

**Evaluación de la concentración y daño físico a  
*Chaetoceros gracilis* en la centrifugación**

**Enrique Arturo Oyuela Maradiaga**

**ZAMORANO**

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Noviembre, 2005

# **Evaluación de la concentración y daño físico a *Chaetoceros gracilis* en la centrifugación**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado  
Académico de Licenciatura

Presentado por:

**Enrique Arturo Oyuela Maradiaga**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2005

El autor concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor

---

Enrique Arturo Oyuela Maradiaga

Zamorano, Honduras  
Noviembre, 2005

**Evaluación de la concentración y daño físico a *Chaetoceros gracilis*  
en la centrifugación**

Presentado por:

Enrique Arturo Oyuela Maradiaga

Aprobada por:

---

Daniel Meyer, Ph. D.  
Asesor Principal

---

Abelino Pitty, Ph. D.  
Director Interino de la Carrera de  
Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Carla Garcés, M. Sc.  
Asesor

---

George Pilz, Ph. D.  
Decano Académico

---

John Jairo Hincapié, Ph D.  
Coordinador de Área Temática  
Zootecnia

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## **DEDICATORIA**

A Dios todopoderoso.

Al Grupo Granjas Marinas.

A mis padres Orfilio Oyuela y Lucía Maradiaga.

A mi hermana Andrea, su esposo Jorge y mi sobrina María Lucía.

A mis abuelos Javier Maradiaga y Luz Idalia Calderón.

A mis tíos (as) y primos de la familia Maradiaga-Calderón.

A mi abuela Isabel Morales.

A mis tíos (as) y primos de la familia Oyuela-Morales.

Al Dr. Daniel Meyer y el Ing. Franklin Martínez.

A mis amigos tanto dentro como fuera de Zamorano.

A toda la Clase Némesis '05.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso por cumplirme mi anhelado sueño de estudiar en esta prestigiosa escuela, por la fuerza que me dio en cada paso durante mi estadía en ella, por siempre estar presente cuando mas lo necesitaba y por la sabiduría brindada a lo largo de estos cuatro años.

Al Grupo Granjas Marinas por confiar en mi y darme la oportunidad de realizar mis estudios universitarios en esta prestigiosa escuela.

A mis padres Orfilio y Lucía por el apoyo incondicional que siempre me han dado, por el amor que siempre me han manifestado, por todos los consejos sabios que de ellos recibí y por la formación y ejemplo brindado.

A mi hermana Andrea, su esposo Jorge y mi sobrina Maria Lucía por todo el apoyo, amor, consejos y demás muestras de cariño que siempre han tenido hacia mi persona.

A mis Abuelos Javier y Luz Idalia por los sabios consejos que ellos me han brindado, por el amor que siempre me han manifestado y por la ayuda brindada en mi formación tanto personal como académica.

A mi tía Indira Maradiaga y su hija Larissa, mi tía Marirrosal Maradiaga, su esposo Mauricio García y sus hijos Karen, Nicolás, Mauricio André, Gracia Isabel y Rut por el amor, apoyo y consejos que siempre me brindaron.

A mi tío Javier Maradiaga por ser él mi ejemplo a seguir, por todas las manifestaciones de amor y consejos brindados a lo largo de mi vida, así como también a su esposa e hijos.

A mi abuela Isabel Morales por las muestras de amor y consejos brindados a lo largo de mi vida.

A mis tíos de la familia Oyuela-Morales Nora, Noé, Adán, Eva, Alejandrina, Alejandro, Luis Felipe y Rito por todo el apoyo, por todo el amor y por cada uno de los consejos brindados.

A mis primos de la familia Oyuela-Morales, en especial a José Adolfo, Alejandro José, Alejandra María, Marisel, Emilio, Noé Antonio, Alejandra Isabel, Maynor Antonio, Maynor, José Antonio y Persy, por todo el apoyo y gratos momentos que me han disfrutar.

Al Dr. Daniel Meyer y al Ing. Franklin Martínez por la confianza, apoyo y consejos brindados, tanto en el aprender haciendo como en la elaboración de este estudio.

