

Tecnologías de Cultivo de Microalgas con Fines Acuiculturales

Microalgae culture technology for aquaculture

José Luis Arredondo-Figueroa* y Graciela De Lara-Isassi*

RESUMEN

La producción mundial de acuicultura alcanzó en 1993 una cifra sin precedentes de 15 millones de toneladas métricas de peces, moluscos y crustáceos, y se espera que ésta aumente significativamente en los próximos años. Debido a esta situación, la demanda de microalgas para abastecer las necesidades de los productores que las utilizan en todo o parte del ciclo de vida de los organismos bajo cultivo, ya sea en forma directa o indirecta, también cada día es mayor. Por esta razón se hace indispensable contar con mejores tecnologías para la producción masiva. En este trabajo se describe el uso de las microalgas como fuente de alimento para la acuicultura. Un total de 14 géneros de seis distintas familias, han sido utilizadas a nivel mundial como alimento directo e indirecto en la acuicultura comercial. El cultivo generalmente se realiza bajo tres sistemas; a) tipo "tina", b) semi-continuos y c) continuos. Por otra parte se indica la importancia del manejo de la cadena autotrófica por medio de fertilizantes, en cultivos semi-intensivos, que estimulan el crecimiento de la biomasa fitoplanctónica.

Palabras clave: Microalgas; Cultivo; Acuicultura.

ABSTRACT

In 1993 the world aquaculture production reached around 15 millions of metric tons of fishes, mollusks and crustacean, and it is possible in the next years to increase remarkably this value. Every day the requirement of microalgae as live food growth and it is necessary to improve massive production technologies. The use of microalgae as food source for aquaculture, are described in this paper. Fourteen genera of six different families have been used in commercial aquaculture, as direct and indirect food in all over the world. Microalgae culture is mainly realized in three systems: a) batch, b) semi-continuos and c) continuos. On the other hand, the importance of the autotrophic chain management induced by fertilizers in semi-intensive cultures is described, which promote the growth of the phytoplankton biomass.

Key words: Microalgae; Culture; Aquaculture.

Introducción

Las microalgas constituyen una biomasa importante para generar una amplia variedad de productos de importancia comercial. Actualmente están siendo utilizadas en la producción intensiva o semi-intensiva de moluscos, peces y crustáceos, debido a su elevado valor nutricional o como suministro de minerales al

ser incluidas en dietas comerciales; en la bioconversión de energía solar; como fuente de glicerol, carotenoides y harinas para la obtención de productos farmacéuticos y como fuente de proteína unicelular (Fábregas y Herrero, 1985 y 1990).

La acuicultura y principalmente la maricultura intensiva, dependen en la actualidad de la producción de las microalgas como alimento vivo para el cultivo de especies animales acuáticas de importancia económica. Ciertas granjas operan y manejan unidades de cultivo para producir suficientes cantidades de algunas especies como *Isochrysis*, *Chlorella*,

* Departamento de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Apartado Postal 55 535 México D.F. 09340.

Nannochloropsis, *Phaeodactylum*, *Nanochrysis*, *Skeletonema*, *Navicula*, *Tetraselmis*. Específicamente las microalgas constituyen parte importante de la dieta de algunos moluscos bivalvos marinos como son los ostiones u ostras (*Crassostrea* y *Ostrea*); almejas (*Argopecten spp.*); mejillones (*Mytilus spp.*); larvas de camarones peneidos (*Penaeus spp.*) y el zooplancton (rotíferos, copépodos, cladóceros y anostracos). También, son utilizadas para el cultivo larvario del langostino (*Macrobrachium spp.*), alevines y crías de algunos peces marinos y de agua dulce como el rodaballo, la dorada, la lubina, el robalo rayado, la corvina y otras especies que se cultivan en países como España, Francia, Italia, Grecia y los EUA. La tilapia y carpa que se producen en la República Popular China, en otras partes de Asia, en África y en América incluyendo México (Richmond, 1990).

La acuicultura ha tenido en los últimos años un fuerte desarrollo, así por ejemplo la FAO (1995), señala que en 1993 la producción mundial de peces cultivados alcanzó más de 11 millones de toneladas métricas (con un valor aproximado de 19,000 millones de dólares); la de moluscos más de cuatro millones (con un valor aproximado de 4,500 millones de dólares) y la de crustáceos cerca de un millón (con un valor aproximado de 6,000 millones de dólares) y cada año se produce más. Para mantener estos niveles de producción se requiere de una mayor cantidad de microalgas para satisfacer las necesidades de los productores.

