2500 y 3000 lux (foto 2).

La temperatura fué mantenida, con una corriente de aire fría que provenía del acondicionador de aire; el mismo que se comunicaba a éste por medio de una manguera aislante.

2.4 OBTENCIÓN DE LAS CEPAS DE ALGAS Y SELECCIÓN

Para la obtención de cepas, el primer paso fué la recolección de algas. Para esto se necesitó una red bicónica de fitoplancton de 1 metro de largo y boca de 25 cm de diámetro externo con una abertura de malla de 50 μ m (foto 4).



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



Foto 4. Recolección de Plancton

El arrastre se lo ejecutó en el Río Babahoyo, maniobrando un bote a velocidad de aproximadamente 1,5 nudos manteniendo la red horizontal, próximo a la superficie, durante 5 minutos.

Las muestras fueron colectadas en frascos, luego se la enriqueció con medio nutritivo para florecer las algas. Posteriormente se procedió al aislamiento de las células predominantes (foto 5). El método utilizado fue el de micropipeta, este se basa en escojer un individuo aislado de una población o menos diluida utilizando el microscopio (foto 6).

Las algas seleccionadas fueron:

DIATOMEAS (Nitzchia sp.)

CLOROFICEAS (Scenedesmus sp.)

CIANOFICEAS (Aphanothece sp.)



BIBLIOTECA
ING. MARITIMA

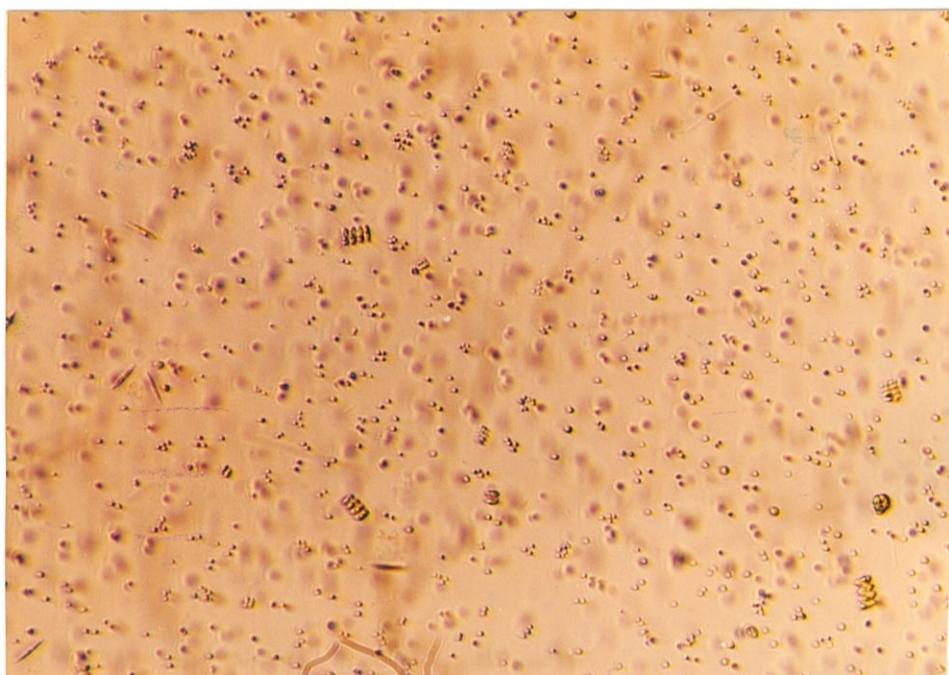


Foto 5. Algas predominantes

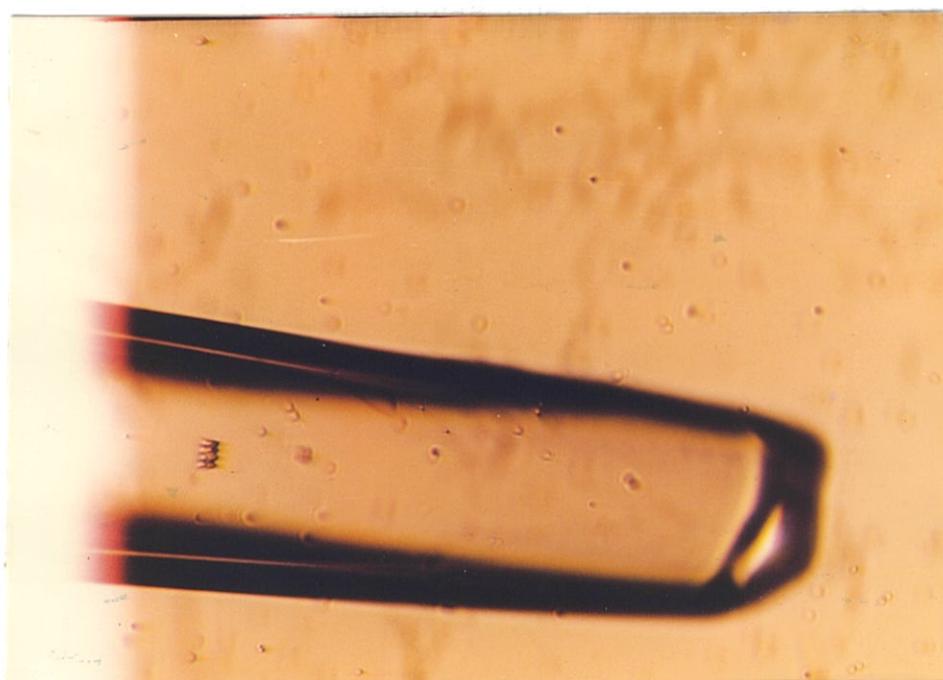


Foto 6. Aislamiento de una Scenedesmus sp.



BIBLIOTE
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CAPITULO III INSTALACION DEL SISTEMA DE CULTIVO

3.1 PREPARACIÓN DE LAS FIOLAS CON LOS MEDIOS DE CULTIVO (HUMUS Y WOODS HOLE MBL) CON SUS RESPECTIVAS RÉPLICAS

3.1.1 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO CON HUMUS

Previo a la utilización del humus, se tomó muestras que pertenecían a diferentes etapas del proceso para determinar número de aeróbicos totales, coliformes totales y coliformes fecales. Cabe señalar según Gebhardt y Anderson (1959), que el número de microorganismos del suelo varía ampliamente dependiendo de varios factores tales como humedad, cantidad de materia orgánica, acidez, alcalinidad, los mismos que se ven reflejados en el proceso de formación del humus. Las muestras tomadas fueron las siguientes:



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

- A) basura en fermentación,
- B) basura fermentada (lista como lecho),
- C) humus de lombriz,
- D) lombrices.

Los resultados fueron los siguientes:

Muestra	Aerobios Totales Colonias/g	Colif. Totales Colonias/g	Colif. Fecales Colonias/g
A	$5,00 \times 10^{13}$	$1,18 \times 10^{10}$	$5,45 \times 10^6$
B	$1,18 \times 10^{13}$	$6,11 \times 10^{12}$	$2,97 \times 10^5$
C	$1,00 \times 10^8$	$1,44 \times 10^7$	-
D	$1,00 \times 10^8$	$1,22 \times 10^5$	$9,57 \times 10^3$

Para optimizar el humus de lombriz, fué pasado por un tamiz de 841 μm . para así obtener las partículas más finas que fueron digeridas por las lombrices pequeñas.

Conseguido esto, se procedió a preparar la solución stock de humus, de esta manera se consiguió con exatitud las diferentes concentraciones para el ensayo.

El stock de humus fué preparado de la siguiente manera:

100 gramos del humus tamizado, en 1 litro de agua destilada luego de efectuada

la mezcla se autoclavó.

Para obtener concentración de 50 mg/l, se procedió de la siguiente manera:

Se tomó 0,5 ml del stock de humus y se lo diluyó en un litro.

Para la concentración de 100 mg/l:

Se tomó 1 ml del stock de humus y se lo diluyó en un litro.

Para concentración de 200 mg/l:

Se tomó 2 ml del stock de humus en un litro de agua.

3.1.2. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO CON WOODS HOLE MBL

El medio tomado como referencia ha sido utilizado en algunas experiencias con especies de agua dulce (Stein, 1973). Su composición química es parecida a la de Guillard-f2, a no ser por la variación que existe en los "macronutrientes".

Se prepararon tres soluciones Stock: una con macronutrientes, la otra con micronutrientes y el último con vitaminas; los mismos que contenían concentraciones referidas por Stein (1973). Las solucio-



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
F. O. ING.
MARITIMA

nes anteriores fueron preparadas en fio-
las de 250 ml luego se autoclavaron las
dos primeras, no así las vitaminas. Para
cada litro de agua destilada se utilizó
un mililitro de cada solución Stock para
preparar el medio de cultivo, una vez a-
gregados los macro y micronutrientes, se
procedió a la esterilización, para luego
de enfriado añadir el mililitro de las
vitaminas.

