

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGIA

MANTENIMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA EN CULTIVOS
DE ORGANISMOS MARINOS EN SISTEMAS CERRADOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

PRESENTA

ERIC JOHN CASTAÑARES MADDOX

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I	
ACUMULACION DE LOS DESECHOS NITROGENADOS Y SU TRATAMIENTO.....	3
1.1 Ciclo del nitrógeno en un sistema cerrado.....	3
1.2 Acumulación de desechos nitrogenados.....	4
1.3 Filtración biológica.....	7
1.3.1 Filtración por la actividad bacteriológica.....	8
1.3.1.1 Acondicionamiento de un filtro bacteriológico.....	13
1.3.2 Filtración por algas.....	15
1.4 Filtración mecánica por la grava del filtro bacteriológico..	16
1.5 Diseño y mantenimiento de un filtro bacteriológico-mecánico.	17
1.6 Diseño de un filtro de algas.....	21
CAPITULO II	
ACUMULACION DE CARBONO ORGANICO DISUELTO.....	23
2.1 Generalidades.....	23
2.2 Método de carbón activado.....	24
2.2.1 Diseño y mantenimiento.....	26
2.3 Método de separación por espuma.....	28

	Página
CAPITULO III	
CONTROL DE LA DENSIDAD DE MICROORGANISMOS EN EL AGUA DE CULTIVO...	30
3.1 Generalidades.....	30
3.2 Método de rayos ultravioleta.....	32
3.2.1 Diseño y mantenimiento.....	33
CAPITULO IV	
TENDENCIA HACIA LA ACIDEZ DEL AGUA DE CULTIVO.....	37
4.1 Generalidades.....	37
4.2 Mantenimiento.....	40
CAPITULO V	
RECOMENDACIONES ACERCA DE COMO DISEÑAR Y MANTENER UN SISTEMA CERRADO.....	43
5.1 Materiales para la construcción.....	43
5.2 Utilización de agua de mar natural o artificial.....	46
5.3 Consideraciones finales.....	47
BIBLIOGRAFIA CITADA.....	50
BIBLIOGRAFIA DE CONSULTA.....	53

R e s u m e n

Se define a los sistemas cerrados como sistemas de cultivo acuático en los que recircula el mismo volumen de agua, por lo que es necesario un tratamiento continuo que mantenga su calidad. Se identifican aquí cuatro problemas básicos en el control de la calidad del agua, y se proponen las formas de solucionarlos: para el problema de la acumulación de desechos nitrogenados, se propone la filtración biológica por la acción de bacterias nitrificantes y algas; para la acumulación de carbono orgánico disuelto, los métodos de carbón activado y separación por espuma; para el control de la densidad de microorganismos, el método de rayos ultravioleta; y para la tendencia hacia la acidez, la utilización de grava calcarea, adiciones periódicas de bicarbonato de sodio y cambios parciales del agua. Asimismo, se dan recomendaciones sobre como diseñar y mantener un sistema cerrado para obtener una ambiente marino controlable y estable. Finalmente, se incluye una lista bibliográfica para consulta sobre cultivos de diversas especies de organismos marinos, realizados en sistemas cerrados a nivel experimental.

INTRODUCCION

En función de cómo se aprovecha el agua, los sistemas de cultivo acuático se clasifican en: abiertos, semiabiertos y cerrados. En un sistema abierto el agua proviene de un medio natural, fluye a través de los tanques de cultivo y se desecha. En los sistemas cerrados, en cambio, se recircula el mismo volumen de agua, lo que hace necesario un tratamiento continuo que mantenga su calidad. Los sistemas semiabiertos combinan las formas de aprovechamiento de los sistemas abiertos y cerrados, de manera que el agua recibe algún tipo de tratamiento, pero al disminuir su calidad se reemplaza gradualmente por agua proveniente del mar o agua de mar sintética.

En comparación con las otras formas de aprovechamiento del agua, en los sistemas cerrados existe independencia de las variaciones estacionales tanto en los factores físico-químicos como biológicos del agua de mar, y se evita la introducción de organismos no deseados y de contaminantes a los tanques de cultivo. Debido a que el agua de mar se puede producir artificialmente, no hay dependencia de las aguas costeras, por lo que este tipo de sistemas pueden ser instalados alejados de la costa. Por estas razones, se está generalizando su uso en la investigación, exhibición y, recientemente, a un nivel experimental en la acuicultura.

Cualquier tipo de cultivo involucra tres problemas fundamentales: alimentación, control de enfermedades y control de la calidad del agua. La alimentación está en función de los requerimientos nutritivos de los organismos cultivados a lo largo de su ciclo de vida. Las enfermedades, en la mayoría de los casos, son el resultado del deterioro de la calidad del agua. Si los organismos se encuentran en un ambiente estable se mantienen sanos aún en la presencia de infecciones latentes causadas por virus, bacterias y protozoarios (King y Spotte, 1974). El control de la calidad del agua es el problema inherente a los sistemas cerrados debido a que es posible aprovechar el mismo volumen de agua por medio de diversos tratamientos que evitan su deterioro.

En el presente estudio, se identifican cuatro problemas básicos en el control de la calidad del agua en un sistema cerrado: 1) acumulación de los desechos nitrogenados, 2) acumulación de carbono orgánico disuelto, 3) control de la densidad de microorganismos en el agua de cultivo, y 4) tendencia hacia la acidez del agua de cultivo. Para cada caso se explican las causas del problema y las formas en que se puede dar solución a éste. En segundo término, se dan recomendaciones acerca de cómo diseñar y mantener un sistema cerrado para obtener un ambiente marino controlable, estable y reproducible. Finalmente, se incluye la bibliografía recopilada a lo largo de este trabajo, para introducir al lector a la información acerca de diseños particulares de sistemas cerrados para el cultivo de organismos marinos.

CAPITULO I

ACUMULACION DE LOS DESECHOS NITROGENADOS
Y SU TRATAMIENTO1.1 Ciclo del nitrógeno en un sistema cerrado

Existen cuatro formas por medio de las cuales el nitrógeno es introducido al agua de un sistema cerrado de cultivo: (1) por difusión atmosférica, (2) excreción de macroalgas, (3) excreción de organismos metazoarios, y (4) procesos de oxidación de bacterias heterótrofas (Spotte, 1979b) (fig. 1).

Los procesos de mineralización consisten en la reducción de compuestos orgánicos nitrogenados a sus constituyentes inorgánicos. Este proceso se lleva a cabo por bacterias heterótrofas para obtener energía por respiración aerobia. Los compuestos inorgánicos nitrogenados se originan de la excreción directa de los animales y plantas, de la descomposición heterótrofa de organismos muertos y alimento no consumido. El amoníaco es el principal compuesto inorgánico nitrogenado resultante de la mineralización. El siguiente paso es la nitrificación, que es la oxidación bioquímica a nitros por bacterias autótrofas. Las principales bacterias nitrificantes pertenecen a los géneros Nitrosomonas y Nitrobacter; las primeras intervienen en la oxidación

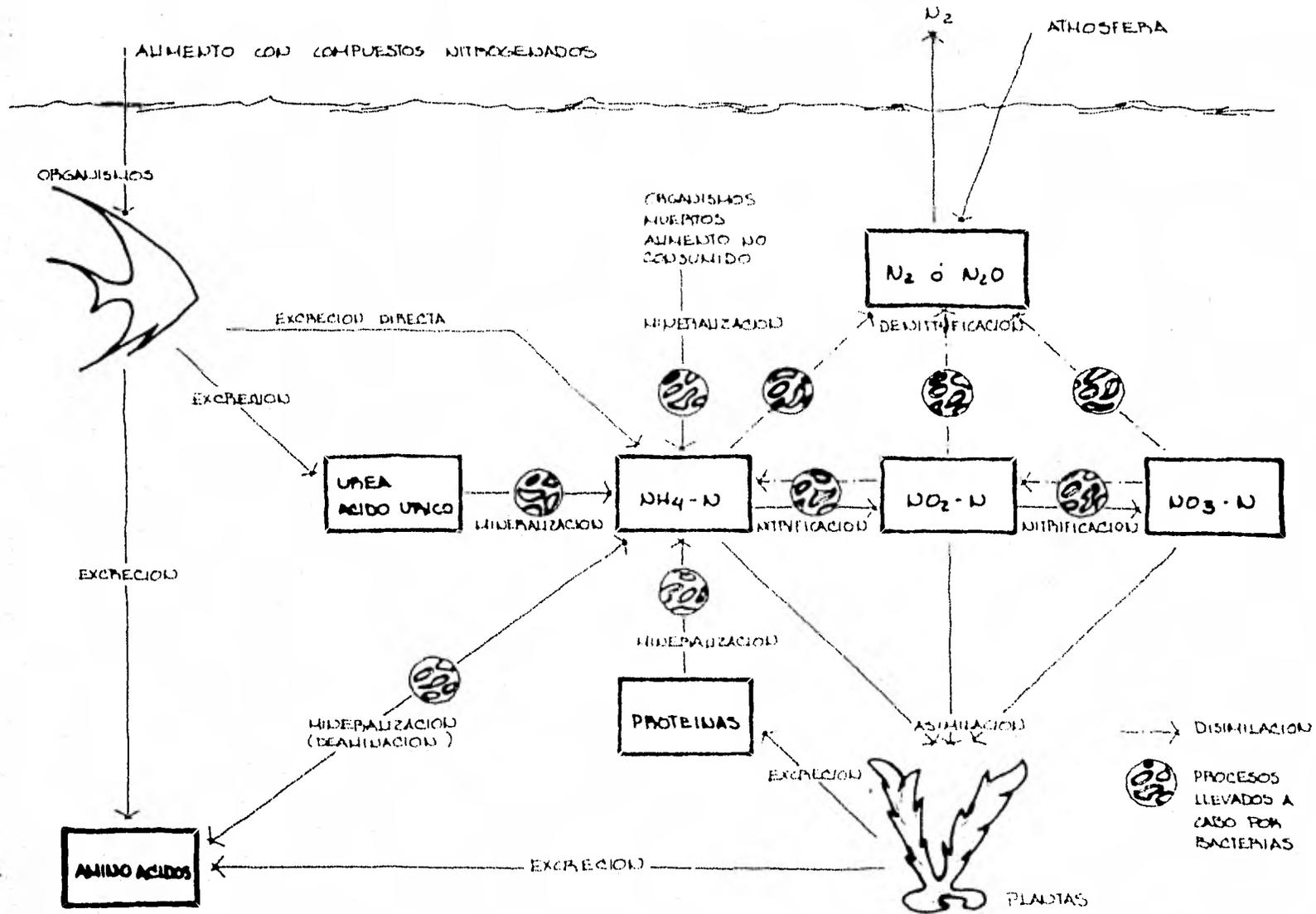
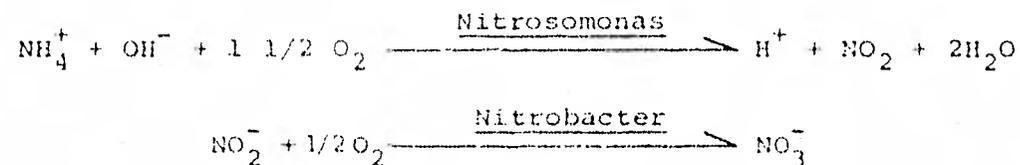


FIGURA 1 CICLO DEL NITROGENO EN UN ACUARIO (MODIFICADO DE SROTT 1979 6)

del amoníaco a nitritos y las segundas en la oxidación de nitritos a nitratos. Las reacciones son las siguientes:



La disimilación es la reducción bacteriológica de nitratos a amoníaco, óxido nitroso (N_2O) o nitrógeno molecular. El producto final depende de la especie de microorganismo que intervenga. Cuando se obtiene óxido nitroso o nitrógeno molecular, se utiliza el término "denitrificación" para nombrar este tipo particular de disimilación.

La asimilación es la incorporación de los metabolitos animales por las plantas para constituir sus propios tejidos. Las plantas requieren del nitrógeno proveniente de los desechos nitrogenados, como amoníaco y nitratos, para la síntesis de proteínas.

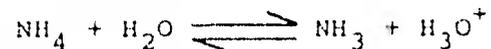
1.2 Acumulación de desechos nitrogenados

En los sistemas cerrados uno de los principales problemas es el aumento de la concentración de los desechos nitrogenados, especialmente el amoníaco por ser altamente tóxico (Atz, 1970; Kinne, 1976; Roff, 1972; King y Spotte, 1974; Spotte, 1979a; y

otros).

Como hemos visto el amoníaco es resultado de la mineralización y de la excreción directa de los organismos cultivados. La cantidad de amoníaco excretado varía en función de la edad, estadio del ciclo de vida, temperatura, salinidad y niveles de amoníaco en el ambiente (Kinne, 1976). La mineralización de un organismo muerto o de alimento no consumido, es llevada a cabo por enzimas proteolíticas producidas por bacterias heterótrofas entre las cuales se encuentran los géneros Micrococcus, Flavobacterium y Achromobacter (Roff, 1972). Es así que en un sistema cerrado, la cantidad de amoníaco depende en primera instancia de la cantidad de nitrógeno contenido en el alimento (Siddall, 1974).

El amoníaco se encuentra en dos formas, como amoníaco libre (NH_3) y como ión amonio (NH_4^+):



Esta reacción es afectada principalmente por la temperatura, salinidad y pH, siendo este último factor el de mayor importancia. El aumento en una unidad de pH provoca que el NH_3 aumente aproximadamente diez veces (Kinne, 1976; Spotte, 1979a).

Las consecuencias de la acumulación de amoníaco son difíciles de determinar cuantitativamente. Las diferencias en forma y tamaño de los acuarios, eficiencia en

el tratamiento del agua, calidad del agua de cultivo, cantidad y tipo de organismos cultivados, proporción de agua reemplazada, concentraciones de oxígeno y bióxido de carbono, así como la temperatura, pH, tiempo de exposición, forma de determinación de la concentración de amoníaco, etc., hacen muy complejo y a veces imposible cualquier tipo de comparación (Kinne, 1976).