Hasta el momento no ha sido posible substituir a las microalgas por otro tipo de alimento que se adapte a las necesidades de cultivo de las especies antes mencionadas y que presente ventajas económicas comparativas, debido principalmente a la facilidad de su manejo, lo que permite la producción a gran escala de alimento vivo para consumo directo o bien para sustentar el cultivo de distintas especies del zooplancton y enriquecer con esto la dieta de las especies cultivadas en sus distintas fases de su ciclo biológico.

Por otra parte en la acuicultura semi-intensiva manejada en estanques rústicos o semirústicos, el crecimiento de las microalgas se estimula a través de la fertilización orgánica o química, con el objeto de elevar la productividad primaria que forma la base de la cadena autotrófica que permite el establecimiento de los diferentes niveles tróficos, propiciando con ello el crecimiento de una amplia gama de organismos

que son consumidos por las especies cultivadas. En consecuencia la cadena trófica se aprovecha integralmente (Arredondo, 1993). Aunque todavía en estos sistemas es difícil controlar el crecimiento del fitoplancton e inducir el desarrollo de ciertas especies. Estudios tendientes a lograr estos objetivos pueden abrir nuevas expectativas y tecnologías que permitan aumentar la producción acuícola disminuyendo los costos de producción y haciendo un aprovechamiento integral, multiespecífico y multitrófico del cultivo.

En el presente trabajo se describe el manejo de las microalgas en la acuicultura, considerando algunas tecnologías utilizadas para su producción.

Uso de las microalgas como alimento en la acuicultura.

Las microalgas constituyen una fuente de bajo costo para la producción de proteínas para el consumo animal o humano.

Los contenidos de proteínas de las microalgas son variables y dependen básicamente del medio de cultivo utilizado, Herrero y col. (1991), compararon un medio nutritivo comercial conocido como Algal-1 con otros medios tradicionales en la producción de cuatro especies de microalgas (*Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta*, *Isochrysis galbana* y *Phaedactylum tricornutum* var. *bicornutum*). Los valores obtenidos de proteínas fueron de 2 a 5 veces superiores, lípidos y carbohidratos de 0.4 a 1 vez más altos.

A pesar de sus cualidades nutricionales es necesario considerar en el cultivo otros aspectos básicos que aseguren su calidad, ya que algunos estudios han demostrado que existen diferencias en el contenido nutricional entre las especies. Se recomienda utilizar mezclas, asegurando con ello que se cubran requerimientos dietéticos específicos. Se ha observado además que existe una variabilidad bioquímica en función de la concentración de nutrientes utilizados para su cultivo, lo que afecta su valor nutricional.

Un total de 14 géneros con varias especies de seis distintas familias se utilizan a nivel mundial como alimento directo o indirecto en la acuicultura comercial (Tabla 1). Las líneas puras de estas especies se mantienen en ceparios en varias instituciones de investigación en el mundo, principalmente en Gran Bretaña, EUA y Japón, en donde es posible adquirirlas (Laing y Ayala, 1990; Fulks y Maine, 1991).

Tabla 1. Principales especies de microalgas que se utilizan en la acuicultura (modificada de Laing y Ayala, 1990).

Familia	Género	Especie	Medio	Cultivo
Bacillariophyceae	<i>Chaetoceros</i>	<i>calcitrans</i>	marino	Moluscos
	<i>C.</i>	<i>simplex</i>	marino	Moluscos
	<i>C.</i>	<i>gracilis</i>	marino	Moluscos
	<i>Nitzschia</i>	<i>closterium</i>	marino	Moluscos
	<i>Phaeodactylum</i>	<i>tricornutum</i>	marino	Moluscos
	<i>Skeletonema</i>	<i>costatum</i>	marino	Crustáceos
	<i>S.</i>	<i>menzelii</i>	marino	Crustáceos
	<i>Thalassiosira</i>	<i>pseudonana</i>	marino	Moluscos
Chlorophyceae	<i>Chlamydomonas</i>	varias	marino	Peces
			agua dulce	
			marino	
	<i>Dunaliella</i>	varias	marino	Peces
	<i>Chlorella</i>	varias	agua dulce	Moluscos
	<i>Nannochloris</i>	<i>occulata</i>	marino	Peces
			marino	
	<i>N.</i>	<i>atomus</i>		Peces
	<i>Scenedesmus</i>	varias		?
	Cryophyceae	<i>Chroomonas</i>	<i>salina</i>	marino
<i>Rhodomonas</i>		sp.	marino	?
Cyanophyceae	<i>Spirulina</i>	varias	salobre	Peces
Prasinophyceae	<i>Tetraselmis</i>	varias	marino	Peces
	<i>Platymonas</i>	varias	marino	?
	<i>Pyramimonas</i>	<i>virginica</i>	marino	?
Prymnesiophyceae	<i>Isochrysis</i>	<i>galbana</i>	marino	Moluscos
	<i>Monochrysis</i>	<i>lutheri</i>	marino	Moluscos
	<i>Pseudoisochrysis</i>	<i>paradoxa</i>	marino	Moluscos