A continuación se detalla la composición
del medio inorgánico utilizado.

a) Macronutrientes

CaCl ₂ . 2H ₂ O	36,76 g/l
MgSO ₄ . 7H ₂ O	36,98
NaHCO ₃	12,60
K ₂ HPO ₄	8,71
NaNO ₃	85,01
NaSiO ₃ . 9H ₂ O	28,42

b) Micronutrientes

Na ₂ . EDTA	4,36 g/l
FeCl ₃ . 6H ₂ O	3,15
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,01
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,022
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,01
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0,006



c) Vitaminas		
Thiamina.HCl	BIBLIOTECA	0,1mg/l
Biotina	FAC. ING. MARITIMA	0,5 ug/l
Cyanocobalamina		0,5 ug/l

3.2 INÓCULO DE LAS ALGAS A LOS MEDIOS DE CULTIVO

3.2.1 INÓCULO DE LAS ALGAS AL MEDIO

ORGÁNICO (HUMUS).-

Se utilizó para el efecto una fiola con dos réplicas para cada una de las concentraciones de humus (50, 100, 200 mg/l). Cada fiola fué inoculada con 20 ml de un cultivo primario de algas (foto 7) y 180 ml del medio a utilizar.

La posición de las diferentes concentraciones fueron dispuestas paralela a la luz para evitar la influencia de la variación de ésta. El inóculo fué realizado utilizando un mechero de alcohol y una pipeta de 20 ml.

3.2.2 INÓCULO DE ALGAS AL MEDIO INORGÁNICO

(WOODS HOLE MBL)

Para el inóculo se colocó 180 ml del medio de cultivo Woods Hole MBL en cada una de las tres fiolas, luego se les

agregó 20 ml de un cultivo primario de algas, (completando 200ml/fiola).

Los inóculos se los realizó con la presencia de un mechero de alcohol (foto 8)



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

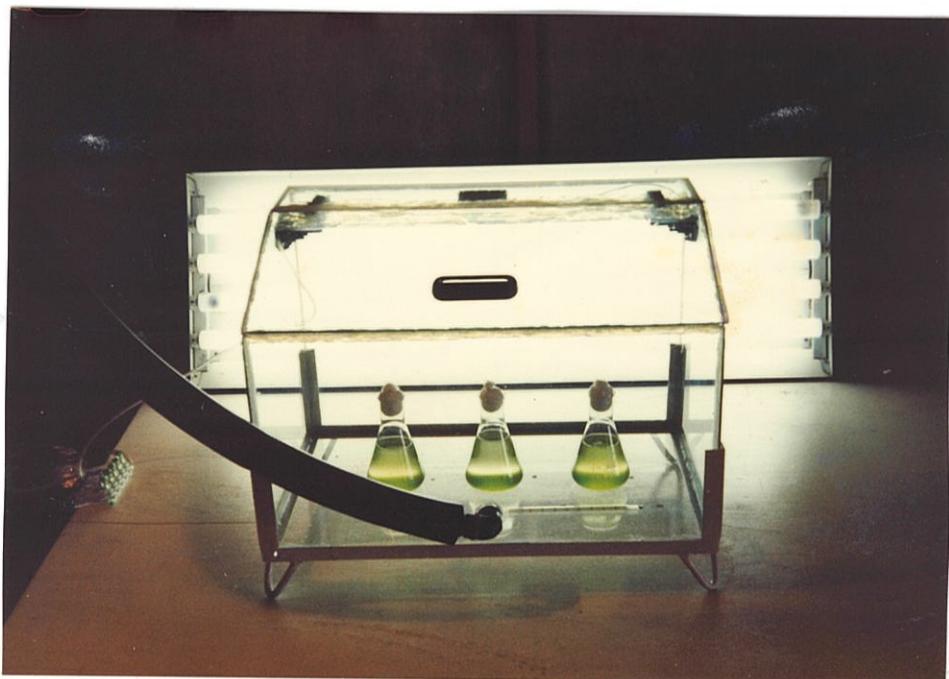


Foto 7 Cultivos primarios



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



Foto 8 Inoculación de Cultivos



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CAPITULO IV RUTINA DIARIA PARA EL SEGUIMIENTO DE LOS ENSAYOS

4.1 CONTAJE DIARIO DE CELULAS ALGALES.-

Los contajes fueron realizados con un Hemocitómetro (foto 9 y 10) durante todos los días (07:00-08:00 Horas) por un lapso de 15 días por cada ensayo, para determinar en todos los cultivos realizados las 4 fases del crecimiento algal. Previo al contaje se esterilizó el material a usarse como micropipetas, tubos de ensayo, cámara de contajes, etc. El tiempo de contaje entre la primera y decimo segunda fiola, fué de máximo cuarenta minutos, para evitar la diferencia significativa del tiempo de contaje entre las fiolas. Para sacar las muestras a contar se necesitó de un mechero para evitar contaminación.

Dependiendo del número algas presentes se contó en el área más adecuada del hemocitómetro y se lo multiplicó por el factor co-

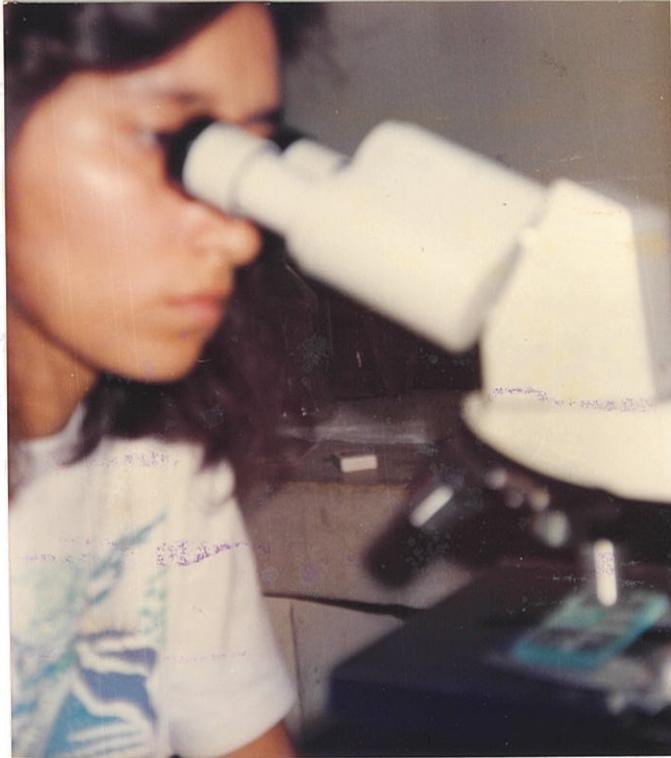


Foto 9 Contajes de Células en Hemocitómetro



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

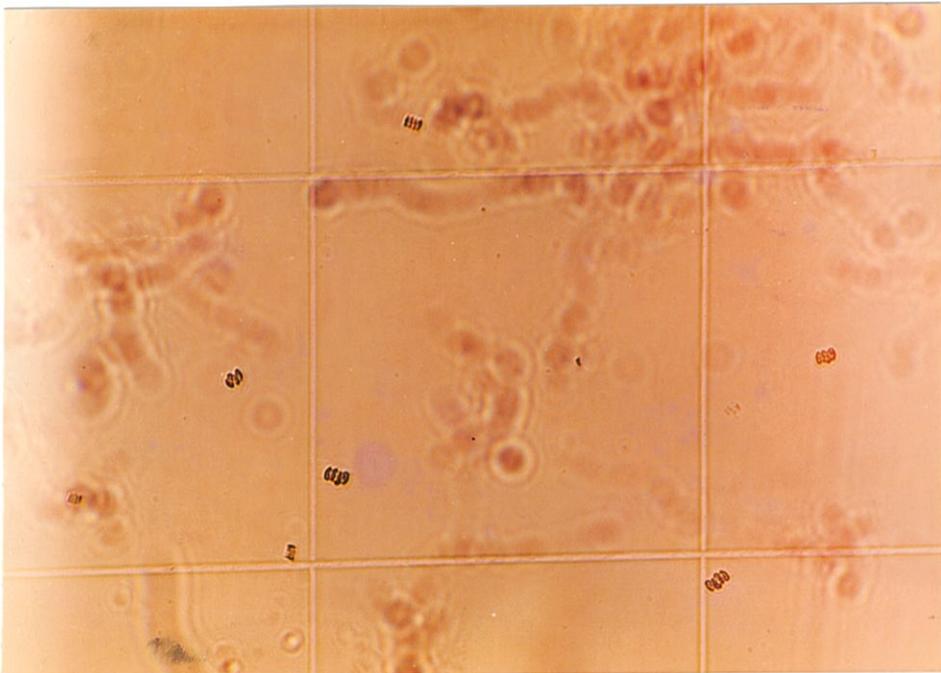


Foto 10 Contajes de Algas en Hemocitómetro



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

rrespondiente.