La acumulación de NH_3 tiene efectos negativos en las funciones y estructuras de los organismos: obstrucción del intercambio gaseoso e inhibición de procesos metabólicos causando reducciones en la tasa de crecimiento, niveles fisiológicos y tolerancia a contaminantes y enfermedades. La exposición prolongada a niveles críticos de NH_3 resulta en daños estructurales en los tejidos internos y epitelio. En concentraciones críticas, los efectos negativos se acentúan por altos valores de pH, altas temperaturas, bajos niveles de oxígeno y la presencia de contaminantes. Los daños aumentan con el tiempo de exposición y son irreversibles (Kinne, 1976). Los efectos tóxicos del NH_3 no son específicos para ciertas especies en particular -como es el caso de otros metabolitos orgánicos- sino que afectan a todas las especies por igual (Kinne, 1976; Spotte, 1979b). Spotte (1979a) recomienda que la cantidad de amoníaco total debe ser menor a 0.1 mg l^{-1} .

Por otra parte, la acumulación de nitritos y nitratos representa un peligro menor comparado con la acumulación de amoníaco (Goldizen, 1970; Kinne, 1976); a este respecto, Kelley (1965) señala que el nitrato es menos tóxico que el amoníaco por

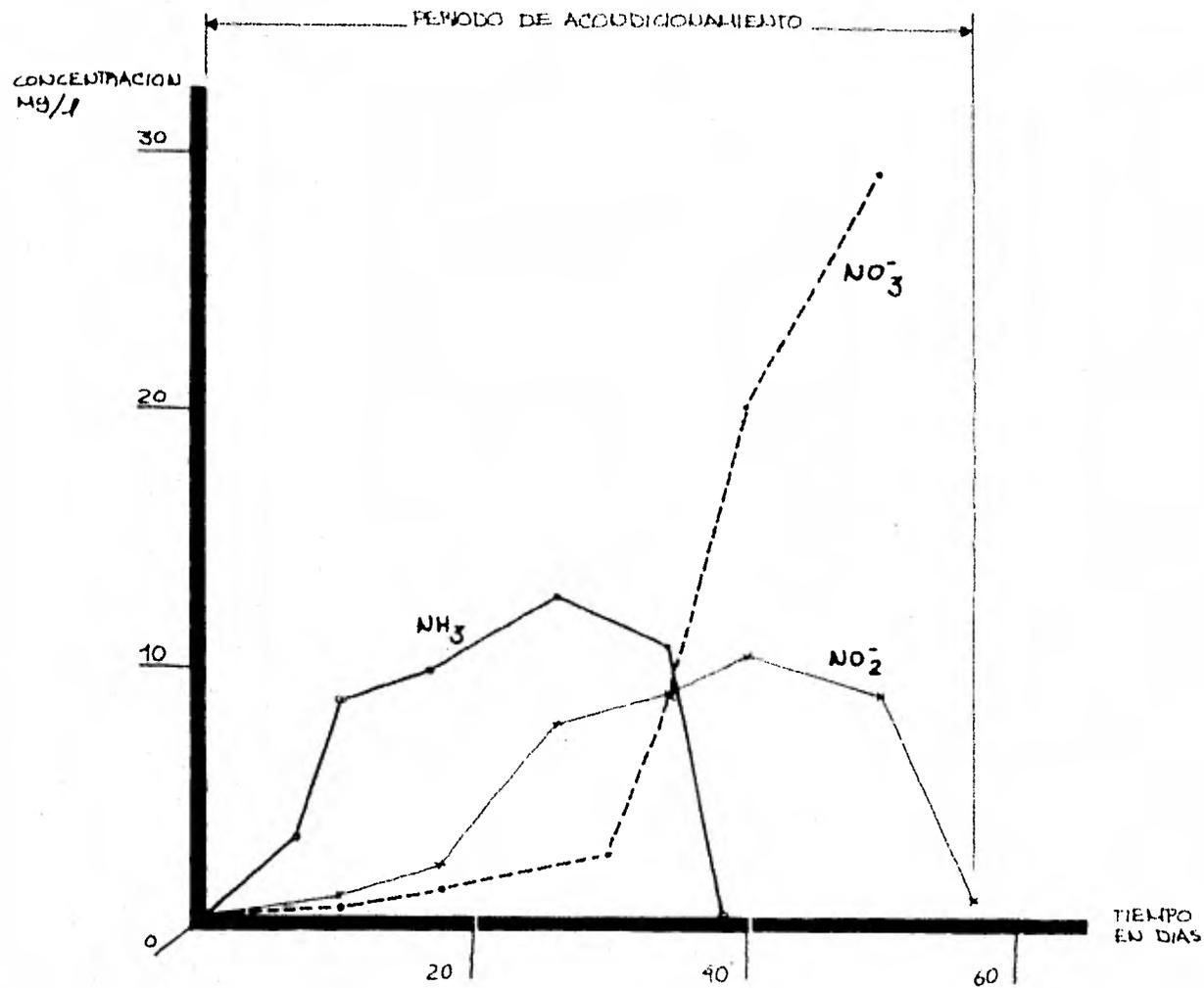


FIGURA 2 CAMBIO EN LA CONCENTRACION DE LAS FORMAS INORGANICAS NITROGENADAS EN EL ACONDICIONAMIENTO DE UN FILTRO BIOLÓGICO (MODIFICADO DE BOFF, 1972)

tres órdenes de magnitud. Hirayama (1966) observó que si se incrementan los niveles de nitratos, estos interfieren con la respiración, especialmente la de los invertebrados.

En el océano abierto las concentraciones de iones de nitrato son muy bajas, 0.3 mg l^{-1} en promedio (Atz, 1964). Esto se debe a la asimilación por organismos planctónicos y a la denitrificación realizada por bacterias (King y Spotte, 1974). Este proceso no se lleva a cabo en semejantes proporciones en los sistemas cerrados bajo condiciones aeróbicas (Honig, 1934), lo que significa que uno de los cambios más importantes que ocurre en el agua de cultivo, es la acumulación de nitratos (Atz, 1964). Esta es una de las causas de la disminución del pH al reemplazar iones de carbonato, así como la formación de ácido nítrico (Honig, 1934). En los sistemas cerrados los niveles de nitritos no deben exceder 0.1 mg l^{-1} y los nitratos 20.0 mg l^{-1} (King y Spotte, 1974).

1.3 Filtración biológica

En la filtración biológica se aprovecha la actividad de bacterias y algas para evitar la acumulación de desechos tóxicos, especialmente de amoníaco y los nitratos. Para fines prácticos se define como la nitrificación y asimilación de desechos nitrogenados.

En los océanos y aguas costeras las sustancias orgánicas e inorgánicas son

recicladas a través de interacciones equilibradas entre microorganismos, plantas y animales. En los sistemas cerrados los organismos marinos morirían si no fueran reconstituidas porciones esenciales de estas interacciones (Kinne, 1976). Con un filtro biológico diseñado y operado correctamente se puede estabilizar a los desechos ni trogenados en rangos observados en la naturaleza (Atz, 1964), mientras que por medios físicos y químicos no es posible controlarlos sin afectar a los organismos cultivados (Shelbourne, 1964).

Debido a que la nitrificación y la asimilación se llevan a cabo bajo condicio nes diferentes, usualmente están separadas espacialmente. Por esta razón, a continua ción se tratará la filtración bacteriológica y posteriormente la filtración por algas.

1.3.1 Filtración por la actividad bacteriológica

El filtro bacteriológico consiste en un volumen de grava que puede o no estar dentro del tanque de cultivo y por el cual se hace circular el agua por medio de una bomba (fig. 3). La grava funciona como filtro mecánico al retener las partículas, aunque su función más importante es ofrecer una superficie sobre la cual se adhieran las bacterias. Como parte de la comunidad de bacterias, en la grava se encuentran po blaciones de bacterias nitrificantes que se ven afectadas por los siguientes factores: sustancias tóxicas, temperatura, pH, oxigenación, salinidad, superficie y veloci dad de circulación del agua.

Sustancias tóxicas:

La nitrificación se ve afectada básicamente por dos grupos de compuestos: 1) amoníaco, sulfuro y otros metabolitos, y 2) medicamentos. Desafortunadamente no es posible evaluar la información sobre el tema ya que no se sabe si inhiben la proliferación o la actividad de las bacterias nitrificantes. Además, pocos experimentos se han conducido en ambientes marinos (Spotte, 1979b). Srna (1975) indica que el ion sulfuro inhibe la nitrificación severamente a concentraciones bajas (0.1 ppm).

Temperatura:

Kawai y col. (1965) observaron que la temperatura óptima para la actividad de las bacterias nitrificantes de un filtro de grava utilizado en un acuario para el cultivo de peces, se encuentra en un rango de 30° a 35°C. Siddall (1974) diseña columnas que contienen grava, a través de las cuales recircula agua para simular un filtro biológico de un sistema cerrado de cultivo. Sugiere que la estabilidad de la temperatura entre los 23° y 28°C es un factor crítico para el mantenimiento de poblaciones densas de bacterias nitrificantes. Debido a que la temperatura está en función de los requerimientos de los organismos cultivados y a que las bacterias nitrificantes toleran un amplio margen de temperaturas (Spotte, 1970a), se considera en este trabajo que lo importante no es definir una temperatura óptima, sino la estabilidad de ésta durante el tiempo que se mantenga el cultivo.

pH:

Según Kawai y col. (1965), un pH de nueve es el óptimo; valores menores afectan negativamente la nitrificación. Kinne (1976) sugiere que un pH de 7.8 a 8.2 es el óptimo para la actividad bacteriológica. Forster (1974) al ir agregando HCl diluido a un filtro biológico observó que la nitrificación era adversamente afectada por valores bajos de pH y que se detenía totalmente a un pH de 5.5. Hirayama (1974) sugiere que un filtro biológico puede tener suficiente capacidad como para mantener bajos los niveles de concentración de amoníaco aun cuando el pH alcance valores bajos (pH 7). Según Srna (1975), el pH afecta la oxidación de los iones nitrito y amonio. La oxidación del ion amonio se ve favorecida por altos valores de pH y desfavorecida por valores bajos. Recíprocamente, la oxidación de nitritos es favorecida por bajos valores de pH. Las bacterias nitrificantes pueden ser acondicionadas a un rango muy amplio de pH, siempre y cuando se les dé tiempo para adaptarse (Spotte, 1979b).

Oxigenación:

En el volumen de grava se forma una comunidad compuesta de bacterias aerobias y anaerobias. La actividad anaeróbica produce muchos metabolitos tóxicos (Spotte, 1979a). La presencia de oxígeno inhibe la proliferación y actividad de bacterias anaerobias, por lo que se deben mantener los niveles de oxígeno cerca del punto de saturación para que predominen las aerobias, entre ellas las nitrificantes.

Siddall (1974) señala que uno de los factores críticos para el mantenimiento de una densa población de bacterias nitrificantes es la aereación (6.5 mg O₂/l). Forster (1974) encontró que la nitrificación se inhibe a niveles de oxígeno menores 0.6 - 0.7 mg/l.

Salinidad:

Kawai y col. (1965) encontraron que la actividad de las bacterias nitrificantes era mayor cuando el agua de mar se encontraba a salinidades normales. Las bacterias se adaptan a cambios graduales en la salinidad, pero no así a fluctuaciones repentinas. Si se utiliza la gravedad específica para medir la densidad del medio y si consideramos el valor normal 1.025 del agua de mar, el sistema no debe variar más de ± 0.002 (Spotte, 1979a).

Superficie:

Las bacterias nitrificantes se encuentran en las paredes del sistema y sobre las superficies que ofrece la grava del filtro biológico (Hirayama, 1966). La mayor parte de la actividad bacteriológica ocurre dentro de una matriz biológica adherida a las paredes, grava u otras superficies sólidas. Esta matriz biológica es producida por las bacterias que habitan en ella y está formada por polisacáridos (Spotte, 1979b).

Kawai y col. (1965) determinaron que la densidad de bacterias nitrificantes

en una cama de grava era inversamente proporcional a la profundidad del filtro y que la actividad bacteriológica a más de 5 cm era un 50% menor que en la superficie. En oposición a lo anterior, Siddall (1974) demostró que la actividad bacteriológica se desarrollaba uniformemente a lo largo de una columna de grava de 20 cm. Es importante considerar que en los primeros estudios se utilizó un grano del tamaño de 0.7 mm, y en el segundo de 1 a 5 mm. Si se utilizan granos de menor tamaño se aumenta la superficie total disponible para las bacterias, pero es más fácil que se obstruya el paso del agua a través del filtro debido a la acumulación de detritus sobre la superficie del volumen de grava. Esto último provoca que se formen áreas anóxicas donde se inhibe el crecimiento de bacterias aeróbicas. Spotte (1979a) sugiere un tamaño de 2 a 5 mm de diámetro. Forster (1974) recomienda que se use grava de 12 a 25 mm porque al utilizar en sus experimentos grava de menor tamaño (6 a 12 mm) durante un período de tres meses, los filtros tendían a obstruirse debido a la acumulación de la matriz bacteriológica; al emplear este autor grava de 12 a 25 mm no hubo obstrucción alguna durante seis meses de operación. Recientemente se está utilizando, en sustitución de grava, material plástico ligero diseñado de tal forma que exista la mayor superficie posible, sin obstruir el paso del agua.

Velocidad de flujo del agua:

La velocidad con que circula el agua a través del sistema es un factor que limita la biomasa total de la población de bacterias nitrificantes (Forster, 1974) y re

sulta útil mantener una alta velocidad de flujo para evitar la intoxicación por amoníaco (Kinne, 1976). Siddall (1974) recomienda un flujo de 250 l/hr. Según Spotte (1979a), ésta nunca debe ser menor de 1 galón por pie cuadrado por minuto en sistemas de más de 200 galones. Goldizen (1970) establece como un parámetro básico que la velocidad de flujo debe ser de 80 l por metro cuadrado de superficie de la cama de grava por minuto.

1.3.1.1 Acondicionamiento de un filtro bacteriológico

Un filtro de grava está acondicionado cuando las bacterias que lo habitan están en equilibrio dinámico con la formación de sus fuentes de energía (Spotte, 1979a). Para fines prácticos, en este trabajo, se considerará a un sistema cerrado como acondicionado cuando las concentraciones de amoníaco y nitritos se mantengan constantes a niveles en que no son tóxicos para los animales cultivados. En la figura 2 se presentan los cambios típicos en las concentraciones totales de amoníaco, nitrato y nitrito, utilizando un filtro biológico a una temperatura de 12°C según Roff (1972).