Moluscos = se utilizan en el cultivo de ciclo completo; Peces = sólo en larvas y juveniles; Crustáceos** = sólo en estadios larvarios; ? = se desconoce su uso en acuicultura.

En los países donde se lleva a cabo el cultivo intensivo de organismos acuáticos de importancia comercial, los laboratorios de producción de ainomorfos (larvas y juveniles), disponen de instalaciones especiales para el cultivo de microalgas (Steward, 1974; Fabregas y col., 1989).

En la tabla 2, se resumen los diferentes sistemas de cultivos que se aplican a nivel mundial, indicando sus ventajas y desventajas comparativas, para cada tipo de cultivo (Fulks y Main, 1991). Exclusivamente se presentan los más utilizados en la acuicultura, que se pueden dividir en tres sistemas principales: a) cultivos en tina, b) cultivos semi-continuos y c) cultivos continuos (Laing y Ayala, *op. cit.*).

En el caso de los cultivos tipo tina, se obtiene una sola cosecha lo que facilita y simplifica razonablemente su manejo, aunque se requiere de mayor mano de obra, dependiendo de la cantidad que se quiera producir. La mayoría de los laboratorios productores de ainomorfos utilizan este sistema. El proceso es simple y consiste en inocular botellas de vidrio de 2 litros, pasar a botellas de 18 litros y finalmente a tanques

rectangulares de 600 litros de fibra de vidrio cubiertos con pintura epóxica, dejando un intervalos de tres a cuatro días entre cada etapa (Simon, 1978).

En los cultivos semi-continuos una parte del volumen producido es cosechado y la cantidad retirada se reemplaza con medio nutritivo. Este sistema requiere menos mano de obra y relativamente poco espacio y facilidades. El cultivo en interiores puede ser cuidadosamente controlado y obtener una producción constante durante varias semanas (Davis y Ukeles, 1961). Con una buena luminosidad es posible cosechar hasta el 90% del volumen en tinas de fibra de vidrio de 200 litros tres veces a la semana y aunque menos eficientes, también se pueden obtener buenas producciones utilizando bolsas de plástico de 60 litros o más de capacidad (Laing y Hepper, 1983).

En el cultivo continuo se aplica gradualmente medio de cultivo en la misma cantidad en que se cosecha. Su principal ventaja es que permite mantener una condición estática óptima del cultivo con un elevado control sobre la producción de las microalgas. Estos sistemas pueden operar como un quimiostato donde

Tabla 2. Diferentes sistemas de cultivos utilizados a nivel mundial (de acuerdo con Fulks y Main, 1991).

Tipos de cultivo	Ventajas	Desventajas
Interiores	Fáciles de controlar	Costo elevado
Exteriores	Más baratos	Difíciles de controlar
Cerrados	Fáciles de controlar	Costo elevado
Abiertos	Más baratos	Difíciles de controlar.
Axénicos	Difíciles de mantener	Costo elevado
No-axénicos	Más baratos y fáciles de manejar	Riesgosos.
Tipo tina	Fáciles de manejar	Requieren más mano de obra.
Semi-continuos	Fáciles de manejar y eficientes.	Costo más elevado.
Continuos	Eficientes, productivos y automáticos.	Costo más elevado.

el medio se aplica a una tasa determinada, o como un turbidostato donde la concentración del número de células en el cultivo es monitoreado constantemente y mantiene un nivel predeterminado por la cantidad de medio aplicado a una tasa equivalente a la división celular. Estos sistemas pueden ser operados tanto en el interior como en el exterior (Laing y Ayala, 1990).

En los Estados Unidos de Norteamérica se han ensayado tres sistemas novedosos, como los fermentadores desarrollados por Ray Glaude de la Compañía MARKET; el sistema computarizado continuo de 600 litros creado por Kelly Rush de la Universidad Estatal de Louisiana y el de la Compañía Coast Oyster que cultivan en 20 tanques de 20,000 litros el clon 3H de *Thalassiosira pseudonana*, además de un sistema de 10 tinas de fibra de vidrio de 1,000 litros cada uno, que se maneja en Tailandia (Fulks y Main, 1991).