Al personal de Granjas Marinas Larvicultura, en especial al Ing. Toyofuko, Guillermo Espinoza, Larissa Andino, Ana Sánchez, Elba Galeas, Gissela Velásquez y demás personas del departamento de algas, que me brindaron su confianza y apoyo en cada momento de la toma de datos y elaboración de este documento.

Al Ing. Héctor Luis Corrales por la confianza y apoyo brindado a lo largo de mi vida.

Al Ing. Rafael Zelaya y familia por la confianza, apoyo y consejos brindados en cada momento.

A Leyla Larios por el amor, apoyo y consejos brindados, por estar ahí en los momentos que la necesitaba.

A mis colegas y amigos de Zamorano, en especial a Oscar Sosa, Wilfredo Zamora, Fernando Córdova, José Sierra, Eduardo Zavala, Marlon Méndez, Rolando Pineda, Sairy Alvarado, Alejandra Cáliz, Marvin Moncada, Javier Carranza, Víctor Reyes, Odelys Milla, Ana Andino, Ana Padilla y José Tahuico, por el apoyo que siempre me han brindado, por colaborar en mi formación y por la amistad incondicional que me ofrecieron.

## RESUMEN

Oyuela, E. 2005. Evaluación de la concentración y daño físico a *Chaetoceros gracilis* en la centrifugación. Proyecto especial de Ingeniero Agrónomo en Ciencia y Producción Agropecuaria, Zamorano, Honduras.

En los laboratorios especializados las larvas de camarón de mar se alimentan con microalgas producidas en cultivos. En Granjas Marinas Larvicultura (GML), un laboratorio comercial para la producción de larvas del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*, se utilizan tres especies de algas para alimentar los diferentes estadios larvarios. De las tres especies, la más resistente al manejo es *Chaetoceros gracilis*. El objetivo del estudio fue evaluar la concentración y el daño físico causado a *Chaetoceros gracilis* durante el proceso de centrifugación. El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de GML, ubicado en Los Delgaditos, Marcovia, Choluteca, Honduras, durante los meses de abril a mayo de 2005. Se utilizaron nueve tratamientos comprendidos en tres tiempos de centrifugación (5, 10 y 15) con tres velocidades (1000, 2000 y 4000 rpm) y con seis repeticiones de cada uno. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial ( $3 \times 3$ ), un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias (LSD) empleando un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . Las variables medidas fueron: la cantidad total de células concentradas, la cantidad de células concentradas dañadas y la cantidad de células sanas en cada tubo de ensayo después de la centrifugación. La centrifugación funcionó como proceso para concentrar las algas. La cantidad total de células concentradas y las dañadas fue directamente proporcional con la velocidad y el tiempo de centrifugación. Con el tratamiento de 15 minutos y 4000 rpm de centrifugación se logró concentrar 92% de las células con 30% de células dañadas y 70% sanas.

**Palabras clave:** *Litopenaeus vannamei*, microalga, tiempo, velocidad.

## CONTENIDO

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
|           | Portadilla.....                             | i         |
|           | Autoría.....                                | ii        |
|           | Página de firmas.....                       | iii       |
|           | Dedicatorias.....                           | iv        |
|           | Agradecimiento.....                         | v         |
|           | Resumen.....                                | vii       |
|           | Contenido.....                              | viii      |
|           | Índice de cuadros.....                      | ix        |
|           | Índice de figuras.....                      | x         |
| <br>      |   |           |
| <b>1.</b> | <b>INTRODUCCIÓN.....</b>                    | <b>1</b>  |
| <br>      |   |           |
| <b>2.</b> | <b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>            | <b>3</b>  |
| 2.1       | Localización.....                           | 3         |
| 2.2       | Manejo de <i>Chaetoceros gracilis</i> ..... | 3         |
| 2.3       | Diseño experimental.....                    | 4         |
| 2.4       | Análisis estadístico.....                   | 5         |
| 2.5       | VARIABLES MEDIDAS.....                      | 5         |
| <br>      |   |           |
| <b>3</b>  | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>          | <b>6</b>  |
| 3.1       | Células concentradas.....                   | 6         |
| 3.2       | Células concentradas dañadas.....           | 6         |
| 3.3       | Células concentradas sanas.....             | 7         |
| <br>      |   |           |
| <b>4.</b> | <b>CONCLUSIONES.....</b>                    | <b>10</b> |
| <br>      |   |           |
| <b>5.</b> | <b>RECOMENDACIONES.....</b>                 | <b>11</b> |
| <br>      |   |           |
| <b>6.</b> | <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>                    | <b>12</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS

### Cuadro

1. Distribución de los tratamientos en el diseño experimental factorial  $3 \times 3$ .... 4
2. Efecto de la centrifugación sobre la cantidad de células de *Chaetoceros gracilis* concentradas, concentradas dañadas y concentradas sanas después del proceso de centrifugación. Los datos presentados son por cada ml del cultivo masivo de algas con población original de  $1 \times 10^6$  cel/ml..... 7

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Figura

1. Relación entre la cantidad de células *Chaetoceros gracilis* concentradas y el tiempo y velocidad de centrifugación..... 8
2. Relación entre la cantidad de células *Chaetoceros gracilis* concentradas dañadas y el tiempo y velocidad de centrifugación..... 8
3. Relación entre la cantidad de células *Chaetoceros gracilis* concentradas sanas y el tiempo y velocidad de centrifugación..... 9

## 1. INTRODUCCIÓN

El cultivo moderno de camarón de mar es una actividad desarrollada en los últimos 35 años. Esta actividad ha contribuido al progreso económico de los países involucrados proveyendo divisas y generando nuevos empleos.

En América, la especie de mayor importancia es el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. Esta especie está distribuida geográficamente en las aguas costeras del Pacífico, desde California hasta Perú (Meyer y Martínez 2003).

La primera etapa larvaria del camarón es el nauplio, que se nutre del contenido del saco vitelino del huevo. El nauplio pasa por cinco estadios que duran entre 36-48 horas en total. La segunda etapa larvaria es la zoea de cinco estadios con una duración de 120 horas y consume fitoplancton (Meyer 2004). La tercera y última etapa larvaria es la mysis con hábitos alimenticios que cambian de fitoplanctívoros a mayormente zooplanctívoros.

En los laboratorios especializados en la cría de larvas, la zoea se alimenta con microalgas producidas en cultivos. En las dos últimas etapas la larva se alimenta de fitoplancton y se requiere suministrarles alimento de microalgas libre de organismos competidores como los protozoarios. Las algas son un componente importante en la dieta de las larvas de los camarones (Almaguer *et al.* 2004). El término microalga se refiere a los microorganismos unicelulares que contienen clorofila u otros pigmentos fotosintéticos.

Las microalgas son ingeribles y digeribles por multitud de larvas y estadios juveniles de moluscos, crustáceos y peces (Nieves 1992). Son capaces de convertir sales inorgánicas en compuestos orgánicos por medio de la fotosíntesis y son alimento vivo idóneo para las larvas de camarón (Ramos y Salazar 1990).

Las diatomeas o algas de color café, son especialmente importantes en la alimentación de larvas de crustáceos por su contenido de sílice y su capacidad de formar pequeñas colonias. Las diatomeas son cultivadas para alimentar a las larvas de camarón en los laboratorios especializados (Almaguer *et al.* 2004).

En Granjas Marinas Larvicultura (GML), un laboratorio comercial para la producción de larvas del camarón blanco del Pacífico, se utilizan tres especies de algas para alimentar los diferentes estadios larvarios. Estas son *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis sp.* y *Thalassiosira weissflogii*.

De las tres especies, la más resistente al manejo es *Chaetoceros gracilis* (Filo Chrysophyta) referida como CHE, de color café y unicelular. CHE es utilizada como

alimento vivo para las larvas del camarón desde el estadio de nauplio cinco hasta la mysis uno (Galeas 2004).

En GML la producción de algas es a diario, así el atraso de un día afecta la producción de días posteriores. Por ejemplo, existen momentos cuando la producción de algas es afectada por prácticas de mantenimiento en las áreas de producción, perturbando las primeras fases en la elaboración de dicho alimento.