Aunque hay bacterias nitrificantes en los acuarios que son introducidas junto con los organismos cultivados, la población inicial es baja y lleva un cierto tiempo para que se establezcan en el filtro en cantidades mayores. El amoníaco en un tanque recién montado llega a niveles altos conforme es excretado por los organismos o liberado por tejidos en descomposición. Gradualmente la población de Nitrosomonas aumen-

ta y reduce el nivel de amoníaco al convertirlo en nitrito que comienza a aumentar. La población de Nitrobacter inhibida por los altos niveles de amoníaco en un principio (Lees, 1952), aumenta posteriormente convirtiendo los iones nitrito en iones nitrato. Los iones nitrato se acumulan en el tanque y el amoníaco y nitritos son mantenidos a bajas concentraciones (Roff, 1972). Sólo hasta entonces se dice que un sistema está acondicionado.

Las características de la secuencia dependen básicamente de: 1) cantidad de organismos cultivados, 2) cantidad de alimento, intensidad de defecación y cantidad de alimento no consumido, 3) temperatura, y 4) cantidad de oxígeno disponible (Kinne, 1976).

Forster (1974) señala que se requiere un período mínimo de 28 días para que se dé una actividad total del filtro. Habría que considerar que su estudio se basó solamente en la conversión de amoníaco, pues otros autores dan períodos mayores para el acondicionamiento. Según Hirayama (1974) el acondicionamiento de un filtro tardará de 40 a 60 días. En opinión de Spotte (1979b) el lapso para obtener el acondicionamiento se debe tanto a la necesidad de adaptación de las bacterias nitrificantes a las condiciones del sistema, como a la falta inicial de organismos.

Dicho acondicionamiento puede ser acelerado de dos formas:

1. Añadiendo una inoculación de bacterias de la grava de otro filtro.

2. Agregando nutrientes al agua para acelerar la estabilización de los niveles de actividad.

Siddall (1974) aceleró el proceso de acondicionamiento utilizando soluciones de sulfato de amonio y cloruro de amonio. Al hacer esto con y sin metabolitos orgánicos en las soluciones, este autor observó lo siguiente: las soluciones que no contenían metabolitos orgánicos, tenían un aumento del 240 al 290%, sobre los valores de nitrificación que se obtenían con las que sí contenían metabolitos orgánicos. Con esto se demostró que existe alguna forma de inhibición de los metabolitos orgánicos sobre el proceso de nitrificación y se comprobó la efectividad de utilizar una fuente artificial de amonio para inducir una densa población de bacterias nitrificantes en un filtro biológico; sin embargo, la alta concentración de nitratos acumulados debido a este procedimiento, hace necesario cambiar una porción del agua para disminuir su concentración (King y Spotte, 1974).

1.3.2 Filtración por la actividad de las algas

Las plantas mejoran la calidad del agua en un sistema cerrado porque liberan sólidos disueltos como vitaminas y aminoácidos. Pero lo más importante es su capacidad de asimilar metabolitos animales, básicamente compuestos nitrogenados y fosforilados, que incorporan a sus tejidos durante el crecimiento (Spotte, 1979b). Shelbourne (1964) utilizó la macroalga Enteromorpha para mejorar la calidad del agua de un sis-

tema para el cultivo de peces. Kinne (1976) disminuyó la mortalidad de huevecillos tanto de crustáceos como de peces al instalar filtros de algas de formas bentónicas como Enteromorpha y Ulva lactuca y de formas planctónicas como Monochrysis lutheri y Dunaliella tertiolecta.

Los factores que afectan la asimilación de desechos nitrogenados por las algas son: la forma y concentración del nitrógeno disponible, intensidad y fotoperiodicidad de la luz y la asimilación preferencial del amoníaco (Spotte, 1979b). Siddall (1974) con un cultivo de diversas algas, en las que predominaban especies del género Chlorococcum, logró, en un tiempo relativamente corto de experimentación, reducir la concentración de nitratos en un 68%. En cultivos prolongados se producía un equilibrio en el que se mantenía a los nitratos en concentraciones bastante bajas. También se comprobó la disminución de fosfatos y otras sustancias orgánicas en el agua.

1.4 Filtración mecánica por la grava del filtro bacteriológico

La filtración mecánica en un sistema cerrado tiene por objeto remover el exceso de partículas, microorganismos, y sustancias coloidales para disminuir la turbiedad del agua (Kinne, 1976; Spotte, 1979a). El volumen de grava utilizado para la filtración biológica actúa como un filtro mecánico que, si está bien diseñado y cuidado, será suficiente para mantener la claridad del agua porque la materia suspendida es re

tenida y atraída electrostáticamente por las superficies de ésta. La eficiencia con que se lleva a cabo este proceso depende del tamaño de grava, acumulación de detritus, forma de la grava y de la distribución homogénea de la misma (Spotte, 1979a).

Cuanto menor sea el tamaño de los granos de grava, existirá una mayor superficie para la atracción electrostática y se atraparán partículas más finas al ser de menor tamaño los intersticios.

Al acumularse el detritus en la grava se reduce el tamaño de los intersticios incrementándose la efectividad del filtro. Debido a esto, los filtros que llevan más tiempo operando dan una mayor claridad al agua.

La forma de la grava al ser angular o irregular proporciona un sistema más efectivo para retener el detritus de manera que no pase a la parte profunda del filtro de donde sería difícil de remover. Además, al ser irregular, hay mayor superficie y por lo tanto mayor potencial de atracción electrostática.

La distribución homogénea de la grava evita la formación de canales puesto que no hay zona donde se presente una menor resistencia al paso del agua.

1.5 Diseño y mantenimiento de un filtro bacteriológico-mecánico

Para el diseño de un filtro bacteriológico-mecánico (fig. 3) se deben tomar

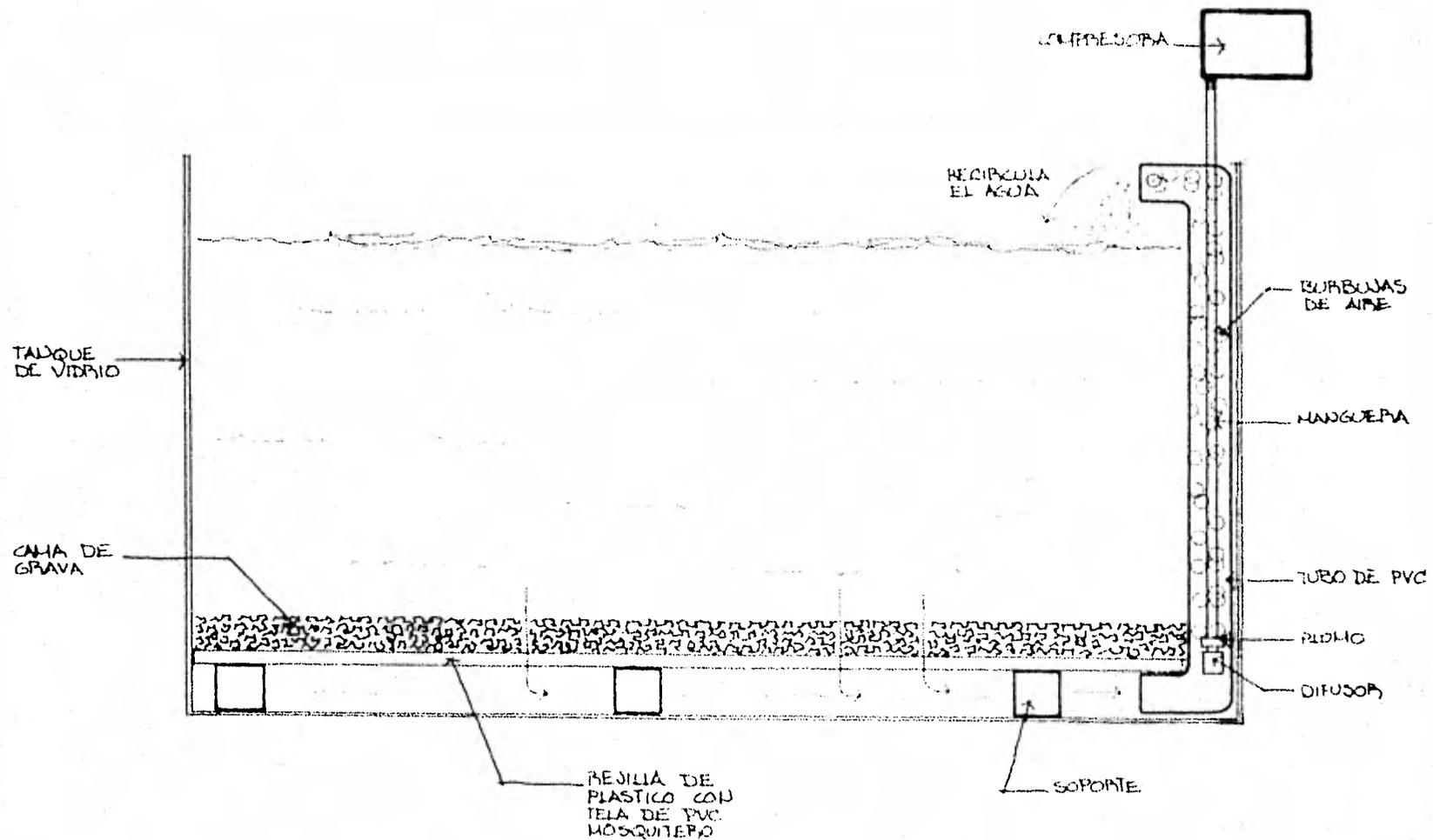


FIGURA 3 PARTES QUE FORMAN EL FILTRO BACTERIOLOGICO

en cuenta los factores que afectan la actividad de las bacterias nitrificantes descritos anteriormente.

El volumen de grava que ofrece la superficie sobre la que se han de adherir las bacterias nitrificantes puede encontrarse dentro del tanque de cultivo o en otro tanque dedicado especialmente a este fin. Spotte (1979a, 1979b), sugiere los siguientes parámetros para el diseño del filtro: 1) el área superior de la cama de grava debe ser igual al área del fondo del tanque; 2) el tamaño de la grava debe ser uniforme, entre 2 y 5 mm; 3) la profundidad de la cama de grava debe ser de material calcáreo; 4) la velocidad del flujo de agua debe ser aproximadamente $0.7 \times 10^{-3} \text{ m seg}^{-1}$. Estos parámetros no son definitivos, pero son de utilidad como punto de referencia. Cualquier diseño debe considerar que la cama de grava realiza a la vez filtración biológica y mecánica, por lo que se deben tomar en cuenta los factores que afectan la eficiencia de ambos procesos.

La cama de grava puede tener una base construida de lámina acanalada de fibra de vidrio o una rejilla de plástico cubierta con tela de mosquitero, que funcionan indistintamente como un fondo falso que está, a su vez, sostenido por soportes para permitir el flujo de agua. En la lámina acanalada de fibra de vidrio se hacen ranuras en la parte inferior del canal (fig. 4).

Las rejillas cubiertas con tela de mosquitero dan mejor resultado al permitir

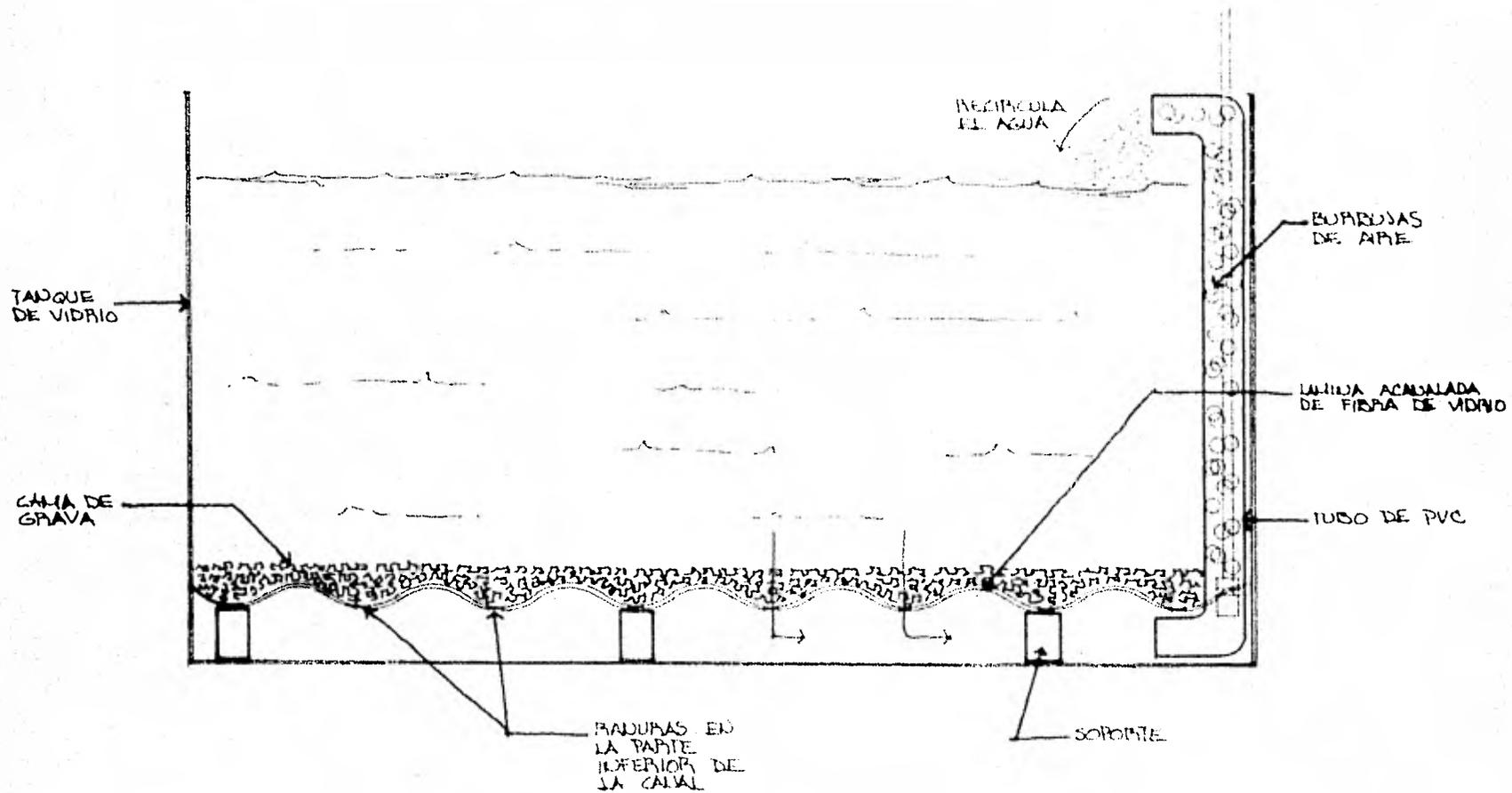


FIGURA 4 CORTE DE UN ACUARIUM EL QUE SE ILUSTRAN EL FILTRO CONSTITUIDO DE UNA LAINA ACANALADA DE FIBRA DE VIDRO PROVISTO DE MANIJAS PARA PERMITIR EL FLUJO DEL AGUA

el flujo de agua en toda el área que ocupan. En ambos casos deben ocupar todo el fondo del tanque y sellarse con silicones a las paredes de éste. Todo esto se hace con el fin de asegurar que el agua fluya uniformemente por toda la cama de grava y no se formen zonas anóxicas donde proliferen bacterias anaeróbicas que puedan producir sustancias tóxicas que afecten a las bacterias nitrificantes y/o a los organismos cultivados.