La acuicultura comercial en general realiza la producción en tinas de fibra de vidrio o policarbonato, bolsas de plástico o polietileno, estanques de concreto, cilindros cónicos y fermentadores. En el caso de los tanques, sus volúmenes fluctúan entre 100 y 25,000 litros y son colocados tanto en el interior como en el exterior de las instalaciones (Fig. 1) las bolsas de plástico tienen una capacidad variable 20 a 2,800 litros y generalmente están ubicados en el interior (Fig. 2); los estanques de concreto tienen una capacidad que va de 10,000 a 200,000 litros, estos últimos son utilizados en el Japón para el cultivo a gran escala de *Chlorella sp.*, todos ellos en el exterior (Fig. 3); los cilindros de fibra de vidrio son de aproximadamente 160 litros, aunque en México hay hasta de 2,000 litros colocados en instalaciones especiales en el interior (Fig. 4) y el fermentador que es un

sistema industrial de producción masiva de bacterias que se ha adaptado al cultivo de microalgas y que se encuentran en experimentación (Fig. 5), (Tabla 3).

Manejo de la cadena autotrófica a partir de fertilizantes.

La fertilización de los estanques de cultivo, tiene como finalidad promover la productividad primaria, a través del aporte de los nutrimentos esenciales que permitan satisfacer los requerimientos de las microalgas y propiciar el establecimiento de los niveles tróficos subsecuentes de la cadena alimentaria. En esta forma los organismos en cultivo pueden tener fuentes alternativas de alimento.

Existen evidencias de que los fertilizantes químicos inciden directamente sobre la cadena de pastoreo o autotrófica, estableciendo una relación de productores, consumidores primarios, consumidores secundarios y carnívoros y los abonos orgánicos afectan la cadena de detritos, con una relación de productores, consumidores o biodegradadores, consumidores secundarios o detritófagos y carnívoros (Eltingham, 1971).

En experiencias realizadas con el cultivo de peces, se ha observado que el fertilizante orgánico estimula la productividad primaria la cual alcanza un máximo de 10 gC/m²/día y el consumo directo del plancton puede permitir hasta un rendimiento máximo de 32 kg/ha/día (Wohlfarth y Schroeder, 1979).

La cantidad y calidad de los fertilizantes orgánicos y químicos tiene efectos directos o indirectos sobre los estanques de cultivo, que pueden resumirse de la manera siguiente:

Figura 1.

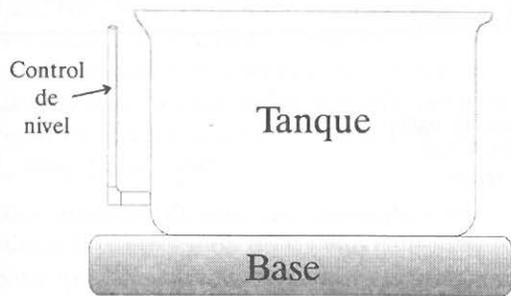


Figura 2.

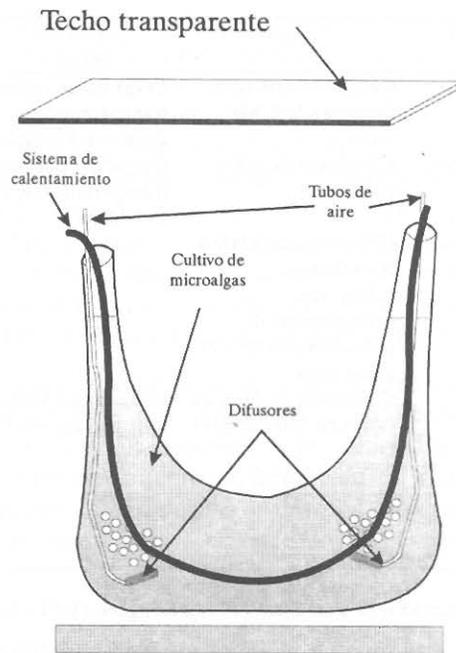


Figura 3.