4.2 ANALISIS MICROBIOLÓGICO (AERÓBIOS TOTALES) AL TERMINO DE LA RUTINA.-

Mucho del éxito de la eficiencia de un fertilizante, sea este orgánico o inorgánico, está dado por el número y tipo de bacterias presentes que puedan reciclar o sintetizar aquellos nutrientes que son asimilables por las plantas; pero este número no debe estar en exceso tal que, pueda afectar al cultivo para el cual se produzca el alimento. En este sentido se determinó el número de bacterias presentes en los cultivos orgánicos e inorgánicos tomando muestras representativas de cada ensayo y comparándose estos resultados con contajes en cultivos primarios de algas de 3 laboratorios comerciales de la provincia.

Tipo Muestra (20/11/90)	Número Aeróbios(#/ml)
<u>Cultivos Agua Dulce</u>	
Control (Scenedesmus)	$4,6 \times 10^5$
Humus (50 mg/l)	$2,0 \times 10^3$
Humus (100mg/l)	$2,9 \times 10^3$
Humus (200 mg/l)	$9,0 \times 10^4$
Medio (50% Inorg.+ 50% Humus 200 mg/l)	$1,5 \times 10^5$

Cultivos Agua Salada

Laboratorio (San Pablo)	10,0 x 10 ⁵
Laboratorio (Punta Blanca)	3,0 x 10 ³
Laboratorio (Punta Blanca)	3,0 x 10 ⁴
Laboratorio (Manglaralto)	3,9 x 10 ³



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARTIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CAPITULO V RESULTADOS Y EVALUACION DE LAS RUTINAS

5.1 Resultados de los contajes con Woods Hole MBL

Los tres tipos de algas aisladas son conocidas en medios de agua dulce debido a la abundancia y frecuencia que se encuentran, en el estómago de peces y crustáceos (Diatomeas, clorofíceas y cianofíceas). Se muestra la preferencia de algunas algas sobre los distintos medios nutritivos y concentraciones utilizadas (foto 5). Evaluando en los ensayos realizados los siguientes parámetros:

- a) El tiempo que dura la fase de crecimiento exponencial,
- b) Número de células al finalizar la fase de crecimiento exponencial, y
- c) el tiempo en que se dió el mayor número de divisiones celulares/día.

Diatoméa (*Nitzschia sp.*).- En este cultivo de algas con el medio control, la fase exponencial se prolongó hasta el día 4 llegando a

los 2,3 millones cel/ml (Tabla I, Figura 1), luego se comportó estacional hasta el 7mo día. El mayor número de divisiones/día (1,6) se produjo al 2do día de cultivo (Figura 2).

Cianofícea (Aphanothece sp.).- Los contajes del presente cultivo mostraron, que la fase exponencial tuvo su máximo al 4to día llegando a los 4 millones cel/ml (ver Tabla II y Figura 3-4), observándose luego una fase estacionaria y empezando a decaer a los 13 días de cultivo, el mayor número de divisiones/día se produjo al 2do día de cultivo.

Clorofícea (Scenedesmus sp.).- La fase exponencial en este cultivo duró hasta el 8vo día (Foto 11) llegando a un número de 19 millones cel/ml (Tabla III, Figura 5), el mayor número de divisiones/día se dió al 2do día (Gráfico 6).

5.2 Resultados de los contajes con Humus

5.2.1 Concentración 1 (50 mg/l)

Diatoméa (Nitzchia sp.).- La fase exponencial duró hasta el 2do día de cultivo, llegando a 0,62 millones cel/ml, decayendo luego para volver a subir y llegar a 1,2



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

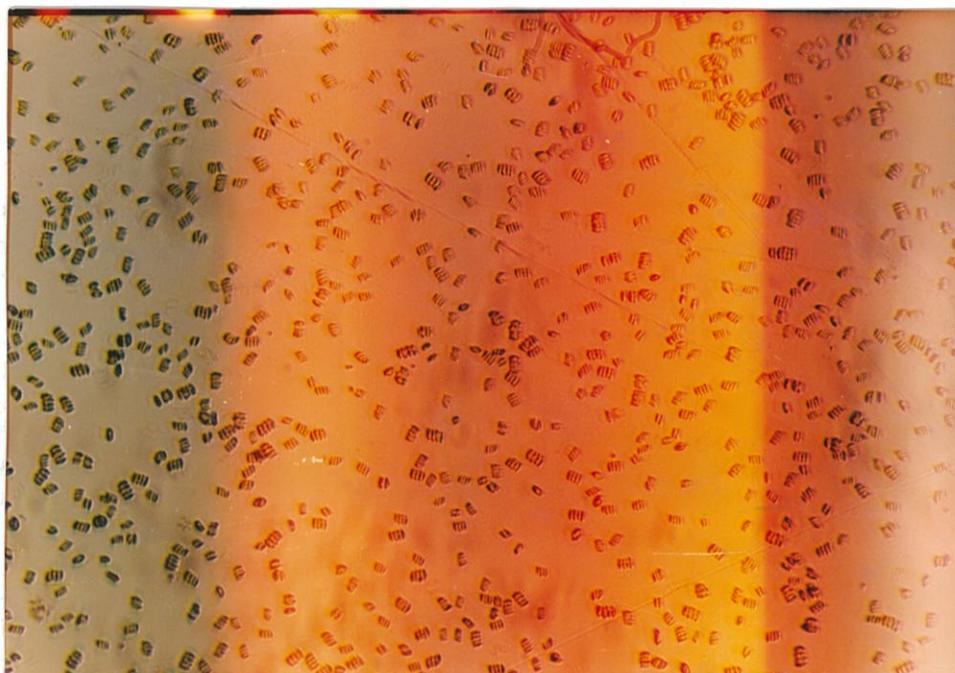


Foto 11 Cultivo masivo de Scenedesmus



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

TABLA 1 COMPORTAMIENTO DIARIO DE *Nitzchia* sp CON SUS RESPECTIVAS
DIVISIONES/DIA (Kf)
26/07/90

DIA	CONTROL		50mg/lt		100mg/lt		200mg/lt	
	Cel./ml (x 1000)	Kf						
0	165	0.000	165	0.000	165	0.000	165	0.000
1	235	0.510	415	1.331	240	0.541	263	0.670
2	758	1.689	623	0.585	470	0.970	713	1.441
3	1,875	1.308	585	-0.090	390	-0.269	703	-0.020
4	2,295	0.292	470	-0.316	645	0.726	540	-0.380
5	2,300	0.003	1,215	1.370	700	0.118	663	0.059
6	1,900	-0.276	755	-0.686	560	-0.322	650	0.209
7	2,515	0.405	813	0.106	633	0.176	850	0.387
8	2,055	-0.291	698	-0.220	1,078	0.769	660	-0.365
9	1,460	-0.493	635	-0.135	770	-0.485	565	-0.224
10	750	-0.961	630	-0.011	1,300	0.756	415	-0.445

FIGURA 1

DIATOMEA (Nitzchia sp.)
Control-50mg/lt-100mg/lt-200mg/lt

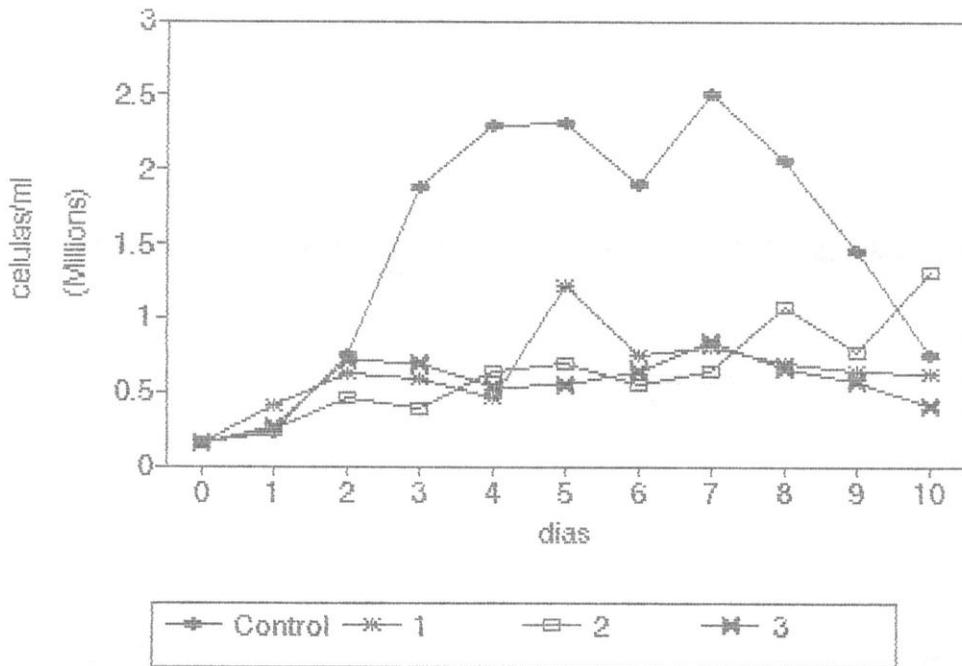
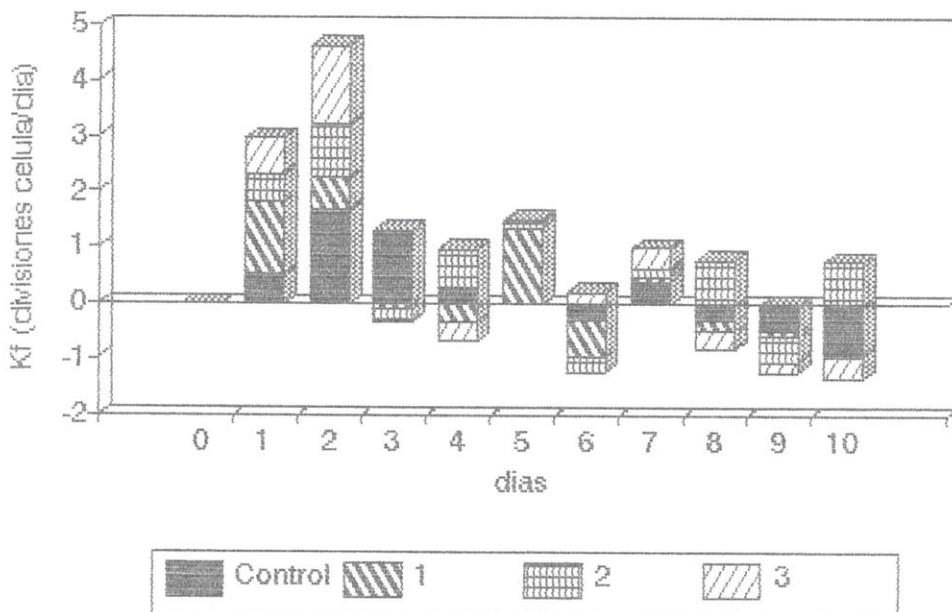