Para evitar que se acumule el detritus, se agita la parte superior de la grava para que entre en suspensión y pueda removerse con un sifón. Spotte (1979a) recomienda que al mismo tiempo se aproveche para cambiar el 10% del volumen total del agua cada dos semanas. Será necesario lavar el filtro sólo si se descuida el procedimiento anterior, porque se acumularía una capa de detritus en la superficie, esquinas o a lo largo de las paredes del acuario.

El movimiento del agua se logra inyectando aire con un compresor a un difusor que se encuentra colocado dentro de un tubo de PVC ubicado verticalmente como se muestra en la figura 5.

Este mecanismo de desplazamiento de agua por medio de aire comprimido ("air-lift pump"), debido a su sencillez, es de gran utilidad para mantener en movimiento volúmenes de agua y favorecer el intercambio gaseoso, por lo que se ha generalizado y diversificado su uso. Wheaton (1977) ha analizado su funcionamiento, y Spotte (1979b)

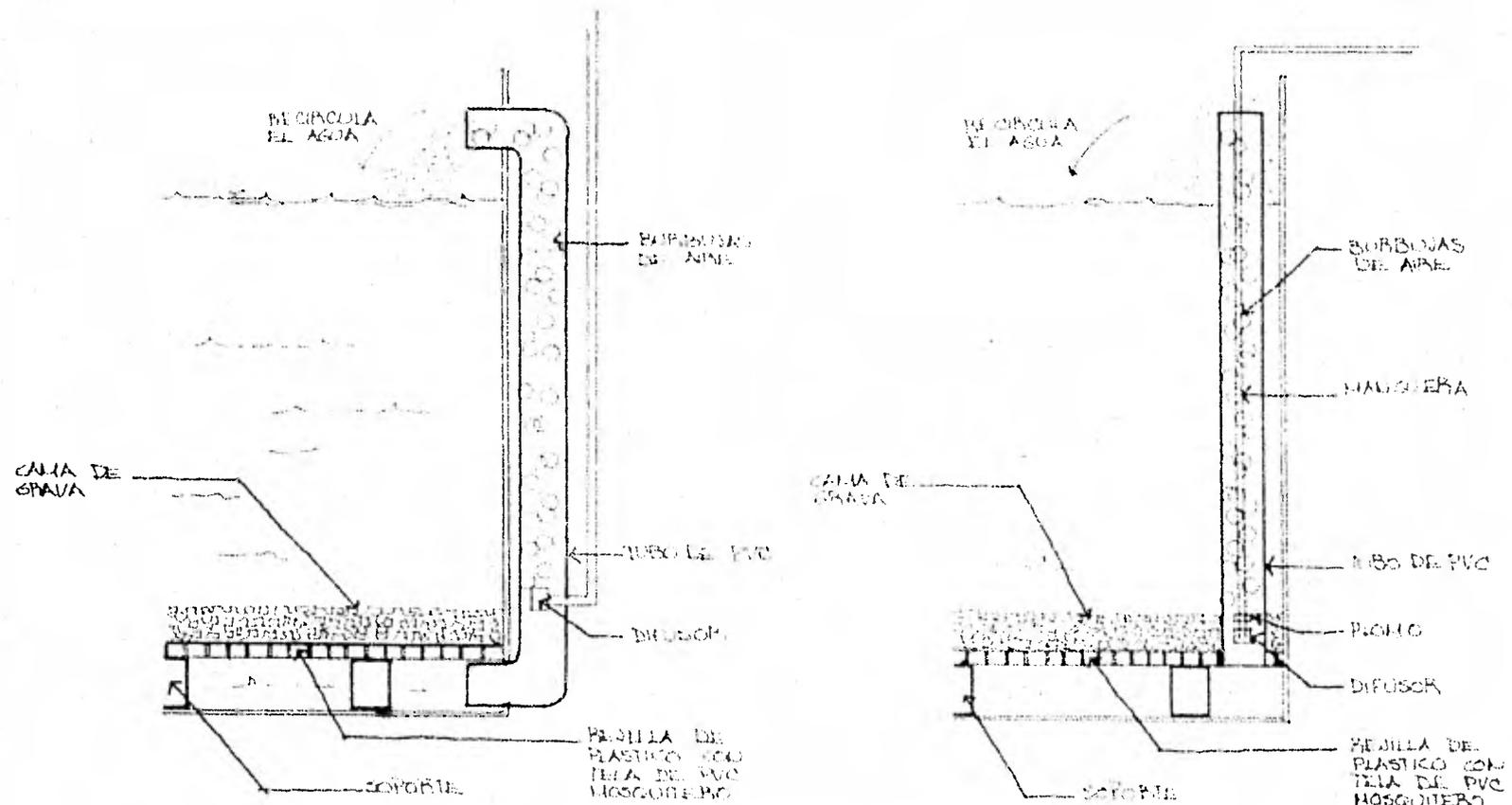


FIGURA 5 DOS INSTALACIONES DISTINTAS PARA EL FILTRO DEL AGUA DE EL FILTRO BIOLÓGICO-MECÁNICO

propone una forma de calcular los parámetros para su diseño a pequeña escala, que resulta útil como punto de referencia.

Spotte (1979a) señala las ventajas que representa el desplazar agua por medio de aire proveniente de un compresor sobre una bomba mecánica: menos costo inicial; su diseño, construcción e instalación son relativamente sencillos; no se obstruye, necesita poco espacio, se regula el flujo de agua con facilidad y, finalmente, es muy versátil en sus aplicaciones. Además de producir el flujo necesario para la filtración mecánica-bacteriológica, mantiene la concentración de oxígeno cerca del punto de saturación debido a que favorece el intercambio gaseoso, porque con el movimiento del agua hace que todo el volumen, en algún momento, forme parte de la interfase agua-aire. Por otro lado, también hay intercambio gaseoso entre las burbujas y el agua circundante. De esta forma, el oxígeno consumido por los organismos cultivados y las bacterias aeróbicas es restituido inmediatamente, por lo que su concentración se mantiene cerca del punto de saturación en todo el sistema, factor indispensable para el buen funcionamiento de éste. Por último, no hay riesgo alguno de sobresaturar el agua con gases, como sucede con bombas mecánicas de funcionamiento defectuoso.

El difusor de aire dentro del tubo vertical se utiliza para formar burbujas pequeñas y de tamaño uniforme porque así se obtiene mayor superficie para el intercambio gaseoso. De este modo no se da la turbulencia que se presenta cuando al ser de diferentes tamaños, ascienden a diferentes velocidades, lo que disminuiría su eficien

cia. El diámetro del tubo es determinante en la capacidad del mecanismo, ya que si se lo duplica, aumenta 5.6 veces su rendimiento (Spotte, 1979a).

El flujo del agua que sale de la parte superior del tubo vertical debe hacerlo en una forma continua y suave. Si sale a gorgotones, se debe a que se está inyectando demasiado aire o a que la salida del tubo se encuentra muy por encima del nivel del agua.

1.6 Diseño de un filtro de algas

Los parámetros generales para el diseño de un filtro de algas son difíciles de definir, porque su comportamiento depende de la especie y de las condiciones bajo las cuales se desarrolla. Se han incluido dentro de los sistemas de cultivo (fig. 6) para la asimilación de nitratos o simplemente porque se obtienen mejores resultados con su presencia, desconociéndose hasta ahora el por qué de ello. La actividad fotosintética, que es difícil de controlar por la diversidad de factores que la determinan, aumenta el total de materia orgánica en el sistema y el pH puede elevarse a niveles peligrosos debido al consumo de CO_2 durante este proceso. El único método a seguir es por ensayo y error bajo las condiciones particulares de cada sistema.

Spotte (1979b) da los siguientes criterios básicos para el diseño de un filtro de macroalgas: 1) la profundidad máxima de la charola en donde se cultivan no de-

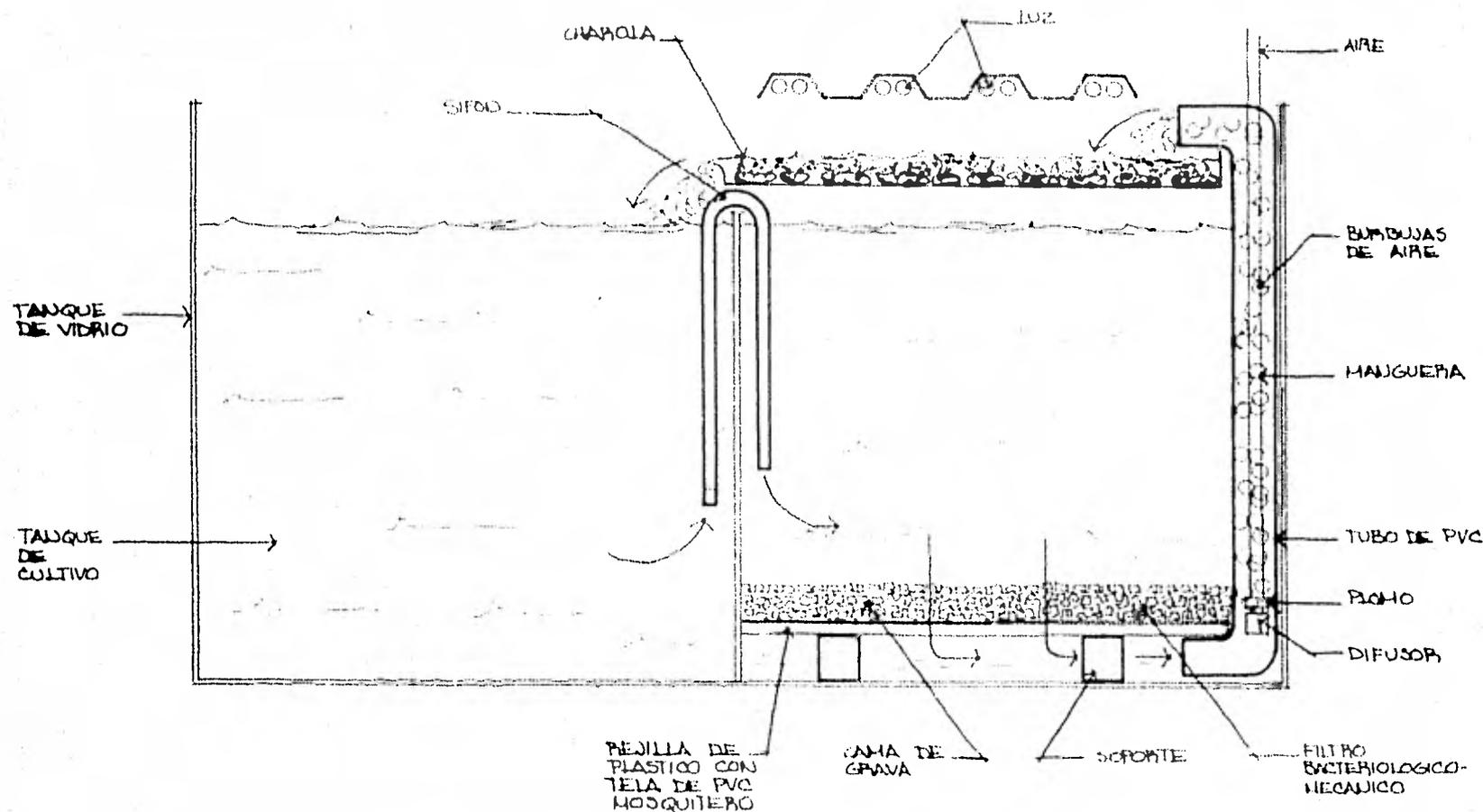


FIGURA 6 CHAROLA PARA EL CULTIVO DE ALGAS DONDE SE ILUSTRAN SU INSTALACION EN RELACION CON EL PUESTO DEL SISTEMA

be ser mayor de 3.5 cm; 2) la superficie de la charola debe ser lo más amplia posible; 3) el fotoperíodo debe ser de alrededor de 16/8 horas, y 4) la intensidad deberá estar en función de la especie de macroalga, como lo indica el siguiente cuadro:

Tipo de macroalga	Intensidad (lux)
Verde (tropical)	13000 - 16200
Verde (templado)	7560 - 10800
Café	7560 - 10800
Roja	2160 - 3640

Cuadro 1. Rangos de intensidades para el cultivo de macroalgas con lámparas fluorescentes (Spotte, 1979b).

CAPITULO II
ACUMULACION DE CARBONO ORGANICO DISUELTO

2.1 Generalidades

Parte del carbono orgánico disuelto en un sistema cerrado no es biodegradable, ni fácilmente removible por métodos convencionales. Esto implica que conforme pasa el tiempo se va acumulando. El color amarillento del agua de cultivo utilizada por largo tiempo se atribuye a este fenómeno. Su acumulación también se debe a que las bacterias heterótrofas no degradan completamente las sustancias orgánicas excretadas por animales y plantas.