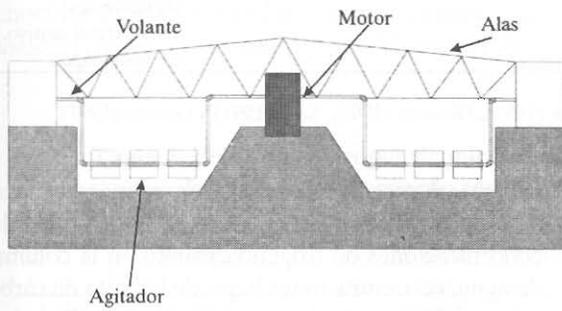


Figura 4.

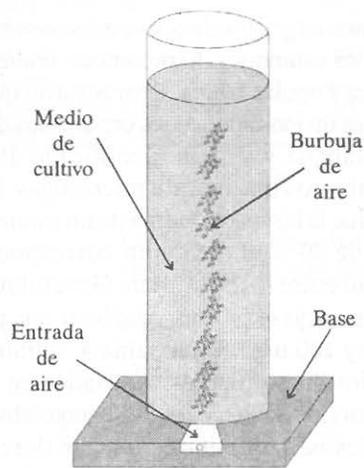


Figura 5.

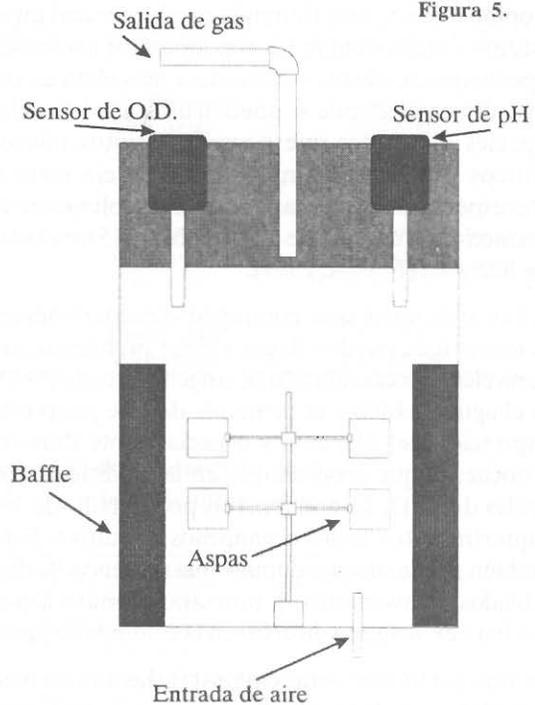


Figura 1. Tinas de fibra de vidrio para el cultivo masivo de microalgas. Figura 2. Sistema de producción masiva de microalgas en bolsas de plástico. Figura 3. Estanques de concreto utilizados en Japón para el cultivo masivo de *Chlorella sp.* Figura 4. Modelo de cilindro de fibra de vidrio para la producción masiva de microalgas. Figura 5. Fermentador adaptado para el cultivo de microalgas.

Tabla 3. Sistemas de cultivo comercial de microalgas utilizados en diferentes países del mundo.

País	Tanques	Bolsas de plástico	Estanques de concreto	Cilindros	Fermentadores
China	Cilíndricos con fibra de vidrio de 8,500 litros.	Colgadas en techos transparentes de 2,800 a 4,000 litros.			
Tailandia	Cilíndricos de 500 a 1,000 litros.	Colgadas en techos transparentes de 20 a 60 litros.	Estanques de 10,000 litros con techos transparentes.		
EUA	Cilíndricos de 3,000 a 20,000 litros.				
Japón	Cilíndricos transparentes de policarbonato de 100 a 300 litros		Estanques de concreto de 10,000 a 200,000 litros en exteriores.		
Hawaii	Cilíndricos de fibra de vidrio de 500 a 25,000 litros.	Colgadas en techos transparentes de 60 litros.		De fibra de vidrio de 160 litros	
EUA					Sistema industrial de bacterias adaptado al cultivo de microalgas.

Datos tomados de Fen-Chen (1991); Kongkeo (1991); Donaldson (1991); Okauchi (1991); Sato (1991) y Glaude (1991).

a) Estimulan el crecimiento de la biomasa fitoplanctónica, mantienen la productividad en el sistema e incrementan los rendimientos acuícolas, aspecto que se observa de manera mas clara en los policultivos, en donde se pueden utilizar hasta ocho especies diferentes que ocupan distintos niveles tróficos y que reducen su competencia intra e interespecífica, aumentando considerablemente la producción, la cual puede alcanzar hasta 15 toneladas por hectárea (NACA, 1989).

b) Los estanques que contienen elevada biomasa de microalgas, pueden llegar a tener problemas con los niveles de concentración de oxígeno disuelto (O.D) en el agua, debido a la demanda de este gas por la respiración del plancton y especialmente durante la noche, lo que propicia que en la madrugada los niveles de O.D. se encuentren por debajo de los requerimientos de los organismos en cultivo. Esto también puede suceder durante una secuencia de días nublados, provocando la mortandad masiva por una baja de oxígeno disuelto en la columna de agua.