Existe la necesidad en GML de guardar algas en gran cantidad pero de manera concentrada para permitir reducir el tiempo de elaboración de la misma para cuando se presenten inconvenientes. Para esto es necesario concentrar las algas en estado viable.

Una centrífuga es un aparato que separa partículas que están en solución. En la biología, estas partículas pueden ser células, orgánulos subcelulares o macromoléculas (Rodríguez 2003). La centrifugación es un método basado en las propiedades de sedimentación de partículas en relación a su masa y para la separación de partículas de una suspensión (Tood 1988).

En el presente experimento tuvo el objetivo de evaluar la concentración y el daño físico causado a *Chaetoceros gracilis* durante el proceso de centrifugación.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Localización

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de GML, ubicado en Los Delgaditos, Marcovia, Choluteca, Honduras, durante los meses de abril a mayo de 2005.

### 2.2 Manejo de *Chaetoceros gracilis*

Todas las algas para este ensayo fueron extraídas de los cultivos masivos (en tanques de 16,000 L capacidad) manejados en GML. En el momento de tomar cada muestra de algas, se estimaba que el cultivo masivo contenía una población equivalente a  $1 \times 10^6$  de células/ml.

La densidad poblacional de la CHE se determinó mediante un conteo con un microscopio empleando un hemacitómetro. El hemacitómetro es una cámara de conteo dividida en cuadrantes, útil en el conteo de células.

El conteo consistió en colocar  $0.1 \text{ mm}^3$  de la muestra en el hemacitómetro y con un microscopio contar las células que se encontraban en los cuadrantes. La cantidad de células resultantes se multiplicó por dos y luego por mil, dando como resultado el número de células por mililitro. Para saber el número exacto de células contenidas en la muestra original, se realizó un conteo similar con una muestra tomada del cultivo masivo.

Cincuenta y cuatro tubos de ensayo fueron lavados y esterilizados en agua caliente ( $94^\circ \text{C}$ ) durante siete minutos para evitar la contaminación de los mismos. Una vez hecho el conteo de la población original de algas, se procedió a llenar seis tubos de ensayo para cada uno de los tratamientos con 25 ml de la muestra para su posterior centrifugación.

Cada vez que se centrifugaban los seis tubos correspondientes a cada tratamiento se realizó el conteo de algas (repetición) para saber la cantidad de células que se encontraban todavía suspendidas en el agua supernatante.

Para evaluar las células concentradas se procedió a eliminar el líquido supernatante conteniendo algas en suspensión por medio de una pipeta. Se añadió 10 ml de agua filtrada al tubo de ensayo para diluir y resuspender la muestra de algas concentradas. Después se procedió a realizar el conteo de las algas resuspendidas en una sub-muestra de  $0.1 \text{ mm}^3$  para el conteo de células.

Durante el conteo de las células resuspendidas en agua y en el examen microscópico de ellas, se pudo diferenciar entre células sanas y células dañadas. Si la pared de una célula estaba rota o la célula se encontraba vacía, se calificaba como dañada.

### 2.3 Diseño experimental

El ensayo consistió en un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial (tres tiempos de centrifugación × tres velocidades). Cada tratamiento tenía seis repeticiones (Cuadro 1).

Los rotores de las centrifugas son diferentes y por esta razón se recomienda usar la fuerza centrífuga relativa (FCR) en lugar de revoluciones por minuto (rpm) para permitir estandarizar la información (López 2005). La FCR se expresa en gravedades y su ecuación de equivalencia es:

$$FCR = 0.00001118 \times r \times (\text{rpm})^2$$

En donde: r = el radio del rotor en centímetros

**Cuadro 1.** Distribución de los tratamientos en el diseño experimental factorial 3 × 3.

| Velocidad de centrifugación (rpm) | Tiempo de Centrifugación (minutos) |           |           |
|-----------------------------------|------------------------------------|-----------|-----------|
|                                   | 5                                  | 10        | 15        |
| 1000                              | 5 + 1000                           | 10 + 1000 | 15 + 1000 |
| 2000                              | 5 + 2000                           | 10 + 2000 | 15 + 2000 |
| 4000                              | 5 + 4000                           | 10 + 4000 | 15 + 4000 |

## **2.4 Análisis estadístico**

Se hizo un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias (LSD) empleando un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$  para detectar diferencias entre el número de células concentradas, dañadas y sanas por la centrifugación. Se hizo una regresión entre el tiempo de centrifugación y el número de células concentradas, de células dañadas y células sanas después de la centrifugación.