El agua puede contener sustancias disueltas que sean importantes para el mantenimiento de los organismos cultivados como nutrientes, vitaminas y promotores del crecimiento; sin embargo, hay que considerar que el beneficio o perjuicio que pueden causar está en función de su concentración. Estas sustancias, que en un principio favorecen a los organismos, pueden ser perjudiciales si se permite su acumulación (Kinne, 1976).

Spotte (1979a) da las siguientes razones por las cuales se debe mantener un

nivel bajo de carbono orgánico disuelto: se reduce la concentración de compuestos tóxicos o potencialmente tóxicos, se forma menos detritus, la coloración amarillenta disminuye, y la biomasa del sistema se mantiene a un nivel menor. Atz (1964), señala que la inhibición del crecimiento de organismos está relacionada con los altos niveles de materia orgánica.

Los niveles de carbono orgánico disuelto se pueden aminorar por medio de dos métodos: carbón activado y separación por espuma ("foam separation"). Ambos se basan en el principio físico de adsorción que se define como la retención de carbono orgánico en una interfase adecuada. La interfase se forma por el agua y otra fase que puede ser un gas, como en el caso de separación por espuma, o un sólido, como en el caso del carbón activado. Si se forman enlaces estables entre la materia adsorbida y el adsorbente, se trata de una adsorción química, en tanto que si son enlaces débiles, es una adsorción física.

2.2 Método de carbón activado

El carbono orgánico disuelto es retenido en la interfase formada por el agua y el carbón activado. Se utiliza carbón activado granular porque es mucho más fácil su manejo que el del carbón en polvo, aunque este último ofrece mayor superficie. Un kilogramo de carbón activado en polvo tiene una superficie estimada de un millón de

metros cuadrados y un kilogramo de carbón activado granular, de diez mil a cien mil metros cuadrados (Kinne, 1976).

Los mecanismos por los cuales se retiene el carbono orgánico disuelto no están del todo definidos. Diversos procesos se desarrollan para finalmente reducir su cantidad. La filtración mecánica y bacteriológica se lleva a cabo conjuntamente con la adsorción, lo que dificulta discernir cómo sucede la reducción de carbono orgánico disuelto en el agua de cultivo por medio del carbón activado. Según Spotte (1979a), los factores que limitan la adsorción son: 1) la transferencia de la materia adsorbida hacia el carbón activado; 2) tiempo de contacto; 3) concentración y configuración de la materia adsorbida; 4) tamaño de las partículas, tamaño del orificio del poro y selectividad del carbón activado, y 5) la presencia de una matriz biológica sobre las partículas de carbono orgánico disueltas. La temperatura y el pH no se consideran, pues estos factores se mantienen en un rango en función de los organismos cultivados.

Tchobanoglous (1972) divide el proceso de adsorción en tres etapas: 1) la transferencia de la materia adsorbida por la fase del agua y la matriz biológica formada por las bacterias; 2) difusión por los poros del carbón activado, y 3) la formación de enlaces químicos entre la materia adsorbida y el carbón activado.

El tiempo de contacto entre el carbono orgánico disuelto y el carbón activado debe ser suficiente como para que se lleve a cabo la transferencia. Este proceso se

puede incrementar disminuyendo la velocidad del flujo de agua.

Se adsorbe una mayor cantidad de carbono orgánico disuelto por unidad de tiempo conforme esté más diluido el soluto. Esto significa que se favorece la retención de los solutos en bajas concentraciones. Asimismo, la configuración de una molécula determina la velocidad con que es adsorbida; ya que entre más ramificada, será más lentamente adsorbida que una molécula de idéntico peso molecular pero más compacta. El tamaño de las partículas en relación al tamaño del orificio, también afecta la velocidad de adsorción: entre menor sea su tamaño, más rápido se efectúa el proceso.

La matriz biológica que se forma por la actividad de las bacterias alrededor de las partículas, interfiere con la transferencia, y aún después de agotada la capacidad de adsorción, continúa la disminución del carbono orgánico disuelto por la actividad de las bacterias heterótrofas.

2.2.1. Diseño y mantenimiento

El filtro de carbón activado debe ir colocado después del filtro bacteriológico y preceder cualquier equipo para desinfectar. De esta forma se disminuye la cantidad de carbono orgánico disuelto por la mineralización de bacterias, prolongado el período de actividad del carbón activado.

El carbón activado se debe cambiar periódicamente porque conforme pasa el

tiempo se satura. Por esta razón se debe diseñar un recipiente que permita cambiarlo fácilmente. La única forma de saber con seguridad cuándo se debe cambiar es midiendo la cantidad de carbono orgánico disuelto. Otra forma, que es cualitativa y más sencilla, es utilizar un tinte orgánico que se hace pasar por el filtro de carbón activado. Si el agua conserva la coloración que da el tinte, se debe a que el carbón activado está totalmente saturado.

Spotte (1979a) recomienda utilizar un gramo de carbón activado por cada litro del volumen total del sistema y reemplazarlo cada ocho semanas.

Para sistemas de cultivo de 500 litros o menos (fig. 7), se utiliza un recipiente que contiene una capa superior de fibra de vidrio para retener el carbón activado, la cantidad suficiente de carbón activado en función del sistema, y una placa de PVC o plástico perforada para permitir el flujo del agua.

Spotte (1979a) propone un diseño para acuarios de aproximadamente 750 litros, que se construye con un tubo de PVC donde se coloca el carbón activado (fig. 8).

En el extremo por el que el agua sale se coloca fibra de vidrio, una placa perforada o tela de mosquitero para evitar que se succione el carbón activado. Las tapas que van en los extremos se perforan para colocar niples con roscas donde se insertan mangueras flexibles que en sus otros extremos van unidas a válvulas. Este

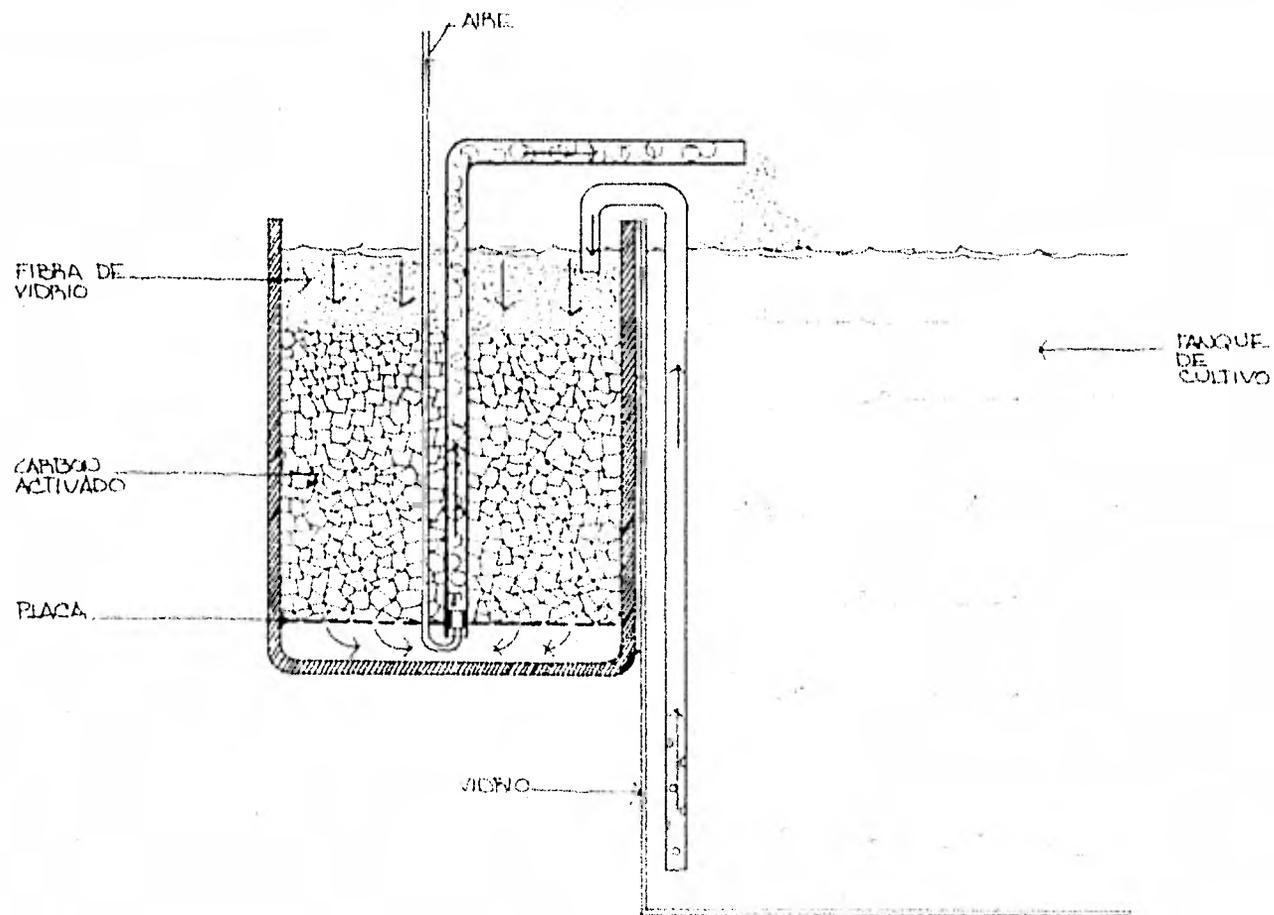
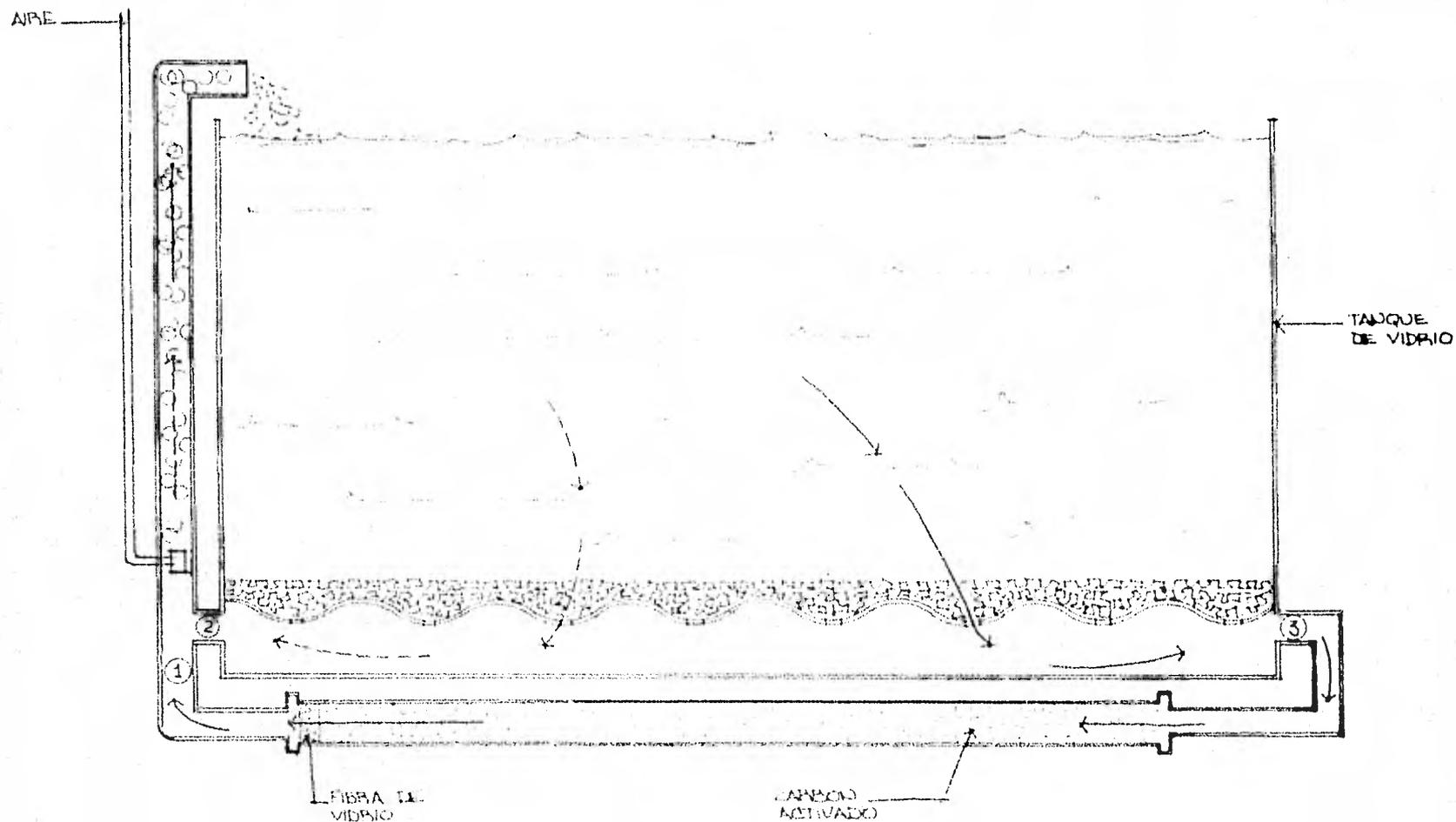


FIGURA 7 FILTRO DE CARBONO ACTIVADO PARA SISTEMAS DE AGUAS DE 500 LITROS



—————> FILTRACION A TRAVES DEL FILTRO BACTERIOLOGICO-MECANICO Y CARBON ACTIVADO
(VALVULAS 1 y 3 ABIERTAS y 2 CERRADA)

- - - - -> FILTRACION SOLO A TRAVES DEL FILTRO BACTERIOLOGICO-MECANICO
(VALVULAS 1 y 3 CERRADAS y 2 ABIERTA)

(MODIFICADO DE SPITTE 1979a)

FIGURA 8 SISTEMA DE ADSORCION PARA ACOMODAR DE APROXIMADAMENTE 750 LITROS

arreglo permite cambiar con facilidad el carbón activado sin detener la filtración bacteriológica mecánica.