Por otra parte, bajo otras circunstancias aún no bien entendidas puede suceder lo que se conoce como el "die-off", que consiste en una mortandad masiva de todas o una gran proporción de las microalgas, seguida por una rápida descomposición. Las causas de esto no han sido determinadas en forma exacta, sin embargo, estos eventos se han reportado cuando se forman

manchas densas de cianofitas y generalmente ocurren cuando hay una fuerte radiación solar, elevadas concentraciones de oxígeno disuelto en la columna de agua, concentraciones bajas de bióxido de carbono y un pH elevado. Estas mismas condiciones, han sido experimentadas en el laboratorio con cultivos de cianofitas (Abeliovich y Shilo, 1972; Abeliovich y col., 1974; Boyd, 1975, 1978 y 1990).

c) Las microalgas producen cambios en el color del agua de los estanques. Experiencias realizadas en la República Popular China, demostraron que el color del agua es un indicador de los organismos dominantes en el estanque y se han identificado 10 tipos de florecimientos masivos de microalgas. Los datos indican que la biomasa óptima de un estanque fertilizado va de 20 a 50 mg/l, que corresponde a una turbiedad entre los 30 y 40 cm. Generalmente, para un buen manejo se procura establecer una producción entre 20 y 100 mg/l. En la tabla 4, se muestran los principales florecimientos detectados en estanques fertilizados (He-Zhuhuei, 1985). Algunas observaciones personales han permitido detectar florecimientos similares en estanques de nuestro país, como por ejemplo en el mes de junio de 1991 en el estado de Tabasco, se observó un florecimiento masivo de *Euglena sanguinea*, en estanques donde se cultiva tilapia, con una coloración rojiza, debido a una gran cantidad de esporas (Arredondo, 1993).

d) La abundancia de algunas cianofitas en los estanques puede producir sabor a humedad en la carne. Este mal sabor es causado por la absorción de compuestos como el Geosmin (trans-1,10-dimetil-trans-9-decalol) y el MIB (2-metilisoborneol), que son sintetizados por algunas cianofitas como *Oscillatoria tenuis* y excretados al medio ambiente (Persson, 1979; Yurkowski y Tabachek, 1980; Lovell *et al.*, 1986; Boyd, 1990).

e) Los contenidos de carbono, nitrógeno y fósforo delimitan la composición de las microalgas, de tal manera que algunos fertilizantes favorecen el crecimiento de algunos grupos. En la tabla 5 se presentan las relaciones de estos compuestos que propician la dominancia de diatomeas, dinoflagelados y fitoplancton en general. En los estanques se propicia el desarrollo de algas bentónicas conocidas como el "lab-lab", para el cultivo del sabalote *Chanos chanos* en Filipinas (Yamada, 1986).

Perspectivas del cultivo de microalgas

El cultivo de microalgas para apoyo de la acuicultura es una realidad en nuestro país, principalmente asociado al cultivo de moluscos y de crustáceos y continuará impulsándose en la medida en que esta actividad económica se desarrolle en los próximos años. Los distintos usos y alternativas de producción de alimento vivo para aumentar la oferta acuícola de moluscos, crustáceos y peces, con calidad de exportación son en efecto uno de los puntos importantes a consolidar en una empresa que quiera lograr la competitividad ante un mercado globalizado.

Los países industrializados están realizando esfuerzos importantes para promover el cultivo de las microalgas y ya disponen de tecnologías avanzadas en la industria acuícola, farmacéutica, alimentaria y tratamientos de aguas de desecho. A pesar de que en nuestro país ya se cuentan con las primeras

Tabla 4. Principales grupos de microalgas que producen florecimientos en estanques fertilizados (de acuerdo con He-Zhihui, 1985 fide Arredondo, 1993).