FIGURA 2

DIATOMEA (Nitzchia sp.)
CONTROL-50mg/lt-100mg/lt-200mg/lt



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

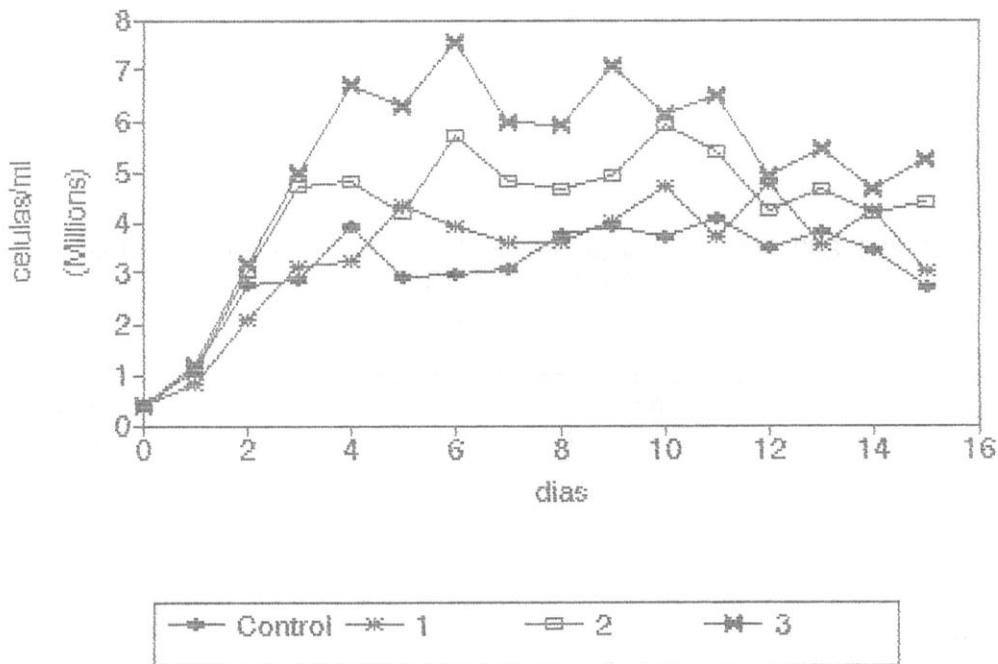
TABLA 2 COMPORTAMIENTO DIARIO DE *Aphanothece* sp CON SUS RESPECTIVAS DIVISIONES/DIA (Kf) 26/09/90

DIA	CONTROL		50mg/lt		100mg/lt		200mg/lt	
	Cel./ml (x 1000)	Kf						
0	400	0.000	400	0.000	400	0.000	400	0.000
1	1,100	1.459	800	1.000	1,067	1.415	1,200	1.585
2	2,767	1.331	2,100	1.392	3,000	1.492	3,167	1.400
3	2,900	0.068	3,133	0.577	4,700	0.648	5,000	0.659
4	3,933	0.440	3,233	0.045	4,800	0.030	6,700	0.422
5	2,933	-0.423	4,367	0.434	4,200	-0.193	6,300	-0.089
6	2,966	0.016	3,933	-0.151	5,733	0.449	7,567	0.264
7	3,067	0.048	3,633	-0.115	4,833	-0.246	6,000	-0.335
8	3,733	0.284	3,600	-0.013	4,667	-0.051	5,933	-0.016
9	3,933	0.075	4,067	0.176	4,933	0.080	7,100	0.259
10	3,700	-0.088	4,733	0.219	5,900	0.258	6,150	-0.207

FIGURA 3

CIANOFICEA (*Aphanothece* sp.)

CONTROL-50mg/lt-100mg/lt-200mg/lt

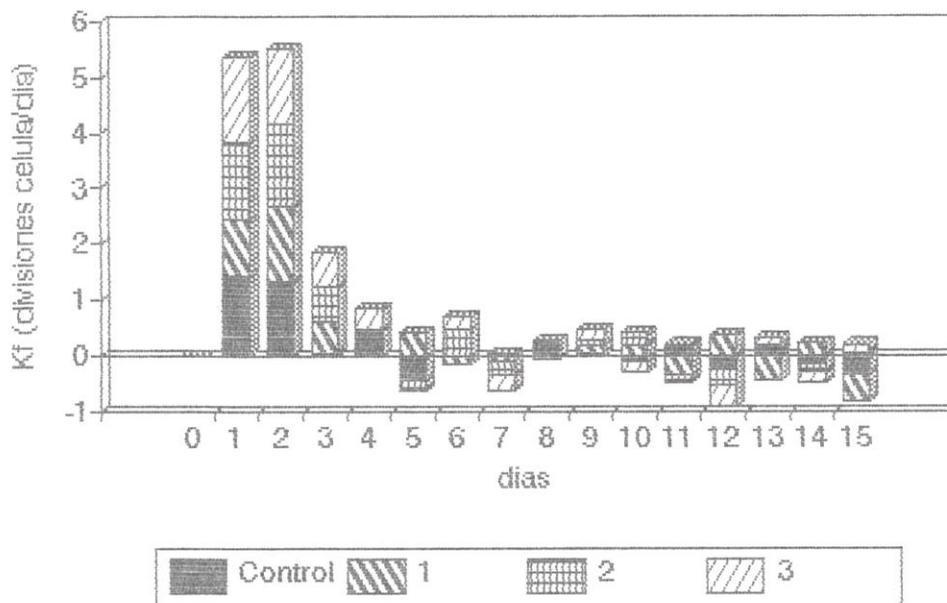


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIGURA 4

CIANOFICEAS (*Aphanothece* sp.)

CONTROL-50mg/lt-100mg/lt-200mg/lt





BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

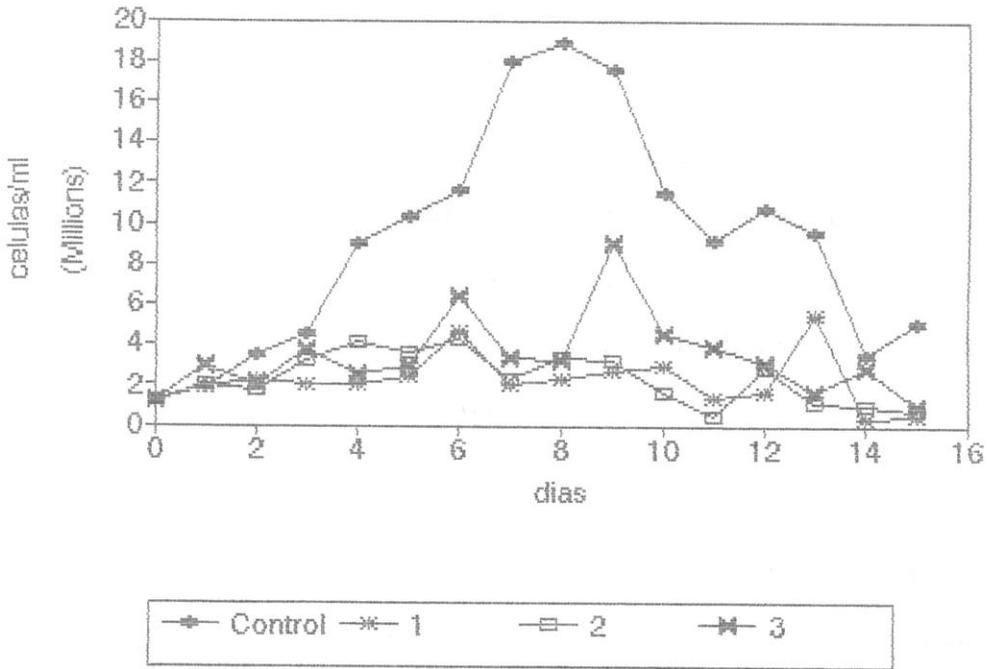
TABLA 3 COMPORTAMIENTO DIARIO DE *Scenedesmus* sp CON SUS RESPECTIVAS DIVISIONES/DIA (Kf) 21/11/90