2.3 Método de separación por espuma

Con este método, la adsorción se lleva a cabo en la interfase formada por el agua y un gas, que en este caso es una burbuja de aire que queda cubierta por el carbono orgánico disuelto. No sólo se adsorben sustancias con superficies activas, sino también sustancias sin superficies activas que se combinan químicamente con las primeras (Rubin y col., 1963). Además, la separación por espuma asegura un intercambio gaseoso adecuado y ayuda a estabilizar el pH al retirar sustancias ligeramente ácidas del medio (Kinne, 1976).

La eficiencia de una columna de separación por espuma, depende básicamente del tamaño de las burbujas y del tiempo de contacto entre éstas y el agua (Spotte, 1979a).

Sander (1967) diseñó diferentes columnas de separación para su utilización en acuarios (figs. 9 y 10).

En el primer diseño (fig. 9) se inyecta aire proveniente de un compresor, a un difusor produciéndose burbujas que ascienden por la columna adsorbiendo el carbono

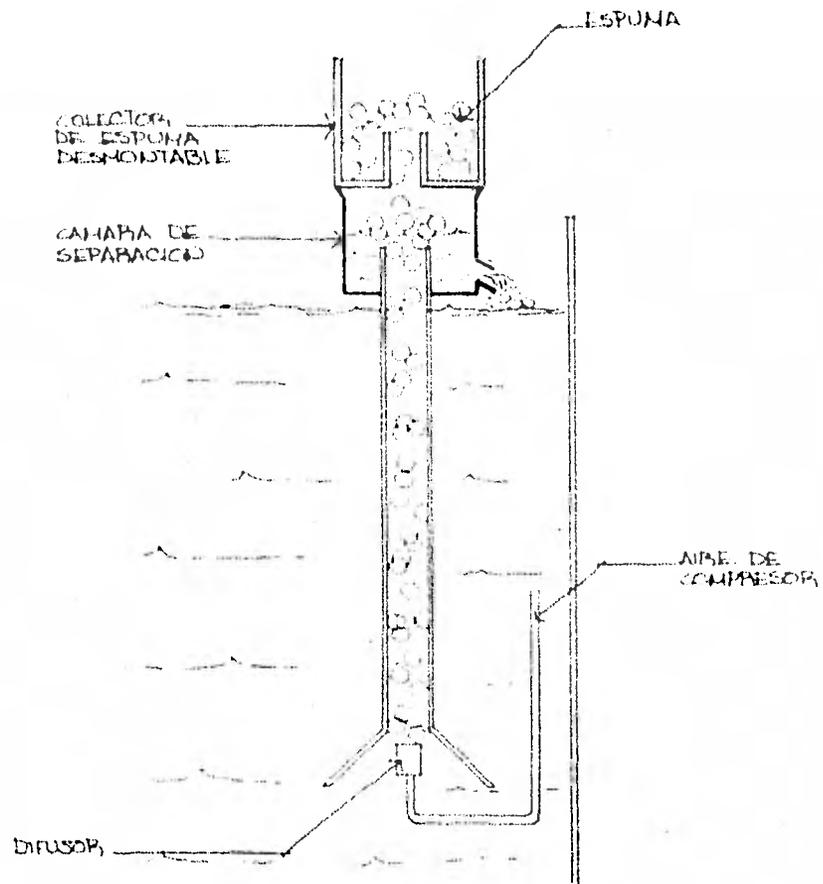


FIGURA 9 SEPARACION POR ESPUMA (MODIFICADO DE SADDER, 1967)

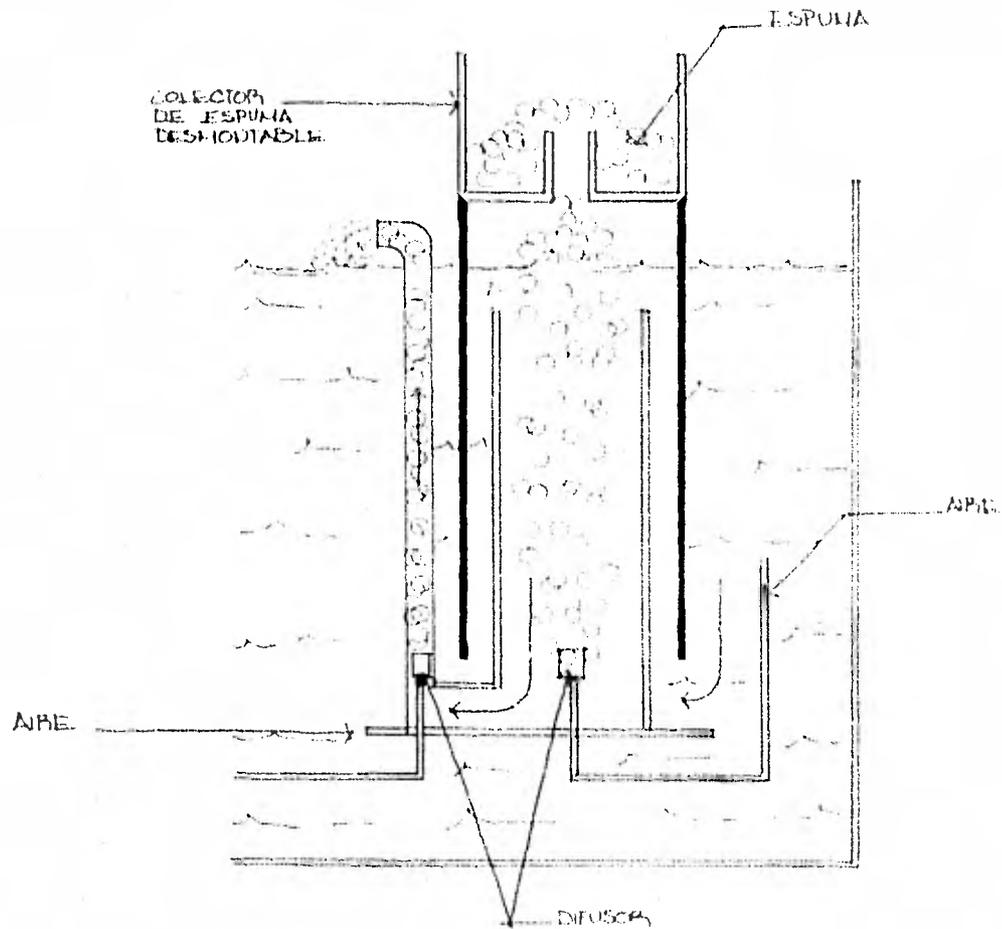


FIGURA 10 SEPARACION POR ESPUMA CON UNA CONTRACORRIENTE PARA AUMENTAR EL TIEMPO DE CONTACTO (MODIFICADO DE SAUDEB, 1967)

orgánico disuelto. Se forma espuma en la interfase agua-aire que se colecta en un re ci pi en te de s mo nt ab l e para poder desecharla.

En el segundo diseño (fig. 10) se utiliza una bomba de aire para producir una corriente que fluya en dirección opuesta al ascenso de las burbujas con el objeto de aumentar el tiempo de contacto.

Se debe evitar la turbulencia dentro de la columna. Para esto se utiliza una columna con una superficie totalmente uniforme en el interior y de un diámetro suficientemente amplio, para que no haya choques entre las burbujas y la pared interior de la columna. De manera que la espuma se forme hacia el centro para después colectarse en las orillas. No debe inyectarse demasiado aire con el fin de evitar la turbulencia en la interfase agua-aire que provocaría un colapso de la espuma antes de po de r se r co l ec t a d a.

CAPITULO III
CONTROL DE LA DENSIDAD DE MICROORGANISMOS
EN EL AGUA DE CULTIVO

3.1 Generalidades

Cerca de la superficie de los océanos abiertos se encuentran densidades muy bajas de bacterias que oscilan entre 0 a 1 bacterias por ml. En las costas, en ausencia de contaminantes, las densidades de bacterias oscilan entre 10 a 200 por ml. Si esta agua es llevada al laboratorio, invariablemente las densidades de bacterias aumentan considerablemente. En 24 horas puede haber un millón por ml (Eagleton y Herald, 1968). En los sistemas cerrados la alta densidad de organismos cultivados y la consecuente acumulación de materia orgánica, favorecen el crecimiento de las poblaciones de microorganismos. Para controlarlas se aplican rayos ultravioleta u ozono, métodos que desinfectan el agua. En este trabajo, para fines prácticos, se entiende por desinfección mantener la densidad de microorganismos a niveles que no perjudiquen a los organismos cultivados.

Los rayos ultravioleta y el ozono son útiles para desinfectar el agua cuando

hay graves enfermedades epizooticas; también se emplean en el tratamiento rutinario del agua que se utiliza para mantener organismos muy delicados que no pueden ser tratados con agentes quimioterapéuticos, y para prevenir la introducción de microorganismos patógenos con el agua de abastecimiento. Es dudoso que la desinfección rutinaria por medio de rayos ultravioleta u ozono sea de provecho para el mantenimiento del agua de un sistema cerrado. La desinfección representa en el mejor de los casos, un auxiliar en el control de enfermedades (fig.11). Al utilizar uno u otro método se logra reducir la densidad de microorganismos flotantes, pero no se actúa en organismos infecciosos o parásitos adheridos a los organismos huéspedes. Por esta razón la desinfección es útil para prevenir la reinfección, pero no es sustituto de antibióticos u otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de enfermedades (Spotte, 1979a).

De los métodos mencionados los rayos ultravioleta se utilizan preferentemente, ya que su diseño, operación y mantenimiento son más sencillos; también porque su costo inicial y de operación es mucho menor. Además, es posible conocer, y por lo tanto controlar, la dosis de radiación, mientras que no hay un método preciso para conocer la concentración de ozono y resulta muy difícil mantener constante su concentración en solución (Spotte, 1979b).

Herald y col. (1970) compararon un sistema en que se obtenía una reducción del 98% en la densidad de bacterias con la utilización de rayos ultravioleta, con un

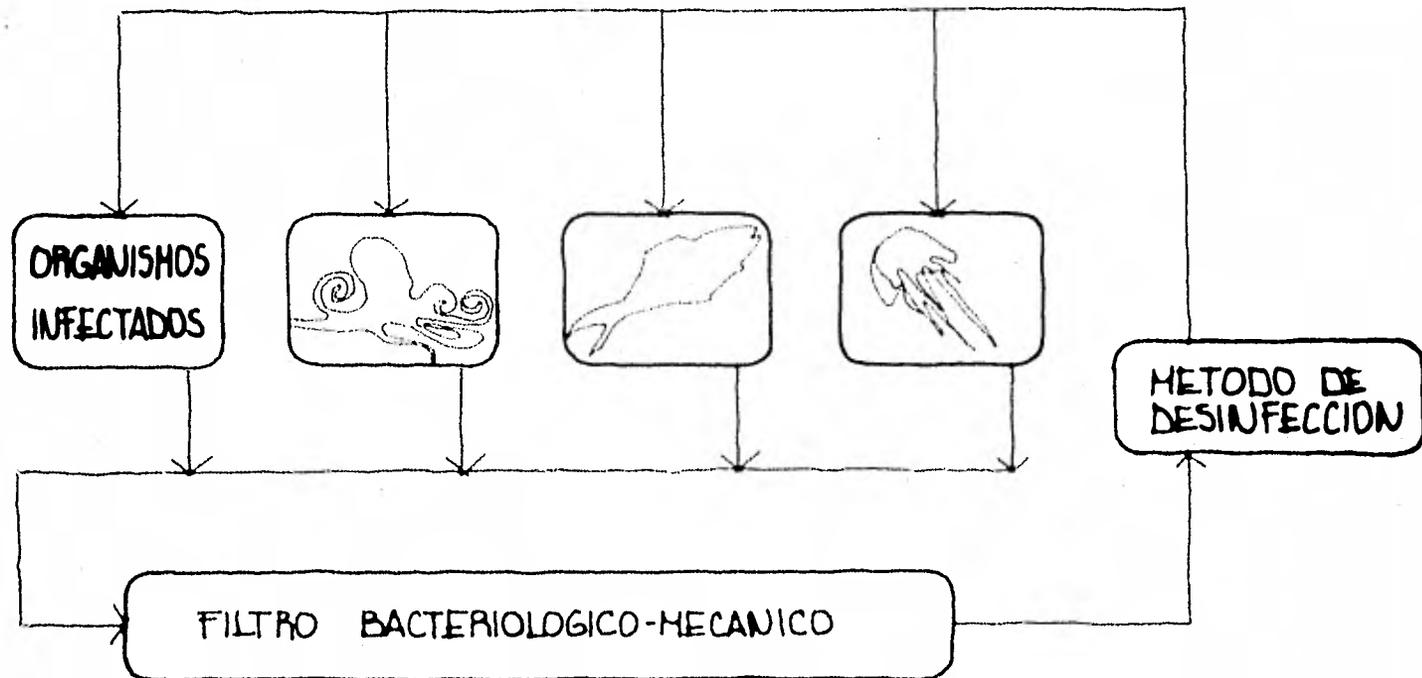


FIGURA 11 SISTEMA QUE INCORPORA UN METODO DE DESINFECCION QUE EVITA SE DISEÑE LA INFECCION A LOS DEJAS ACUARIOS

sistema que no contaba con equipo de desinfección, y por lo tanto con una alta densidad de bacterias. Estos autores observaron que en ambos casos había la misma tasa de mortalidad. Lo que los llevó a concluir que organismos sanos, en acuarios no superpoblados, con la filtración y aereación adecuada pueden vivir satisfactoriamente aún con altas densidades de bacterias. También advierten sobre el peligro de que se formen variedades resistentes a los rayos ultravioleta por su uso continuo.

Spotte (1979b) recopila y analiza la información sobre la utilización de ozono para desinfectar el agua de mar, señalando que es un proceso todavía no estudiado lo suficiente. El argumento más fuerte en contra de la utilización de ozono consiste en que éste produce sustancias tóxicas que son mutagénicas o letales. Por estas razones, a continuación sólo se tratará la desinfección por rayos ultravioleta.