## **2.5 Variables medidas**

Las variables medidas en el estudio incluían:

- la cantidad de células concentradas en cada tubo de ensayo después de la centrifugación
- la cantidad de células concentradas que resultaron dañadas en cada tubo de ensayo después de la centrifugación
- la cantidad de células concentradas sanas en cada tubo de ensayo después de la centrifugación.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1 CÉLULAS CONCENTRADAS**

El proceso de centrifugación fue efectivo para concentrar las algas (Cuadro 2). En general, la cantidad de células concentradas aumentó en relación directa con la velocidad y tiempo de centrifugación (Figura 1). Esto coincide con lo investigado por Revilla (1985) quien reporta que el aumento en la velocidad resulta en una mayor concentración.

Se obtuvo el mayor número de células concentradas con 4000 rpm, equivalente a unos 2638 gravedades (Cuadro 2). Con 4000 rpm se logró concentrar más del 75% de las células en cada muestra procesada. El mayor número de células concentradas fue observado con 15 minutos y 4000 rpm de centrifugación.

Los tratamientos 5 + 1000, 10 + 1000, 15 + 1000 y 5 + 2000 (Cuadro 2) fueron los que presentaron la menor cantidad de células concentradas debido a que en ellos se utilizó una menor velocidad de centrifugación. No se encontró diferencia significativa entre estos tratamientos, pero sí con respecto a los demás. El tratamiento 5 + 1000 fue el que resultó en el menor número de células concentradas, puesto que en él se utilizó la menor velocidad y menor tiempo de centrifugación.

#### **3.2 CÉLULAS CONCENTRADAS DAÑADAS.**

El proceso de centrifugación resultó en un porcentaje de células de CHE dañadas en cada combinación de velocidad y tiempo (Cuadro 2). En general, la cantidad de células dañadas aumentó en relación directa con la velocidad y tiempo de centrifugación (Figura 2). Esto concuerda con Reina (2005), quien menciona que al trabajar a una mayor velocidad y tiempo de centrifugación, se obtiene menor número de orgánulos intactos o no dañados.

Los tratamientos 5 + 1000, 10 + 1000, 15 + 1000 y 5 + 2000 resultaron en menos del 10% de células concentradas y dañadas. Estos fueron los tratamientos con el menor efecto negativo sobre la viabilidad de las algas por la centrifugación. El tratamiento 5 + 1000 resultó en el menor número de células dañadas debido a la menor velocidad y tiempo de centrifugación empleadas. Sin embargo, no hubo diferencia significativa en la cantidad de células dañadas entre 5 + 1000 y los tratamientos 10 + 1000 y 15 + 1000.

Los tratamientos 5 + 4000, 10 + 4000 y 15 + 4000 (Cuadro 2) resultaron en el mayor número de las células dañadas por la centrifugación. El tratamiento 15 + 4000 fue el que

presentó el mayor número de células dañadas debido al empleo de la mayor velocidad y mayor tiempo de centrifugación.

### 3.3 CÉLULAS CONCENTRADAS SANAS.

En general, la cantidad de células sanas o no dañadas, disminuyó significativamente en relación al incremento de la velocidad y el tiempo de centrifugación (Figura 3). Los tratamientos 5 + 1000, 10 + 1000, 15 + 1000 y 5 + 2000 (Cuadro 2) fueron los que presentaron el mayor número de células sanas. Esto concuerda por lo dicho por Reina (2005), quien menciona que al trabajar a una menor velocidad y tiempo de centrifugación se obtiene un mayor número de partículas sanas.