DIA	CONTROL		50mg/lt		100mg/lt		200mg/lt	
	Cel./ml (x 1000)	Kf						
0	1,210	0.000	1,210	0.000	1,210	0.000	1,210	0.000
1	1,880	0.636	1,950	0.689	2,050	0.761	2,970	1.296
2	3,533	0.910	2,340	0.263	1,795	-0.192	2,100	-0.500
3	4,566	0.370	2,060	-0.184	3,245	0.854	3,760	0.840
4	9,100	0.995	1,995	-0.046	4,210	0.376	2,550	-0.560
5	10,293	0.178	2,480	0.314	3,580	-0.234	2,980	0.225
6	11,567	0.168	4,720	0.928	4,330	0.274	6,440	1.112
7	17,933	0.633	2,060	-1.196	2,400	-0.851	3,350	-0.943
8	18,867	0.073	2,330	0.178	3,300	0.459	3,200	-0.066
9	17,553	-0.104	2,700	0.213	3,200	-0.044	9,100	1.508
10	11,500	-0.610	3,000	0.152	1,700	-0.913	4,600	-0.984

FIGURA 5

COLORIFICEA (Scenedesmus sp.)

Control-50mg/lt-100mg/lt-200mg/lt

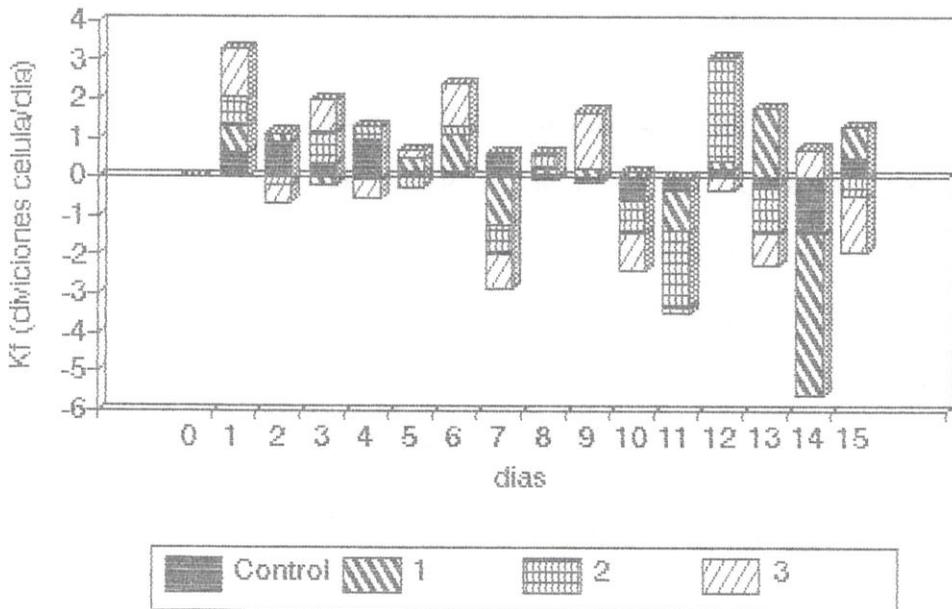


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIGURA 6

COLORIFICEA (Scenedesmus sp.)

Control-50mg/lt-100mg/lt-200mg/lt



millones cel/ml (Tabla I, Figura 1), el mayor número de divisiones/día (1,33) se dió al día 1 y 5 (Figura 2).

Cianofícea (Aphanothece sp.).- La fase exponencial duró hasta el día 5 llegando a unos 4.5 millones cel/ml (Tabla II, Figura 3); la mayor división día se dió al 2do día del cultivo (Figura 4)

Clorofícea (Scenedesmus sp.).- Se presentó una fase inicial bastante larga de 4 días, para luego darse la fase exponencial, la cual se mantuvo hasta el 8vo día llegando hasta los 5 millones cel/ml (ver Tabla III, Figura 5). El mayor número de divisiones se dió al día 2 (Figura 6).

5.2.2 Concentración 2 (100 mg/l)

Diatoméa (Nitzchia sp.).- Este cultivo de algas mantuvo la fase exponencial hasta el día 2 llegando a 0,47 millones cel/ml (Tabla I, Figura 1); el mayor número de divisiones/día (0,9) se dió al 2do día (Figura 2).

Cianofícea (Aphanothece sp.).- Para la



presente concentración la fase exponencial se dió hasta el día 6 llegando casi a los 6 millones cel/ml (Tabla II, Figura 3); la mayor división/día se produjo al día 2 (Figura 4)

Clorofícea (Scenedesmus sp.).- Para esta alga el día que se terminó la fase de crecimiento fué al 4to, llegando a tener 4 millones cel/ml (Tabla III, Figura 5). El mayor número de divisiones células/día durante su fase exponencial fué al 3er día (Figura 6).

5.2.3 Concentración 3 (200 mg/l)

Diatomea (Nitzchia sp.).- En este tipo de cultivo su más alta concentración y a la vez el término de la fase exponencial se dió al día 2 llegando a 0,713 millones cel/ml (Tabla I, Figura 1). Su mayor número de 1,44 divisiones/día se dió en el día 2. (Figura 2)

Cianofícea (Aphanothece sp.).- En los cultivos con esta concentración la fase exponencial duró hasta el 8vo día, llegando aproximadamente a 8 millones células/ml (Tabla II, Figura 3). En cuanto



BIBLIOTECA
DEL ING.
MARITIMA

a las divisiones/día su máximo pico fué de 1,6 al día 1 de cultivo (Figura 4).

Clorofícea (Scenedesmus sp.).- El más alto valor presentado fué de aproximadamente 9 millones de células/ml al 9no día de cultivo (Tabla III, Figura 5). En lo referente al número de divisiones/día el valor más alto fué de 2 al día 9 siguiéndole un valor de 1,4 divisiones/día al día 1 de cultivo (Figura 6).

Posteriormente a estos ensayos se presentaron otras inquietudes, las que utilizando las mismas técnicas descritas ayudaron a tener una mejor visión de los resultados.

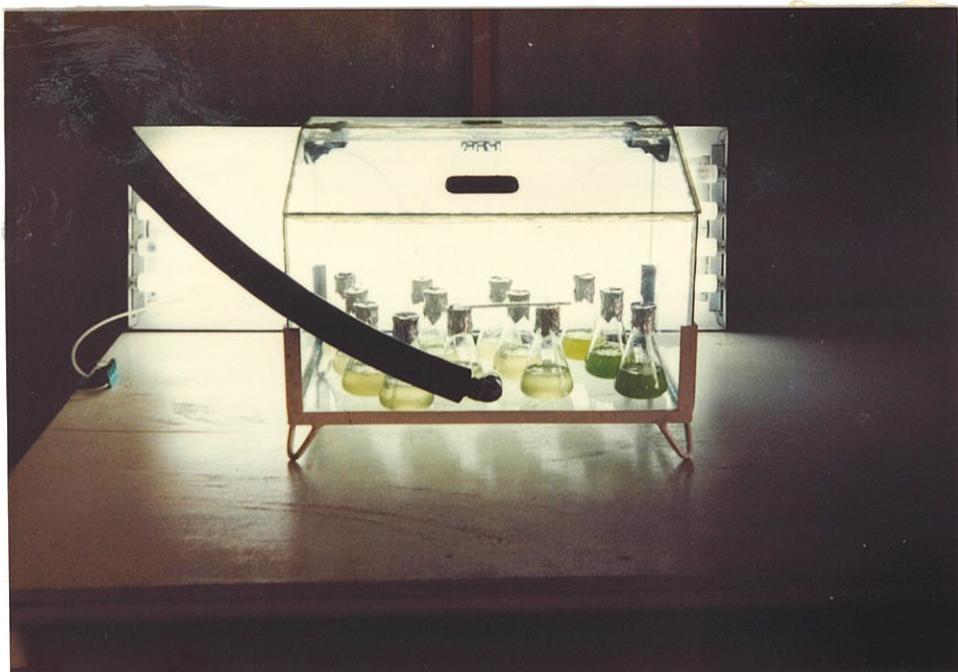
Se realizó un nuevo ensayo utilizando para el efecto Scenedesmus sp. haciendo combinación entre los medios (orgánico + inorgánico), utilizando la mitad de las concentraciones antes descritas de humus con la mitad de las concentraciones del medio inorgánico recomendado tradicionalmente (Foto 12). Dando los siguientes resultados:



BIOTECNA
ING.
MEXICO



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Foto 12 Cultivos con medios Orgánicos e Inorgánicos

- a) Mitad del medio inorgánico añadido más la mitad de la concentración 1 de humus.- Mostró un incremento en el crecimiento de algas comparados con los resultados mencionados anteriormente en los otros ensayos, terminándose la fase exponencial al 7mo día, con aproximadamente 12 millones de cel/ml (Tabla IV, Figura 7). Dándose el mayor número de divisiones/día de 0,75 al 4to día.
- b) Media concentración de inorgánico más la mitad de la concentración 2 de humus.- El cultivo mejoró, la fase exponencial se prolongó hasta el 8vo día llegando a 17 millones cel/ml. El mayor número de divisiones/día fué de 1,1 al día 1 de cultivo (Tabla IV, Figura 7).
- c) Media concentración del medio Inorgánico más media de concentración 3 de humus.- El cultivo mejoró aun más ya que llegó a 13,5 millones al 4to día (18 millones al 8vo día). El mayor número de divisiones/día fué de 1,5 al 4to día de cultivo (Tabla IV, Figura 7).