3.2 Método de rayos ultravioleta

Los rayos ultravioleta ocupan la porción del espectro electromagnético ubicado entre la luz visible y los rayos X, esto es, entre los 136 y 4000 anstroms (Å) (Herald y col., 1970). Esto significa que los efectos más destructivos o mortales de los rayos ultravioleta sobre bacterias, hongos, virus y otros pequeños organismos, están en función de la longitud de onda, siendo la más efectiva a 2600 Å (fig. 12). A cualquier lado de este valor la efectividad disminuye considerablemente (Wheaton,

PORCENTAJE
DE MÁXIMA
EFECTIVIDAD

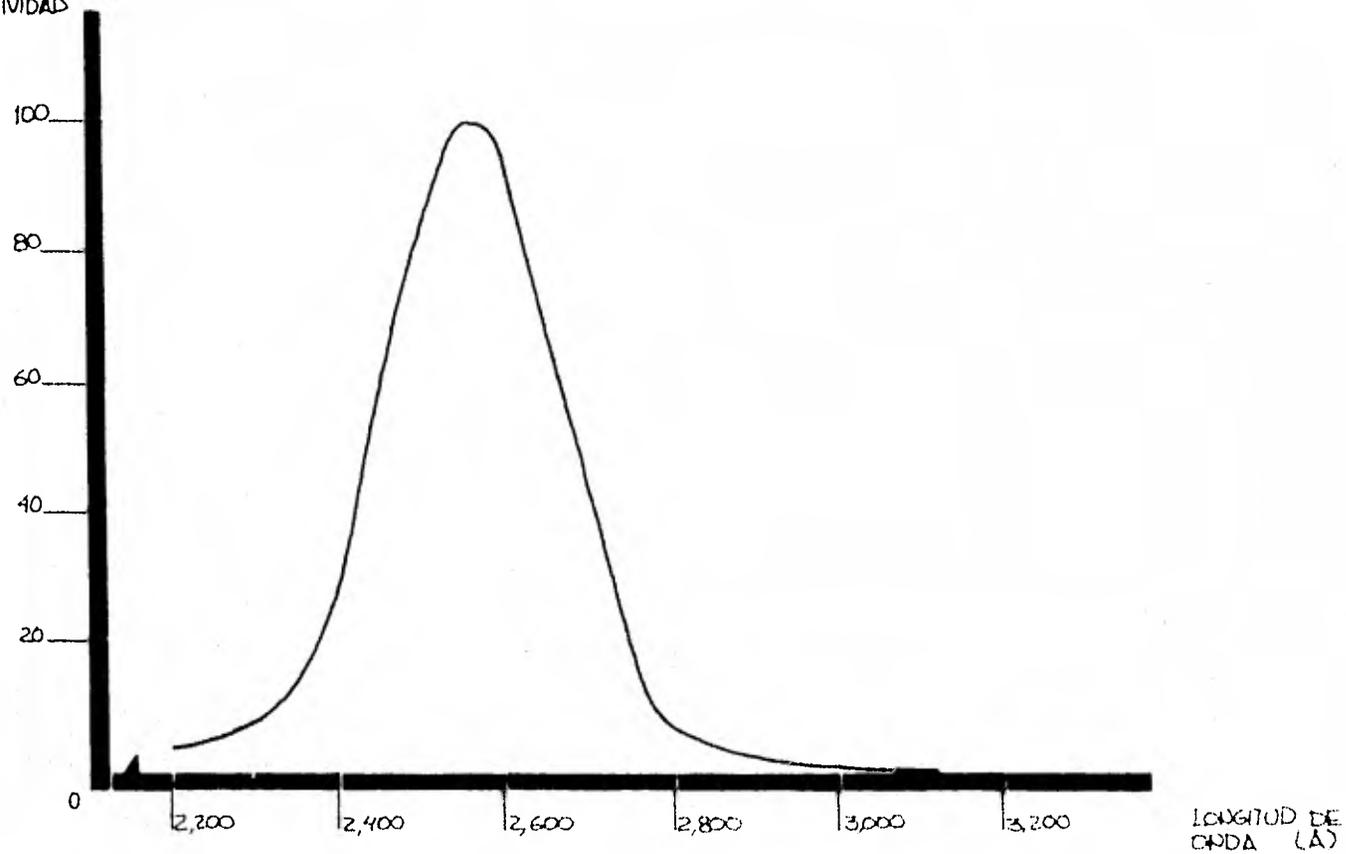


FIGURA 12 LA EFECTIVIDAD RELATIVA BACTERICIDA DE LA LUZ UV EN FUNCION DE LA LONGITUD DE ONDA
(REDIBUJADO DE WHEATON 1977)

1977).

Los rayos ultravioleta tienen efectos mortales directamente sobre los organismos al inactivar el DNA dentro de las células, o indirectamente al producir cambios químicos en el agua dando lugar a sustancias tóxicas. La resistencia de las bacterias varía no sólo entre especies, sino entre las variedades de una misma especie (Herald, 1979; Spotte, 1979b). Según Spotte (1979a), la efectividad de los rayos ultravioleta depende de: 1) el tamaño del organismo; 2) la cantidad de radiación generada, y 3) la penetración de los rayos ultravioleta en el agua.

En general, entre más grande sea el organismo, más resistente será a las radiaciones. Spotte (1973), recomienda un mínimo de 35000 $\mu\text{W}/\text{seg}/\text{cm}^{-2}$ (microwatts por segundo por centímetro cuadrado de la lámpara) para desinfectar el agua de mar de virus, hongos y protozoarios pequeños. Para protozoarios de mayor tamaño se puede llegar a requerir una dosis de hasta 400,000 $\mu\text{W}/\text{seg}/\text{cm}^{-2}$.

La capacidad de penetración de los rayos ultravioleta es afectada adversamente por la turbiedad, iones en solución y material orgánico disuelto. Probablemente no pueden penetrar más allá de 5 cm en condiciones ideales (Spotte, 1979a).

3.2.1 Diseño y mantenimiento

El sistema de rayos ultravioleta debe ser colocado después del filtro bacte-

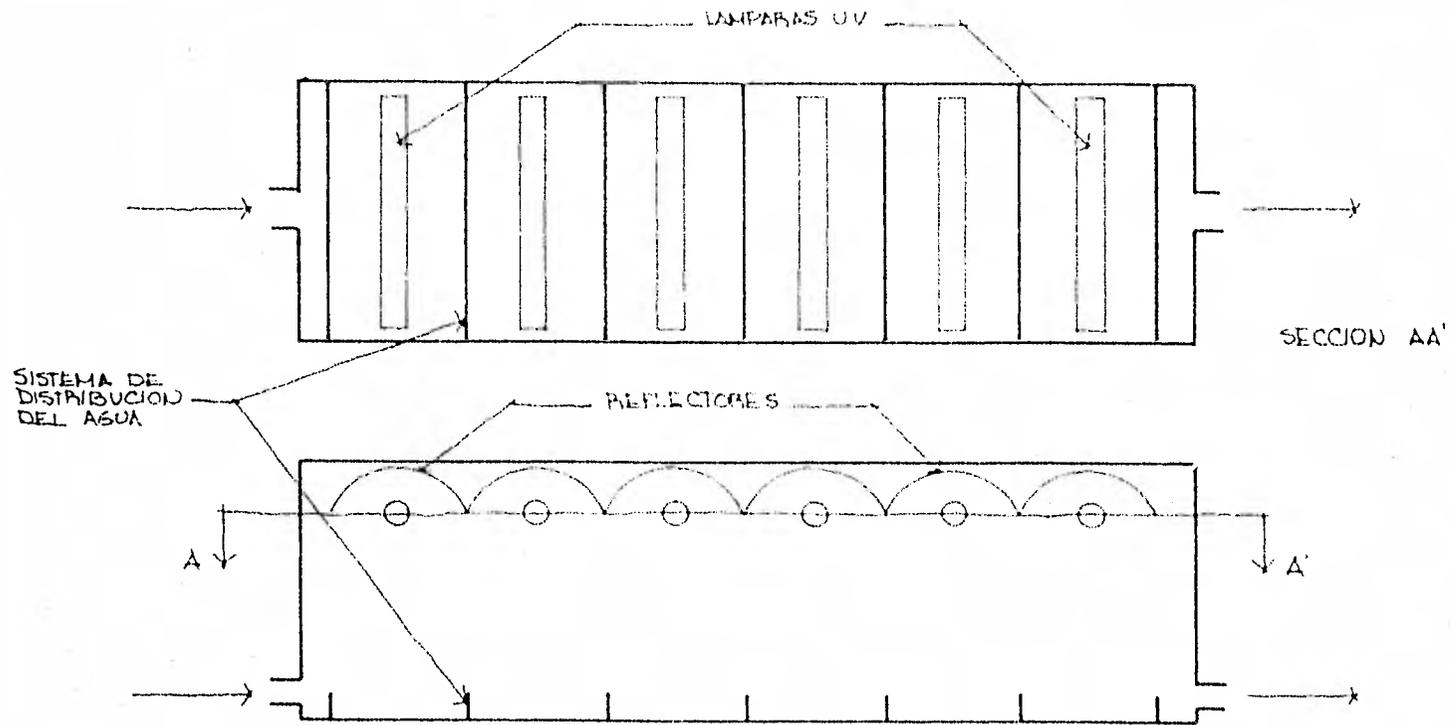


FIGURA 13 SISTEMA DE DESINFECCION CON PAVOS ULTRAVIOLETA (WHEATON, 1977)

riológico y de los sistemas de adsorción, debido a que las partículas y material orgánico disuelto afectan adversamente la desinfección.

La desinfección por rayos ultravioleta sólo será de utilidad si el sistema en su totalidad está diseñado de tal manera que no queden zonas estáticas sin formar parte del patrón de flujo normal (Herald y col., 1970). Esto significa, que todo el volumen de agua debe ser tratado con la misma periodicidad.

Las lámparas que producen cantidades significativas de rayos ultravioleta contienen vapor de mercurio. Al pasar una corriente eléctrica por el vapor se excitan los átomos de mercurio a diferentes estados de energía. Conforme los átomos regresan a sus estados de menor energía se despiden radiaciones de longitud de onda definida. Hay lámparas de alta y baja presión, siendo las primeras las que se utilizan más, debido a su costo menor y a que aproximadamente al 95% de la radiación emitida se encuentra en un rango alrededor de los 2537 Å. Hay tres tipos de lámparas de alta presión: cátodo candente, cátodo frío y de alta intensidad. Esta última es la que produce más rayos ultravioleta y es la más utilizada para la desinfección del agua (Wheaton, 1977; Spotte, 1979b).

Existen dos tipos de sistemas de radiación de rayos ultravioleta: el primero consta de una serie de lámparas ultravioleta y reflectores suspendidos sobre una charola de poca profundidad por donde se hace fluir el agua (fig. 13). Generalmente se

colocan a una altura de 10 a 20 cm, porque si están demasiado cerca, la intensidad de la radiación variará en diferentes puntos del sistema y se pueden salpicar con agua de mar creando problemas de mantenimiento. El diseño debe considerar la intensidad de las lámparas utilizadas conjuntamente con los siguientes parámetros básicos: profundidad del agua, calidad de la misma, distancia de la lámpara al agua, separación de una lámpara a otra y la velocidad de flujo del agua (Wheaton, 1977).

La principal ventaja de este tipo de sistema radica en que las lámparas operan suspendidas en el aire, por lo que la temperatura del agua no las afecta; además, se facilita su limpieza (Wheaton, 1977).

El segundo tipo consta de lámparas que están sumergidas o rodeadas de agua (fig. 14). Este sistema es mejor que el anterior porque ocupa menos espacio y los parámetros a considerar pueden ser controlados y determinados con mayor precisión para obtener un grado de eficiencia más alto (Spotte, 1979b). Las lámparas se colocan dentro de una cubierta de cuarzo que permite el paso de un alto porcentaje de rayos ultravioleta a la vez que funcionan a su temperatura óptima y es más fácil cambiarlas.

Herald y col. (1970) encontraron que la penetración de las radiaciones está en función de la temperatura. Una lámpara en contacto con el agua funcionará a su máxima eficiencia si la temperatura es de 40.5°C. Si se reduce a 21°C funcionará con el 50% de su máxima eficiencia. Al utilizar la cubierta de cuarzo existe una capa de

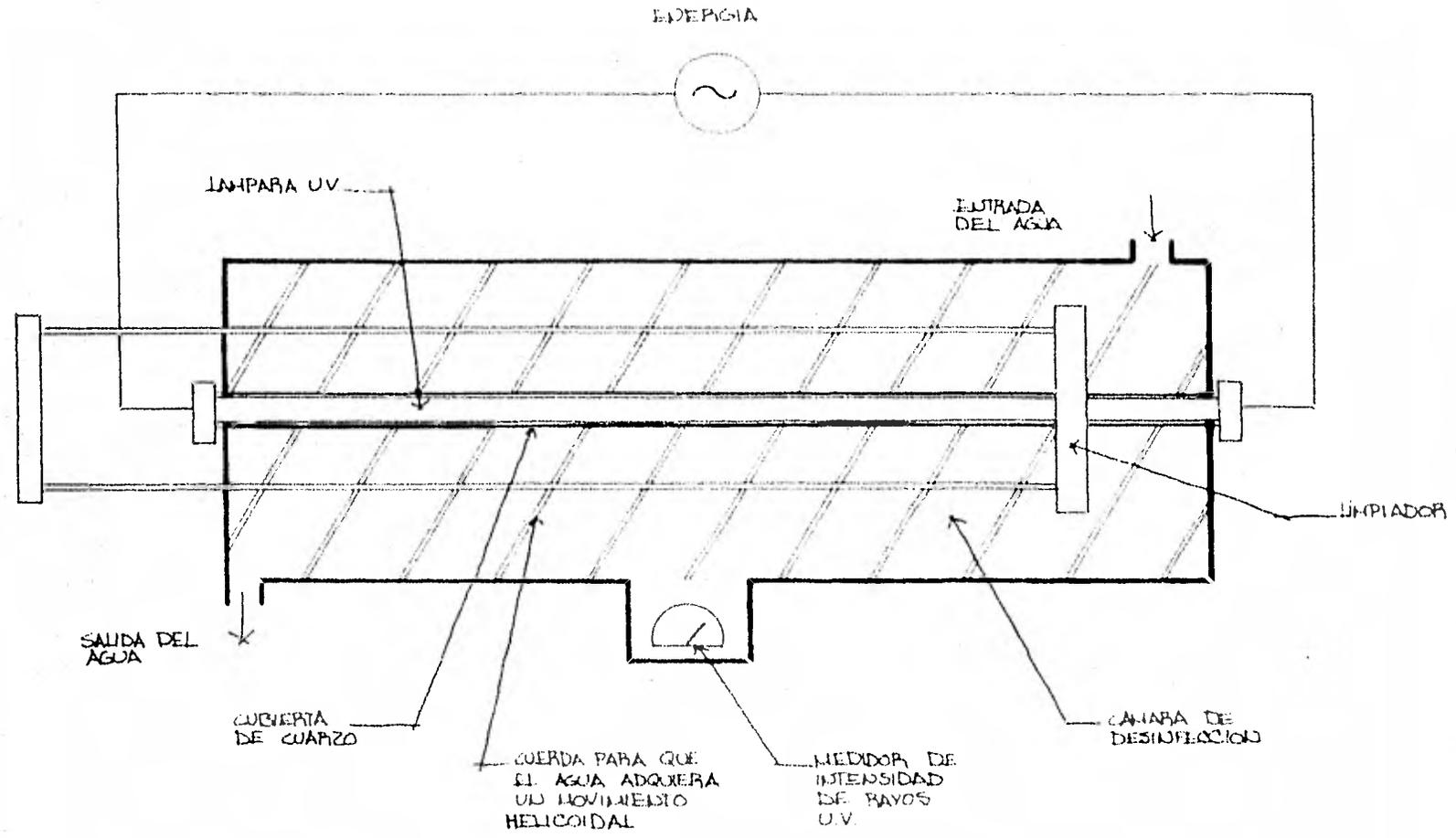


FIGURA 14 SISTEMA DE DESINFECCION POR RAYOS U.V.