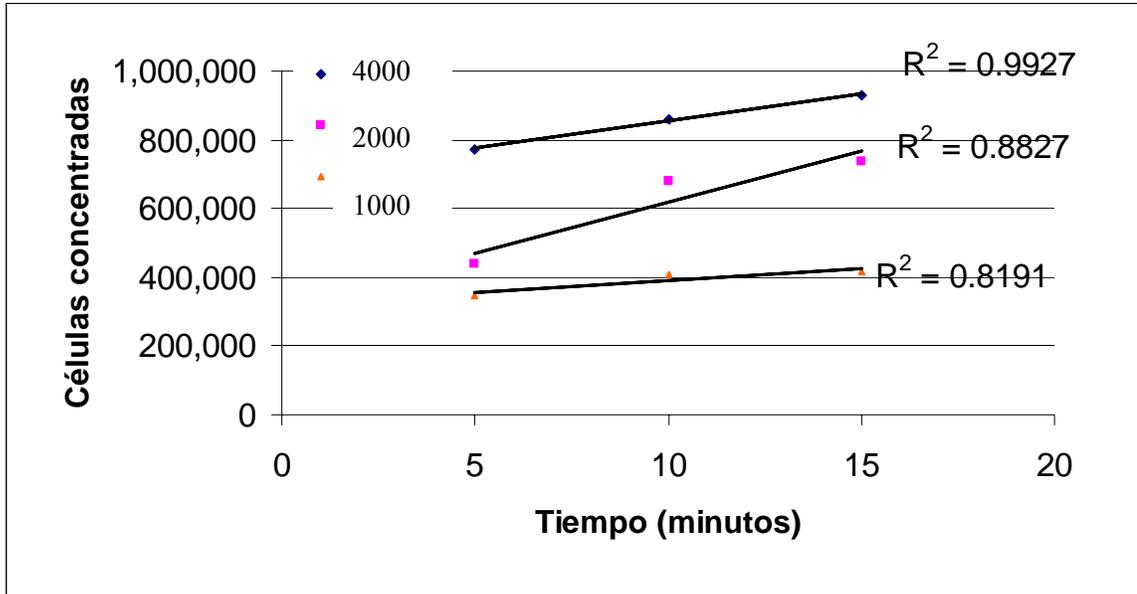
El tratamiento 5 + 1000 fue el que resultó con un mayor número de células sanas, debido a que en él se usó la menor velocidad y tiempo de centrifugación. No hubo diferencia significativa entre los resultados obtenidos con TRT 5 + 1000 con respecto a los tratamientos 10 + 1000, 15 + 1000 y 5 + 2000.

Los tratamientos 5 + 4000, 10 + 4000 y 15 + 4000 (Cuadro 2) fueron los que presentaron los menores números de células sanas, debido a que en ellos se empleó la mayor velocidad de centrifugación. Al mismo tiempo no existió diferencia significativa entre ellos. El tratamiento 15 + 4000 fue el que presentó el menor número de células sanas debido a la mayor velocidad y tiempo de centrifugación empleados.