La comparación entre las tres concentraciones con el control mostró que existe un aparente



BIBLIOTECA
DE INGENIERIA
MARITIMA

mejor crecimiento del control, pero los crecimientos de las tres concentraciones mostraron ser significativamente ($r= 0,917$) iguales hasta el día 8 (Figuras 7 y 8).

TABLA 4 COMPORTAMIENTO DIARIO DE *Scenedesmus* sp CON SUS RESPECTIVAS DIVISIONES/DIA (Kf) CON MEDIO ORGANICO E INORGANICO 15/12/90

DIA	CONTROL		25mg/lt+1/2 Inorg		50mg/lt +1/2Inorg		100mg/lt+1/2Inorg	
	Cel./ml (x 1000)	Kf						
0	1,210	0.000	1,210	0.000	1,210	0.000	1,210	0.000
1	1,880	0.636	2,100	0.795	2,600	1.104	3,020	1.320
2	3,533	0.910	2,800	0.415	4,080	0.650	2,080	-0.538
3	4,566	0.370	4,760	0.766	6,960	0.771	4,960	1.254
4	9,100	0.995	6,020	0.339	5,200	-0.421	13,640	1.459
5	10,293	0.178	8,640	0.521	7,800	0.585	12,040	-0.180
6	11,567	0.168	9,400	0.122	6,800	-0.198	8,500	-0.502
7	17,933	0.633	11,900	0.340	10,400	0.613	10,600	0.319
8	18,867	0.073	10,800	-0.140	16,500	0.666	17,000	0.682
9	17,553	-0.104	12,600	0.222	10,200	-0.694	15,800	-0.106
10	11,500	-0.610	6,800	-0.890	9,350	-0.126	6,500	-1.281



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

COLOROFICEA (*Scenedesmus* sp.) Control - Media Concentracion

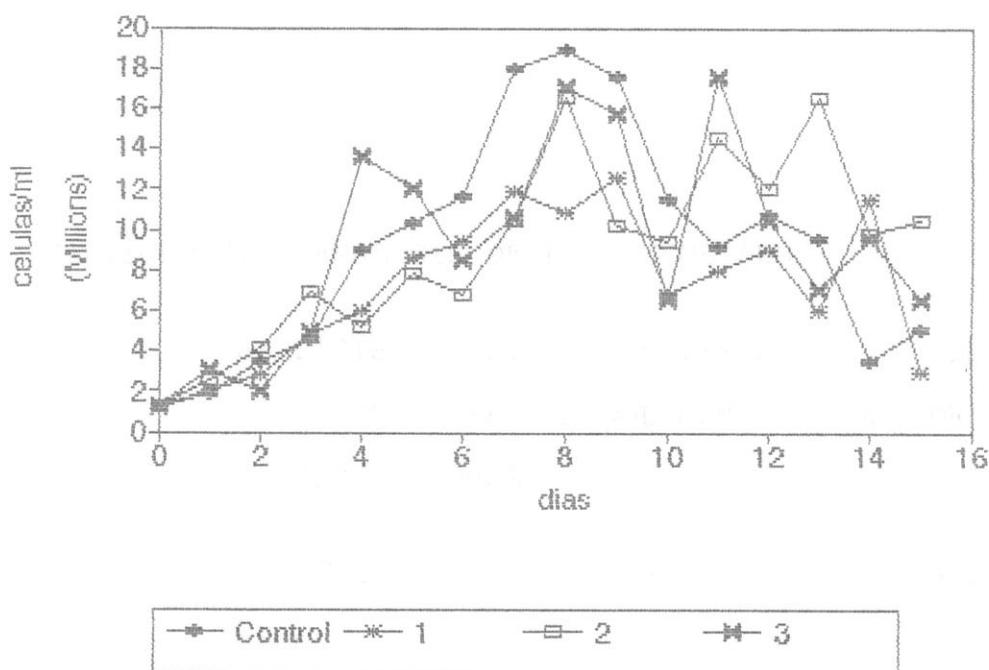
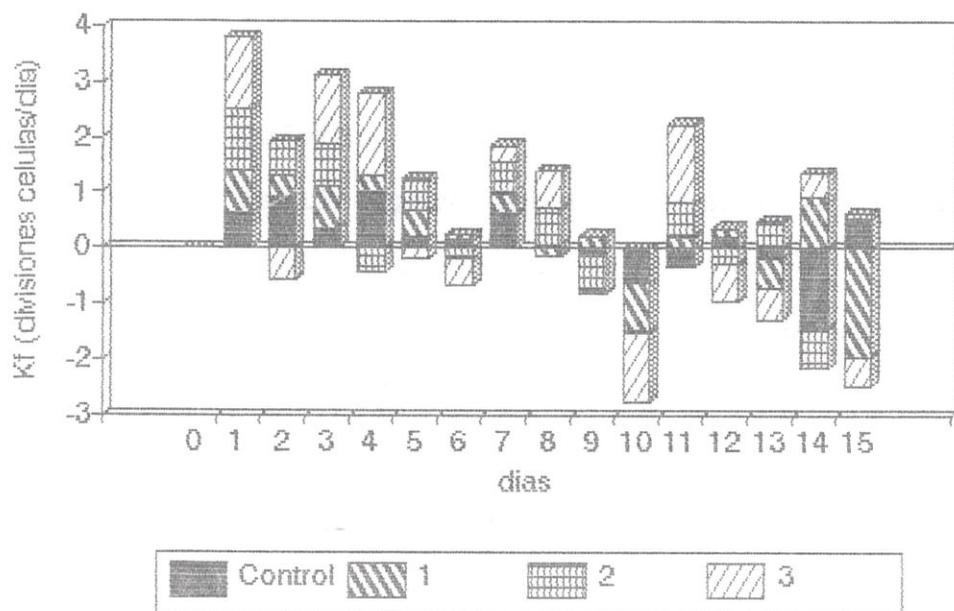


FIGURA 8

COLOROFICEA (*Scenedesmus* sp.) Control - Media Concentracion



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CAPITULO VI ANALISIS DE LOS RESULTADOS

6.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ENTRE EL NÚMERO DE DIVISIONES/DÍA DEL CONTROL CON CADA UNA DE LAS CONCENTRACIONES.-

Para la realización del análisis de las medias entre los controles con sus respectivas concentraciones se tomó el promedio del número de divisiones por día, cogiendo los cinco primeros días de cultivo debido a que, para la mayoría de los cultivos, coincidió con su fase de crecimiento exponencial, no tomándose en cuenta divisiones negativas ya que eran producto de pequeños descensos que sufrían algunos cultivos. Este análisis se lo realizó para determinar si existió diferencia significativa entre el control y las 3 concentraciones del humus. Como se conoce, el número de divisiones/día es un índice que nos ayuda a dar una idea de la vitalidad de las células, estando esta última relacionada con

la calidad del medio provisto. Se utilizó el análisis de medias de T de Students, el mismo que posee las siguientes ecuaciones para hallar el valor de "t" de las medias (Murray, 1974):

$$t = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{DS \sqrt{1/N_a + 1/N_b}} \quad DS = \sqrt{\frac{N_a(S_a)^2 + N_b(S_b)^2}{N_a + N_b - 2}}$$

donde:

X_a = Promedio de la muestra "a" de tamaño N
 X_b = Promedio de la muestra "b" de tamaño N
 N_a = Valor del tamaño de la muestra "a"
 N_b = Valor del tamaño de la muestra "b"
 DS = Desviación típica de la muestra "a" con respecto a la "b".
 S_a = Desviación típica de la muestra "a".
 S_b = Desviación típica de la muestra "b".

Teniendo los "t" calculados para cada análisis de medias, se procedió a comparar con el T crítico que presenta la tabla de T Studens. Si el valor "t" calculado cae dentro del rango que dá T, entonces aceptaremos la hipótesis nula (que dice: No existe diferencia significativa entre las medias o sea que son iguales), si sucede lo contrario, es decir que cae fuera del T de la tabla, procedemos a rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa (que dice: Existe diferencia significativa entre las medias compara-

das, por lo tanto las medias son diferentes.