Especies	Biomasa mg/l	Disco de Secchi en cm.	Color	Epoca del año.
1. <i>Anabaena spiroides</i> .	200-300	20-25	Verde jade oscuro.	Verano
2. <i>Cryptomonas sp.</i>	100	25-35	Café rojizo.	Todo el año
3. <i>Gonyostomum depressum</i> .	100	25-35	Café azulado.	Verano
4. <i>Ceratium hirundinella</i> .	100	25-35	Amarillo café.	Verano
5. <i>Gymnodinium cyaneum</i> .	100	25-35	Azul verde o gris acero.	Verano y otoño
6. <i>Euglena sanguinea</i> .	100-200	25-35	Verde café.	Todo el año
7. <i>Eudorina sp.</i>	100	25-35	Verde pasto.	Todo el año
8. <i>Cyclotella sp.</i> , <i>Navicula sp.</i> y <i>Nitzschia sp.</i>	100	25-35	Café oscuro.	Primavera y otoño
9. <i>Ochromonas sp.</i> y <i>Chromulina sp.</i>	100	25-35	Dorado café.	Todo el año
10. <i>Pediastrum sp.</i> y <i>Coelastrum sp.</i>	100	25-35	Verde pasto.	Todo el año

Tabla 5. Relación de carbono, nitrógeno y fósforo adecuada para el crecimiento de algunas microalgas, de acuerdo a distintos autores.

Grupo	C:N:P:K	Relación/Autor
1. Diatomeas	20-30:1	N:P ASEAN (1978).
	10-20:1	N:P Clifford (1985).
2. Fitoflagelados.	1:1	N:P ASEAN (1978).
3. Fitoplancton en general.	4:4:1	N:P:K Hora y Pillay (1962).
	4:1	N:P Swingle y Smith (1939).
	42:75:1	C:N:P Hephher y Pruginin (1981)
	50:10:1	C:N:P Edwards (1982).

experiencias, aún queda mucho por hacer, sobre todo en lo que se refiere al establecimiento de los cultivos a gran escala. Esto puede lograrse mediante el desarrollo de sistemas con una tecnología eficiente y de bajo costo, que permita obtener una buena cantidad y calidad adecuada para cubrir los requerimientos de los productores.

Literatura citada

- Abeliovich, A. and M. Shilo., 1972.** Photo-oxidative death in blue-green Algae. *J. Bacteriol.*, 11:682-689.
- Abeliovich, A., D. Kellenberg and M. Shilo., 1974.** Effects of photo-oxidative conditions of levels of superoxide dimutase in *Anacystis nidulans*. *Photochem. Photobiol.*, 19:379-382.
- Arredondo, F.J.L., 1993.** *Fertilización y fertilizantes; su uso y manejo en la acuicultura.* Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. México. 202 p.
- ASEAN., 1978.** *Manual of pond culture of penaeid shrimp.* A project of the ASEAN (Association of Southeast Asian Nations), with the assistance of the FAO/UNDP South China Sea Fisheries Development and Coordinating Programme. Manila, Philippines.
- Boyd, C.E., 1975.** Competition for light by aquatic plants in fish ponds. *Ala. Agr. Exp. Sta. Auburn Univ. Alabama. Cir 215:* 1-19.
- Boyd, C. E., 1978.** Effluents from catfish ponds during fish harvest. *J. Environ. Qual.*, 7:59-62.
- Boyd, C.E., 1990.** Water quality in ponds for aquaculture. *Ala. Agr. Exp. Sta., Auburn Univ. Alabama,* 482 p.
- Clifford, H. C., 1985.** Semi-intensive shrimp farming. p 4-15. In: G. C. Chamberlain, M. G. Haby y R. J. Miget, (Eds.). *Texas shrimp farming manual.* (Texas Agriculture Extension Service Publication of Invited Papers presented at the Texas Shrimp Farming Workshop, Texas, USA,).
- Davis, H. C. and R. Ukeles, 1961.** Mass culture of phytoplankton as food for metazoans. *Science*, 134: 562-564.
- Donaldson, J., 1991.** Commercial production of microalgae at Coast Oyster Company. p 229-236. In: W. Fulks and L. K. Main, (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems.* Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii.
- Edwards, P., 1982.** *Report of consultancy at the Regional Lead Center in China for Integrated Fish Farming.* NACA, FAO Field Document No. NACA/WP/82/6, Bangkok, Thailand. 104 p.
- Eltingham, S. K., 1971.** *Life in mud and sand.* English University Press, Ltd., London, 218 p.
- Fábregas, J., J. Abalde, B. Cabezas and C. Herrero., 1989.** Changes in protein, carbohydrates and gross energy in the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) by nitrogen concentrations as nitrate, nitrite and urea. *Aquacultural Engineering*, 8: 223-239.
- Fábregas, J. and C. Herrero., 1985.** Marine microalgae as a potential source of single cell protein (SCP). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 23: 110-113.
- Fábregas, J. and C. Herrero, 1990.,** Vitamin content of four marine microalgae. Potential use as source of vitamins in nutrition. *Journal of Industrial Microbiology*, 5: 259-264.
- FAO., 1995.** Aquaculture production statistics, 1984-1993. *FAO Fisheries Circular Núm. 815, Rev. 7.* Rome. 186 p.
- Fen-Chen, J., 1991.** Commercial production of microalgae and rotifers in China. In: W. Fulks y L. K. Main (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems.* Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii, pp 105-112.
- Fulks, W. and L. K. Main., 1991.** *Rotifer and microalgae culture systems.* Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii.
- Glaude, R., 1991.** Heterotrophic microalgae production: potential for application to aquaculture feeds. In: W. Fulks y L. K. Main (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems,* Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii pp 275-286.
- Hepher, B. and Y. Pruginin., 1981.** *Commercial fish farming.* John Wiley and Sons Pub. Inc., New York. 261 p.
- Herrero, C., A. Cid, J. Fábregas and J. Abalde., 1991.** Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media. *Aquacultural Engineering*, 10: 99-110.