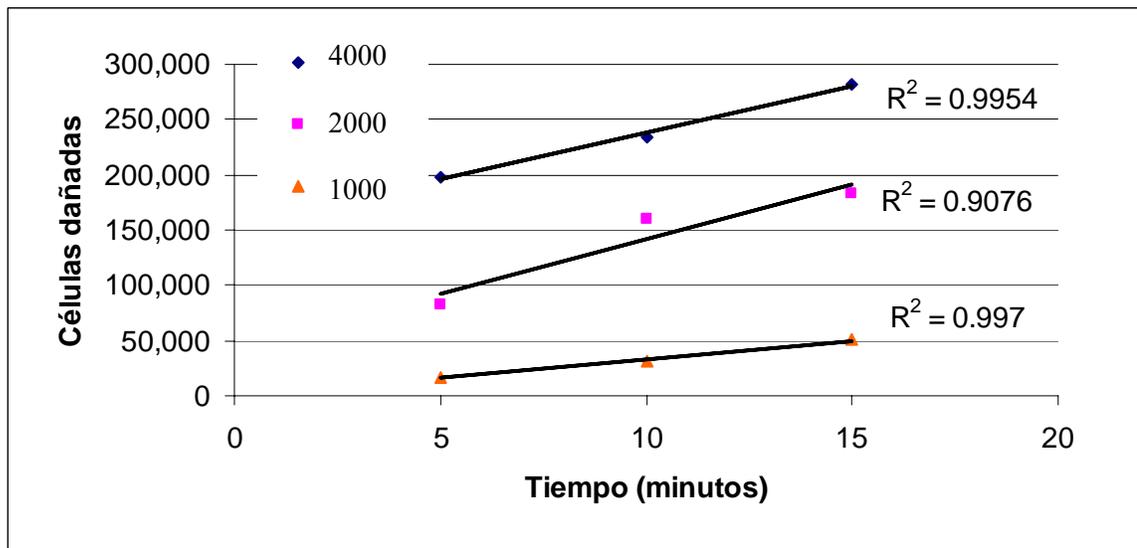
**Cuadro 2.** Efecto de la centrifugación sobre la cantidad de células de *Chaetoceros gracilis* concentradas, concentradas dañadas y concentradas sanas después del proceso de centrifugación. Los datos presentados son por cada ml del cultivo masivo de algas con población original de  $1 \times 10^6$  cel/ml.

| Tratamiento |      |            | Medias células concentradas | Medias células concentradas dañadas | Medias células concentradas sanas |
|-------------|------|------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Minutos     | rpm  | Gravedades |                             |                                     |                                   |
| 15          | 4000 | 2683.2     | 928,333 a ^                 | 281,667 a ^                         | 646,667 a ^                       |
| 10          | 4000 | 2683.2     | 861,673 ab ^                | 234,333 ab ^                        | 627,333 a ^                       |
| 5           | 4000 | 2683.2     | 771,667 bc ^                | 197,000 bc ^                        | 574,667 ab ^                      |
| 15          | 2000 | 670.8      | 735,000 c ^                 | 182,333 bc ^                        | 552,667 ab ^                      |
| 10          | 2000 | 670.8      | 680,000 c ^                 | 160,000 c ^                         | 520,167 b ^                       |
| 5           | 2000 | 670.8      | 436,667 d ^                 | 82,500 d ^                          | 354,167 c ^                       |
| 15          | 1000 | 167.7      | 416,667 d ^                 | 50,333 de ^                         | 366,333 c ^                       |
| 10          | 1000 | 167.7      | 410,000 d ^                 | 32,000 de ^                         | 378,000 c ^                       |
| 5           | 1000 | 167.7      | 345,000 d ^                 | 16,833 e ^                          | 328,167 c ^                       |

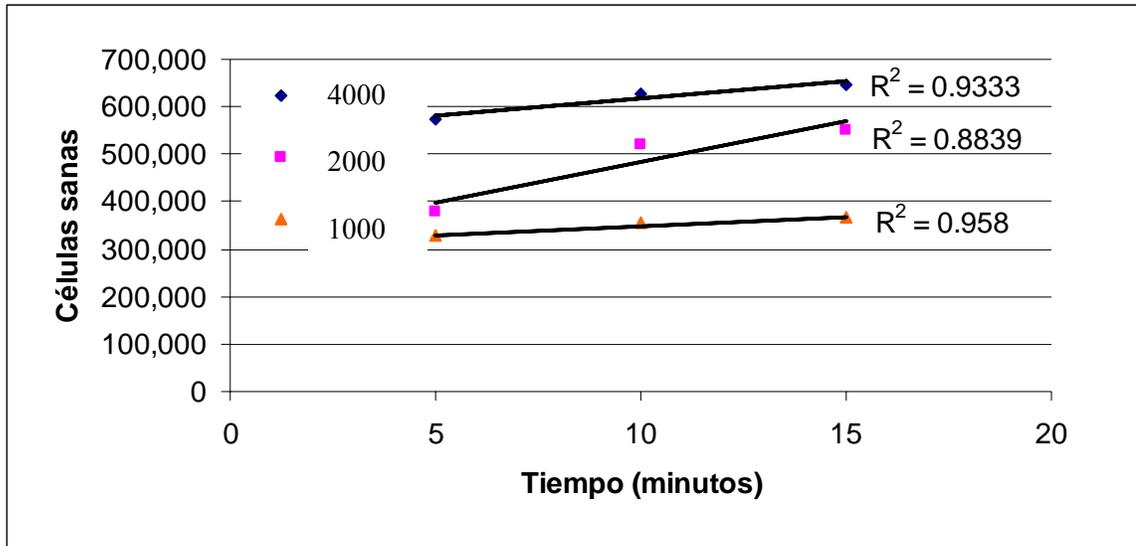
^ Valores en columnas seguidos de diferentes letras son significativamente diferentes (P < 0.05).