6.1.1 CONTROL - CONCENTRACIÓN 1

Nitzchia sp.- El promedio del número de divisiones/día con su respectiva desviación típica para el control y la primera concentración fué:

	Control	Concentración 1
Media (# div/día)	0,76	1,1
Desviación típica	0,64	0,36

Los resultados del análisis de las medias entre las dos concentraciones mostró:

Grados de libertad = 6

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,71$

Valor de t calculado = - 0,724

Por lo tanto se acepta la hipótesis nula y diremos que no existió diferencia significativa (99%) entre el análisis de medias del número de divisiones/día durante las fases de crecimiento de algas.

Aphanothece sp.- El promedio del número de divisiones/día con su respectiva desviación típica para el control y concen-



BIBLIOTECA
UNIVERSITARIA
DE PUERTO RICO
SAN JUAN

tracción 1 fué la siguiente:

	Control	Concentración 1
Media(# div/día)	0,82	0,69
Desviación típica	0,59	0,47

Los resultados del análisis de media para determinar si existió diferencia significativa entre ambos fué:

Grados de libertad = 7

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,5$

Valor de t calculado = 0,339

Por lo tanto se acepta la hipótesis nula y diremos que no existió diferencia significativa (99%) entre el análisis de medias del numero de divisiones/día durante las fases de crecimiento de algas.

Scenedesmus sp..- La media y desviación típica fueron:

	Control	Concentración 1
Media	0,62	0,42
Desviación Típica	0,31	0,19

El análisis de media dió como resultado:

Grados de libertad = 6

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,71$

Valor de t calculado = 0,8548

Por lo tanto se acepta la hipótesis nula y diremos que no existió diferencia significativa (99%) entre el análisis de medias del número de divisiones/día durante las fases de crecimiento de algas.

6.1.2 CONTROL - CONCENTRACIÓN 2

La presente concentración de humus también fué evaluada con respecto al control, con los distintos tipos de algas de algas.

Nitzchia sp.- La media del número de divisiones/día con su respectiva desviación típica fué:

	Control	Concentración 2
Media	0,76	0,59
Desviacion tipica	0,64	0,31

El análisis de media mostró lo siguiente
Grados de libertad = 7

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,5$

valor de t calculado = 0,4367

Aphanothece sp.- Teniendo las medias y las desviaciones estandar, se procedió a hacer los respectivos análisis de media.

	Control	Concentración 2
Media	0,82	0,9
Desviación Típica	0,59	0,60

El análisis de media dió como resultado:

Grados de libertad = 6

valor T (99% de significancia) = $\pm 3,71$

valor de t calculado = 0,1483

Scenedesmus sp.- El promedio con su respectiva desviación típica fué la siguiente:

	Control	Concentración 2
Media	0,62	0,66
Desviación típica	0,31	0,21

El análisis de la media mostró lo siguiente:

Grados de libertad = 6

Valor de T para 99 % de significancia
= $\pm 3,71$

Valor de t calculado = -0,1962

Para los tres tipos de algas con la concentración mencionada se noto que no existió diferencia significativa (99%) con los controles.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

6.1.3 CONTROL - CONCENTRACIÓN 3

Nitzchia sp..- El promedio de las divisiones/día así como su desviación típica fué:

	Control	Concentración 3
Media	0,76	0,72
Desviación típica	0,64	0,56

El análisis de las medias dio el siguiente resultado

Grados de Libertad = 6

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,71$

Valor de t calculado = 0,0715

Aphanothece sp..-

	Control	Concentración 3
Media	0,82	1,02
Desviación típica	0,59	0,49

El análisis de las medias dió el siguiente resultado:

Grados de Libertad = 6

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,71$

Valor de t calculado = - 0,4359



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Scenedesmus sp.- La media del número de divisiones/día con su desviación típica se muestra a continuación:

	Control	Concentración 3
Media	0,62	0,79
Desviación típica	0,31	0,44

El análisis estadístico para determinar si existió diferencia significativa dió el siguiente resultado:

Grados de Libertad = 6

Valor de T para 99% de significancia
= $\pm 3,71$

Valor de t calculados = - 0,5509

Con la concentración de humus de 200 mg/lt en los tres tipos de algas no hubo diferencia significativa con sus respectivos controles.

Scenedesmus sp. (Biofertilizante) .- Las medias de las divisiones/día de la células con las distintas concentraciones de humus se muestran a continuación:

	Control	Concentración		
		1	2	3
Media	0,62	0,57	0,78	1.05
Desv. típica	0,31	0,18	0,20	0,51

El análisis de medias mostró:

COMPARACIONES

	1ra	2da	3ra
Grados de Libertad =	8	7	7
Valor de T para 99%			
de significancia =	3,36	3,5	3,5
Valor de t			
calculados =	0,2799	-0,7849	-1,3923

Utilizando mitad del humus con mitad del medio inorgánico se notó que estadísticamente no existió diferencia significativa (99%) con el control.

6.2 ANALISIS DE COSTOS PARA LOS MEDIOS UTILIZADOS

6.2.1 WOODS HOLE MBL

Para el análisis de los costos con este medio se procedió primero a determinar el costo de cada ingrediente por gramo, utilizado en un litro de solución "stock", para luego, conociendo que solo se utiliza 1 ml para un litro de medio de cultivo; se tuvo el costo de un litro de medio. Los costos de cada químico que interviene en la preparación son:

NUTRIENTES	CANTIDAD UN LITRO STOCK (gr)	PRECIO sucres/(g) (*)	PRECIO (sucres)
CaCl ₂ .2H ₂ O	36,76	24,00	882,24
MgSO ₄ .7H ₂ O	36,97	2,00	73,94
NaHCO ₃	12,60	39,00	491,40
K ₂ HPO ₄	8,71	48,00	418,08
NaNO ₃	85,01	2,4	204,02
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	28,42	2,4	68,21
Na ₂ EDTA	4,36	72,00	313,92
FeCl ₃ .6H ₂ O	3,15	4,00	12,60
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,01	72,00	0,72
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,022	5,5	0,12
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,01	220,00	2,2
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,18	44,00	7,92
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,006	440,00	2,64
Tiamina	0,0001	80,00	0,008
Biotina	0,0000005		80,00
Cianocobalina	0,0000005	1900	0,001
TOTAL			<u>2558,02</u>

* Dolar a 1.110,00 sucres (15/07/1991)

El costo/litro de medio es de s/. 2,56 sucres

6.2.2 CONCENTRACION 1

El costo del humus en el mercado está en la actualidad a s/ 500,00 sucres la funda de 2 Kg, lo que da un costo de

0,00025 sucres/mg.

Con la concentración 1 (50 mg/l) el costo fué de 0,123 sucres/l de medio.

6.2.3 CONCENTRACION 2

Para el presente caso el costo fué de 0,025 sucres/l de medio de cultivo.

6.2.4 CONCENTRACION 3

Según el analisis anteriormente expuesto el costo para el litro de medio es de 0,05 sucres/l de medio de cultivo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El humus, por sus características físicas (tamaño y forma) y químicas (composición) es uno de los mejores fertilizantes, el cual no solo proporciona un medio nutritivo sino que mantiene la calidad física del suelo. Conociendo que la flora existente en el medio acuático depende única y exclusivamente de la composición del sustrato, por ende es importante tener un mejor conocimiento del tipo de sustrato con el que se trabaja.

El humus como materia orgánica, presenta luego de concluir su proceso de formación, una actividad microbiana poco elevada, y dentro de la cual existe "cero" presencia de coliformes fecales (indicadores de contaminación) a pesar del origen (desperdicios orgánicos animales y vegetales), donde este tipo de bacterias sí se encuentra en cantidades considerables mayores de 10^6 cell/ml. Pudiéndose notar al respecto que durante el proceso de fermentación este tipo de bacterias se reduce por dos razones: a) Las variaciones de temperatura y pH que rigen durante el proceso de preparación del compost, son letales para este tipo de bacterias y para la mayoría de las patógenas.

b) Gran parte de los patógenos son eliminados durante la digestión de la lombriz.

Según resultados de los contajes de bacterias de los

cultivos con humus y la comparación hecha con cultivos comerciales, se puede notar que no existe influencia sobre el crecimiento de estas, por lo que podemos estar seguros de que el humus no es una fuente de bacterias, que en un número elevado podrían incidir negativamente en los sistemas de producción, sean estos cerrados o no.

Del análisis de las comparaciones entre el número de divisiones/día (Kf) del control con las distintas concentraciones, resultaron ser estadísticamente iguales para todos los casos, debido a que la desviación típica relativa de los promedios fue grande.

En todas las concentraciones existe una incidencia positiva del humus para el crecimiento de las diatoméas, clorofíceas, cianofíceas, aunque por sus características de menos exigencia resultó mejor el cultivo con humus en las cianofíceas. Este crecimiento para los tres tipos de algas fué relacionado con la concentración de 50 mg/l, 100 mg/l y 200 mg/l resultando una relación de crecimiento algal directamente proporcional con la concentración de humus utilizada.