- He-Zhihui., 1985.** On bio-indicators of water quality for fish culture from the Chinese fish farmer experience of 'looking upon the water'. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 9(1): 36-49.
- Hora, S. L. and T.V.R. Pillay., 1962.** Handbook of fish culture in the Indo-Pacific Region. FAO Fish. Biol. Tech. Pap. 14: 205.
- Kongkeo, H., 1991.** An overview of live feeds production systems design in Thailand. p 175-186. In: W. Fulks y L. K. Main (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems*. Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii.
- Laing, I. and F. Ayala., 1990.** Commercial mass culture techniques for producing microalgae. In: I. Akatsuka (Ed.). *Introduction to Applied Phycology*. SPB Academic Publishing Bv, The Netherlands, pp 447-477.
- Laing, I. and B. T. Hepper., 1983.,** A simple method for the production of marine algae in polyethylene bags. Fish. Not. MAFF Dir. Fish. Res. Lowestoft, 73: 1-12.
- Lovell, R. T., Y. I. Lelana, C. E. Boyd and M. S. Armstrong., 1986.** Geosmin and musty-muddy flavors in pond raised channel catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 115: 485-489.
- NACA., 1989.** *Integrated fish farming in China*. NACA Technical Manual 7. A World Day Publication of the Network of Aquaculture Centres in Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand, 278 p.
- Okauchi, M., 1991.** The status of phytoplankton production as food organism in Japan, p 247-256. In: W. Fulks y L. K. Main (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems*. Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii.
- Persson, P.E., 1979.** The source of muddy-odor in Bream (*Abramis brama*) from the Parvoo sea area (Golf of Finland). *J. Fish. Res. Bd. of Canada*, 36: 883-890.
- Richmond, A., 1990.** Large scale microalgal culture and applications. In: Round y Chapman (Eds.). *Progress in Phycological Research*. Vol. 7, Biopress Ltd. pp 1-62.
- Sato, V., 1991.** Development of phytoplankton production systems as a support base for finfish larval rearing research. In: W. Fulks y L. K. Main (Eds.). *Rotifer and microalgae culture systems*. Proceeding of the USA-Asia Workshop. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii, pp 257-274.
- Simon, C. M., 1978.** The culture of the diatom *Chaetoceros gracilis* and its use as a food for penaeid protozoal larvae. *Aquaculture*, 14: 105-113.
- Steward, W.D.P., 1974.** Algal physiology and biochemistry. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K. 989 p.
- Swingle, H. S. y E. U. Smith., 1939.** Fish production in terrace water ponds in Alabama. *Trans. Am. Fish. Society*, 68: 125-134.
- Wohlfarth, G. W. y G. L. Schroeder., 1979.** Use of manure in fish farming-a review. *Agric. wastes*, 1: 279-299.
- Yamada, R., 1986.** Pond production system: fertilization practices in warmwater fish pond. In: J. E. Lannan, R. O. Smitherman y G. Tchobanoglous (Eds.). *Principles and practices of pond aquaculture*. Oregon State Univ. Press. Corvallis, pp 97-110.
- Yurkowski, M. y J. L. Tabachek., 1980.** Geosmin and 2-Methylisoborneol implicated as a cause of muddy flavor in fish from Cedar lake, Manitoba. *Canadian J. Fish and Aquatic Sci.*, 37: 1450-1499.