**Figura 1.** Relación entre la cantidad de células *Chaetoceros gracilis* concentradas y el tiempo y velocidad de centrifugación.



**Figura 2.** Relación entre la cantidad de células *Chaetoceros gracilis* concentradas dañadas y el tiempo y velocidad de centrifugación.



**Figura 3.** Relación entre la cantidad de células *Chaetoceros gracilis* concentradas sanas y el tiempo y velocidad de centrifugación.

## **4. CONCLUSIONES**

La centrifugación funcionó como proceso adecuado para concentrar las algas.

La cantidad de células concentradas y de células dañadas fue directamente proporcional a la velocidad y el tiempo de centrifugación.

En el tratamiento 5 + 1000 (168 gravedades) se observó la menor cantidad de células concentradas y dañadas.

El tratamiento 15 + 4000 (2683.2 gravedades) fue el mejor, ya que resultó en 92% de células concentradas, con 30% de estas células dañadas y 70% sanas.

## **5. RECOMENDACIONES**

Realizar nuevos estudios con mayores revoluciones por minuto (rpm) de centrifugación.

Realizar pruebas para comprobar que las células identificadas como sanas son realmente viables, para producir a partir de ellas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Almaguer, Y; *et al.* 2004. Cultivo de la microalga bentónica *Navicula* sp. para la alimentación de las primeras post-larvas de camarón blanco (en línea). Consultado 20 mar. 2005. Disponible en: <http://www.uh.cu/centros/cim/2004-143.pdf>.

Galeas, E. 2004. Manual de Procedimientos. Granjas Marinas Larvicultura, Choluteca, Honduras. 21 p.

López, J. 2005. Laboratorio Clínico: Catálogos y Manuales (en línea). Consultado 10 oct. 2005. Disponible en: <http://hospitalalassia.com/Laboratorio/catalogos.htm>.

Meyer, D. y Martínez, F. 2003. Acuicultura: Manual de Practicas. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 109 p.

Meyer, D. 2004. Introducción a la Acuicultura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 159 p.

Nieves, M; *et al.* 1992. Anales del instituto de ciencias del mar y limnología. roducción de fitoplancton abajo costo. Aislamiento y cultivo de monoraphidium sp (chlorophyceae) en un sistema estático en medio f y cuatro a base de fertilizantes agrícolas. Consultado 15 jul. 2005. Disponible en: <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1994-1-2/articulo443.html>

Ramos, A. y M. Salazar. 1990. La Acuicultura en México: de los conceptos a la producción. Uso potencial de los cultivos masivos de microalgas. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico. 274-288.

Reina, M. 2005. Fraccionamiento subcelular (en línea). Consultado 15 oct. 2005. Disponible en: <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/fraccionamiento.htm>

Revilla, A. 1985. Tecnología de la Leche: Procesamiento, Manufactura y Análisis. Instituto Interamericano de las Ciencias Agrícolas (IICA), San Jose, Costa Rica. 339 p.

Rodríguez, J. 2003. Centrifugación: Tipos de Centrifugación (en línea). Consultado 15 jul.2005. Disponible en: <http://es.geocities.com/centrifugacion/tiposcentrifugacion.htm>.

Tood, S. 1988. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Salvat. Tomo I. Pág14.