Para todas las concentraciones se notó un crecimiento más estable en los cultivos con humus, lo que se puede suponer es debido a la capacidad de la partícula de retener nutrientes y proporcionárselo al agua cuando se

lo necesite, debido a su elevado potencial de equilibrio iónico.

En todas las concentraciones a excepción de las cianofíceas (el cual fue mejor con humus) mayor número de cell/ml fué mayor con el medio inorgánico Woods Hole pero el costo de producción en comparación con el humus fué de hasta 20 veces mayor.

Por lo expuesto podemos decir que el fertilizante humus presenta características físicas, químicas y biológicas que lo ejemplariza no solo como un estimulador de la productividad del estanque sino un mantenedor de esta.

No posee características excelentes en su composición química (necesaria para estimular densidades intensivas), pero su uso con un fertilizante inorgánico que lo complemente sería necesario, ya que juntos pueden dar mejores resultados y reduciendo costos de fertilización hasta un 50%, como se lo demuestra también en el presente trabajo, donde se notó que reduciendo las concentraciones a la mitad y mezclando los dos medios dio el mismo crecimiento ($r = 0,917$) obteniéndose un "Biofertilizante" el mismo que a más de servir como fertilizante, va a aportar y enriquecer el suelo, el cual es eje importante para conseguir un buen efecto del fertilizante.

Futuros trabajos deberán hacerse complementarios sobre su efecto en agua salobre y salada y métodos de uso del biofertilizante en sistemas abiertos. Siendo importante ya que mucho del éxito en el efecto del fertilizante depende de la cantidad y técnica empleada.

B I B L I O G R A F I A

- ALFONSO, E. Y NUNES, M. Uso de Nuevos Fertilizantes para Cultivar Fitoplancton. Revista de Investigaciones Marinas vol. Vi, n^o 1. Centro Investigaciones Marinas Facultad de Biología, Universidad de la Habana-Cuba, 1985.
- BARDACH, J.E., RYTHER, J.H. AND MCLARNEY, W.O. Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms. New York, N.Y., John Wiley & Sons Inc (intercience), 1972.
- BOURRELLY, P. Les algues d'eau douce, 3 Vols., En parte 2da reimpr. N. Boubée & cie., Paris, 1966-1972.
- BUCK, H., BAUR, R.J. AND ROSE, C.R. Polyculture of Chinese carps in ponds with swine wastes. In: R.O. Smitherman, W.L. Shelton and J.H. Grover (Editors), Culture of Exotic Fishes, Symp. Proc. Fish Culture Section, American Fisheries Society, Bethesda, Md., 1978a, pp. 144-155.
- BUCK, D.H., BAUR, R.J. AND ROSE, C.R. Utilization of swine manure in a polyculture of Asian and North American fishes. Trans. Am. Fish. Soc., 1978b, 107: 216-222.

- BURNS, R.P. Growth of *Tilapia aurea* in ponds receiving laying hen wastes. M.S. Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, 1978, 63 pp.
- COLL, J. Acuicultura Marina Animal. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid1 - España, 1984.
- COX, E.R. (Edit). Phytoflagellates. Elsevier/north holland, New York, Amsterdam, Oxford, 1980.
- DAWES CLINTON J. Botanica marina editorial Limusa, S.A. de C.V. Mexico 1, d.F., 1986.
- DE SCHUTTER A. et. al. Extension y Capacitacion Rurales. Editorial Trillas, S.A. de C.V., Av. Rio Churubusco 385, Col. Pedro Maria Anaya Deleg. Benito Juarez, 03340, Mexico, D.F., 1982.
- FOTH, H.D. Fundamentos de la ciencia del suelo. Compañia editorial Continental, S.A. de C.V., Mexico, 1986.
- GEBHARDT, L. P., ANDERSON D. A. Microbiology. The C. V. Mosby Company. U.S.A., 1959, pp. 293-294.
- GROS, A. Abonos guia practica de la fertilizacion, Ediciones Mundi Prensa Castello, 37 Madrid11, 1981.
- HEPHER, B., PRUGININ Y. Cultivo de peces comerciales. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Balderas 95, primer piso, 06040 Mexico 1, D.F., 1985.

- HUET, M. "Tratado de Piscicultura", Ediciones Mundi Prensa. Castelló, 37. Madrid - España, 1983.
- INFANTE, A. Y LITT, A.H. "Differences Between Two Species of Daphnia in the Use of 10 Species of Algae in Lake Washington", *Limnol. Oceanogr.*, 1985, 30: 1053-1059.
- KONONOVA M. *Materia organica del suelo*. Ediciones oikos-tau, S.A. Vilassar de Mar-Barcelona- España, 1982.
- LIEBIG, JUSTOUS. "Chemistry in its Application to Agriculture and Physiology", L. Playfair, Editor, Wiley, New York, 1952.
- MADDOX, J.J., BEHRENS, L.L., MADEWALL, C.E. AND PILE, R.S. "Algae-swine manure system for production of silver carp, bighead carp and tilapia. In: R.O. Smitherman, W.L. Shelton and J.H. Grover (Editors), *Culture of Exotic Fishes*, Symp. Proc. Fish Culture Section, American Fisheries Society, Bethesda, Md., 1978, pp.109-120.
- MARGALEF, R. *Limnologia*. Ediciones Omega, S.A./ Platon, 26/ Barcelona-6, 1983.
- MORRIS, I. "An Introduction to the Algae". Hutchinson University Library, London 1967, 189 pp.

- MURRAY, R.S. Schaum Outline of Theory and Problems of Statistics. Schaum Publishing Company. New York-USA, 1974.

- PASCHER, A. Systematische Übersicht über die mit flagellaten in zusammenhang stehenden algenreihen. Beih. Bot. Centralbl., 1931.

- PONOMAREVA, S.I. "Rapidez de formación de calcita en el suelo por las lombrices de tierra", Dokl. AN SSSR, 1948, vol. 61, num. 3.

- PONOMAREVA, S.I. "Influencia de la actividad vital de la lombrices de tierra en la creación de una estructura resistente del suelo cespced-podsol", Trudy Poch. inta im. V. V. Dokuchayeva AN SSSR, 1953, vol. XVI, pag. 304.

- RAPPAPORT, U., SARIG, S. AND BERJERANO, Y. Observations on the use of organic fertilizers in intensive fish farming at the Ginosar Station in 1976. Bamidgeh, 1977, 29: 57-70.

- RAPPAPORT, U. AND SARIG, S. The results of manuring on intensive growth fish farming at the Ginosar Station ponds in 1977. Bamidgeh, 1978, 30: 27-36.

- SCHROEDER, G.L. Use of fluid cowshed manure in fish ponds. Bamidgeh, 1974, 26: 84-96.



- SCHROEDER, G.L. Nighttime material balance for oxygen in fish ponds receiving organic wastes. *Bamidgeh*, 1975a, 27: 65-74.
- SCHROEDER, G.L. Some effects of stocking fish in waste treatment ponds. *Water Res.*, 1975b, 9: 591-593.
- SENT-YLER, K. "Observaciones sobre la fauna de los suelos de los alrededores de la ciudad de Voronezh", *Trudy Voronezhkogo gos. un-ta*, 1938, vol. 10.
- STEIN R.J. Handbook of phycological methods culture methods and growth measurements. Cambridge at the University Press., 1973.
- STICKNEY, R.R., ROWLAND, L.O. AND HESBY, J.H. Water quality - *Tilapia aurea* interactions in ponds receiving swine and poultry wastes. *Proc. World Maricult. Soc.*, Md., 1977. pp. 90-101.
- STICKNEY, R.R. AND HESBY, J.H. *Tilapia* production in ponds receiving swine wastes. In: R.O. Smitherman, W.L. Shelton and J.H. Grover (Editors), *Culture of Exotic Fishes*, Symp. Proc. Fish Culture Station, American Fisheries Society, Bethesda, Md., 1978, pp. 90-101.
- STICKNEY, R.R., HESBY J.H., MCGEACHIN, R.B. AND ISBELL W.A. Growth of *tilapia nilotica* in ponds with differing histories of organic fertilization. Department of wild-

life and fisheries sciences, Texas A&M University, College Station, Texas 77843 (USA), 1979.

- TAYLOR, F.J.R. Problems in the development of an explicit hypothetical phylogeny of the lower eukaryotes. Biosystems. London, 1978.
- TEUSCHER Y ADLER. El suelo y su fertilidad. Cia. Editorial Continental, S.A. de C.V. Mexico, 1985.
- TRIVINO A., ARELLANO E. Uso de lonzin en cultivos de algas en el Laboratorio de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Tecnológica vol. 7 N°3. Centro de investigación científica y tecnológica. Guayaquil-Ecuador, 1987.
- ZRAZHEVSKIY, A.I. "Lombrices de tierra como factor de fertilidad de los suelos forestales, Kiev. Izdvo AN Ucrain. SSSR, 1957.



ESTADO
FEB. 1987
MADRID