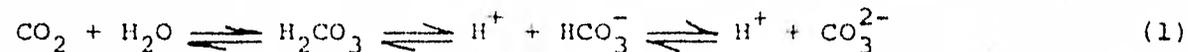
aire que actúa como aislante y permite el funcionamiento de las lámparas a su temperatura óptima. Resulta más conveniente que el agua tenga una trayectoria helicoidal dentro de la cámara de desinfección para que se logre un mayor tiempo de contacto. Es necesario equipar el sistema de rayos ultravioleta con un medidor de intensidad para conocer con precisión la dosis y saber cuándo ha dejado de funcionar la lámpara. Además, resulta de gran utilidad colocar medidores y regulares de flujo para determinar con exactitud la dosis aplicada de rayos ultravioleta. Se coloca un limpiador para quitar la capa que se forma sobre la cubierta de cuarzo que obstruye las radiaciones. Para limpiar la totalidad del sistema en su interior se colocan válvulas que permiten llenar la cámara de desinfección con ácido clorhídrico al 20% durante media hora y después lavarlo con agua corriente durante 15 minutos.

CAPITULO IV

TENDENCIA HACIA LA ACIDEZ DEL AGUA DE CULTIVO

4.1 Generalidades

En el océano abierto los valores de pH oscilan entre 7.5 y 8.4. La estabilidad del pH se debe a que el bióxido de carbono interactúa con el agua formando un sistema buffer. Wheaton (1977) describe el fenómeno de la siguiente manera: parte del CO_2 disuelto en el agua se encuentra como ácido carbónico, que es un ácido débil que reacciona con minerales que contienen carbonato, tales como las calizas (CaCO_3), para formar bicarbonato de calcio ($\text{Ca}(\text{HCO}_3)$). El bicarbonato se disocia formando iones hidrógeno y iones carbonato. De aquí que el bióxido de carbono en solución se encuentre formando parte de un conjunto de reacciones en equilibrio representadas en la siguiente ecuación:



De este modo el bióxido de carbono se encuentra en cuatro formas: como gas li

bre CO_2 , ácido carbónico H_2CO_3 , radical bicarbonato HCO_3^- , o radical carbonato CO_3^{2-} . Las reacciones descritas son sensibles y dependientes del pH de la solución, tienden hacia la izquierda si el pH aumenta o hacia la derecha si el pH disminuye. Si se aña de un ácido a la solución, se aumenta la concentración de iones hidrógeno. La reacción parcial (2) permanece equilibrada porque ambos lados contienen H^+ .



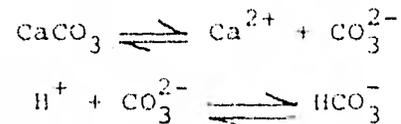
La reacción parcial (3) tiende hacia la izquierda para balancear la nueva concentración de H^+ .



Debido a que aumenta la concentración de ácido carbónico la reacción parcial (4) también tiende hacia la izquierda, aumentando la cantidad de bióxido de carbono en el agua.

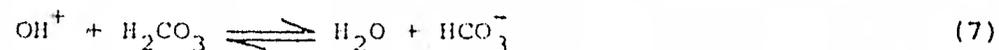


Como consecuencia de la reacción (3) se reduce la cantidad de HCO_3^- . Sin embargo, la concentración de bicarbonato no disminuye cuando hay depósitos de carbonato.



El resultado total de estas reacciones es que la mayoría de los iones H^+ del

ácido se han combinado formando H_2O , H_2CO_3 , y HCO_3^- , razón por la cual el pH se mantiene estable. Reacciones similares ocurren cuando se agrega una base:



En los sistemas cerrados siempre se da una tendencia hacia la acidez (Atz, 1964). La oxidación biológica supera la reducción, teniendo como consecuencia una disminución en la alcalinidad y el pH. La mineralización de compuestos orgánicos y la nitrificación son los procesos de mayor importancia en la formación de ácidos por la actividad bacteriológica (Spotte, 1979a).

El aumento de CO_2 debido a la respiración aerobia de los organismos disminuye el pH, porque el conjunto de reacciones (1) tiende hacia la derecha. Los altos niveles de nitratos y fosfatos que se acumulan afectan al pH y la alcalinidad. Los nitratos son el resultado de la nitrificación del filtro bacteriológico y los fosfatos de la lisis de las células muertas durante la descomposición heterótrofa de compuestos orgánicos. La formación de nitratos y la oxidación de sulfuro disminuyen el pH y la alcalinidad, mientras que la reducción de sulfato y la disimilación los aumentan. Como resultado del alto nivel de nutrientes acumulados disminuye la alcalinidad, o sea la capacidad buffer del sistema (Spotte, 1979b).

4.2 Mantenimiento

Una fuerte tendencia a la acidez del sistema indica un manejo inadecuado de alguna de sus partes. Se puede deber a una densidad muy alta de organismos, alimento no consumido que se descompone, a una filtración bacteriológica deficiente y/o acumulación de carbono orgánico disuelto, con el consecuente aumento de la densidad de bacterias.

Un manejo adecuado implica no sólo controlar el pH, sino también la capacidad buffer del sistema, es decir, la alcalinidad. Porque puede suceder que se esté manteniendo el pH constante sin advertir la disminución de la alcalinidad. Esto significa que conforme pasa el tiempo, disminuye la capacidad buffer y pueden sobrevenir cambios bruscos en el pH. Spotte (1979b), recomienda que la alcalinidad debe permanecer entre 2.1 y 2.5 meql⁻¹ y el pH entre 8 y 8.3. Los límites mínimos aceptables son 2.1 meql⁻¹ para la alcalinidad y 8 para el pH.

Spotte (1979b) describe las técnicas utilizadas para el control del pH y la alcalinidad: 1) utilización de grava calcárea en el filtro bacteriológico; 2) adición periódica de hidróxido de sodio, carbonato de sodio o bicarbonato de sodio; 3) cultivo de algas y/o 4) cambios parciales de agua.

La técnica más empleada para el control del pH es la utilización de grava cal

cárea como parte del filtro bacteriológico. Los materiales que contienen carbonato de calcio, tales como dolomita, calcita, conchas de bivalvos y restos de corales son los que se utilizan como grava en el filtro. Siddall (1974) indica que no se debe confiar solamente en esta técnica para el mantenimiento del pH. La solubilidad de los minerales que contienen carbonatos varía según su composición e historia geológica reciente y puede ser retardada por la presencia de carbono orgánico y magnesio disueltos (Spotte, 1979a).

La adición periódica de hidróxido de sodio (NaOH), bicarbonato de sodio (NaHCO_3) o carbonato de sodio (Na_2CO_3) es de gran utilidad para controlar el pH y la alcalinidad. En sistemas cerrados con altas densidades de organismos se ha mantenido un pH estable a lo largo de un año con la adición de hidróxido de sodio (Siddall, 1974). Según Spotte (1979b) el bicarbonato de sodio es el material más seguro para ser utilizado en el control del pH y la alcalinidad. El sodio, siendo el catión predominante en el agua de mar, puede agregarse al sistema durante largos períodos sin alterar el equilibrio de los cationes. Este autor calculó las cantidades requeridas de NaHCO_3 para elevar el pH a 8.2 a diferentes valores iniciales de pH y temperatura (cuadro 2).

Spotte (1979a) recomienda cambios parciales del 10% del volumen total cada dos semanas como otra forma de ayudar a estabilizar el pH.

pH Inicial	Temperatura °C			
	10	15	20	25
7.5	0.144	0.133	0.127	0.117
7.6	0.135	0.125	0.119	0.110
7.7	0.124	0.115	0.110	1.101
7.8	0.110	0.102	0.0974	0.0896
7.9	0.0917	0.0854	0.0815	0.0751
8.0	0.0685	0.0640	0.0611	0.0562
8.1	0.0385	0.0363	0.0346	0.0317

Cuadro 2. Cantidad de NaHCO_3 (gl^{-1}) que se necesitan para elevar el pH de un acuario marino a 8.2 a diferentes temperaturas ($\text{Cl} = 19^\circ/000$). (Tomado de Spotte, 1979b)

El cultivo de algas representa otro medio de controlar el pH debido a la utilización del CO_2 durante la fotosíntesis. Esta técnica resulta demasiado complicada porque es necesario controlar el crecimiento de las algas, lo que implica regular procesos fisiológicos que están determinados por una diversidad de factores.

Finalmente, la mejor forma de controlar el pH y la alcalinidad es combinando la utilización de grava calcárea, con adiciones periódicas de bicarbonato de sodio y cambios parciales del agua.

CAPITULO V

RECOMENDACIONES ACERCA DE COMO DISEÑAR Y
MANTENER UN SISTEMA CERRADO5.1 Materiales para la construcción

La utilización de materiales inertes, tales como pinturas epóxicas, fibra de vidrio, acrílicos, silicones, etc., ha permitido el avance en la construcción de sistemas cerrados. Debido a la capacidad del agua de disolver una variedad de sustancias tóxicas y a la alta sensibilidad de los organismos acuáticos a éstas, la única forma de mantener la calidad del agua es usando materiales químicos inertes en todo el sistema (Atz, 1964). No se deben utilizar metales debido a su alta toxicidad y a que se presentan problemas de corrosión (Chin, 1959), aún cuando no estén en contacto directo con el agua, como es el caso de llaves u otras estructuras metálicas. El cobre, por ejemplo, con sólo dos partes en cien millones de agua es altamente tóxico (Atz, 1970).

Los efectos tóxicos de los materiales no siempre son mortales, como por ejemplo en el caso de un cultivo de los estadios juveniles de langosta Panulirus interrup-

tus en el que se descubrió que, debido a los materiales plásticos utilizados, se daba una muy reducida tasa de crecimiento (Serfling, 1975). Por lo tanto, se sugiere que todos los materiales se deben usar con precaución, hasta tener la certeza de que son inertes, pues, de lo contrario, se acumularían las sustancias tóxicas.

En un principio, el concreto era uno de los materiales más comúnmente utilizados para la construcción de tanques, pero ya no se lo recomienda porque al estar fresco produce una fuerte alcalinización del agua y tarda aproximadamente cuatro meses en "curarse" (Plessis, 1964). Además, las estructuras construidas con este material no pueden desplazarse en caso de que sea necesario, por lo tanto, se pierde la versatilidad que requiere el manejo de estos sistemas.

El vidrio es un material inerte de gran utilidad porque permite la observación y se une firmemente con silicón, la única desventaja es su fragilidad. También se pueden usar acrílicos transparentes que permiten la observación pero la superficie de estos se raya fácilmente. El material ideal es la fibra de vidrio por ser resistente, moldeable, flexible y liviano. Se puede construir la estructura básica de fibra de vidrio y acoplar a alguna de sus caras vidrio para la observación. Para disminuir los costos se puede utilizar madera terciada de alta densidad cubierta de pintura epóxica.

Siempre que se tenga duda acerca de los materiales que pueden entrar en con-

tacto con el agua se les debe aplicar un bioensayo. King y Spotte (1974) proponen uno que se basa en el desarrollo de las larvas de erizo; porque los individuos adultos se consiguen fácilmente, su mantenimiento es sencillo, los gametos se producen todo el año y son fáciles de obtener, el ciclo de fertilización está bien estudiado y, finalmente, las larvas son extremadamente sensitivas a sustancias tóxicas aún en concentraciones muy pequeñas. El procedimiento a seguir es el siguiente: 1) para cada prueba y su testigo se prepara un litro de agua de mar artificial con sales sintéticas; 2) se remoja el material a probarse en un litro de agua de mar artificial durante 24 horas a una temperatura entre 20° y 30°C; 3) después de 24 horas se llena un matraz de 250 ml con 200 ml de agua como control y otro con 200 ml para la prueba; 4) los gametos se obtienen inyectando 0.1 a 0.3 ml de una solución 0.5 M de KCl en la cavidad corporal a través de la membrana peristomial que está alrededor de la boca. También se pueden obtener aplicando una descarga eléctrica de 10 volts utilizando un transformador. Este segundo método daña menos a los organismos; 5) los gametos son expulsados por los gonoporos. El esperma es blanco y los huevos pueden ser amarillos, rojos o cafés, según la especie; 6) se agrega 0.026 ml de la solución de esperma a los matraces con 200 ml de agua de mar artificial, se agitan y se dejan reposar cinco minutos; 7) se agrega 0.15 ml de la suspensión de huevos y se vuelve a agitar; 8) después de tres minutos se revisa cada muestra para comprobar la fertilización; 9) las muestras se revisan a las 2, 12, 24 y 48 horas. Esto corresponde a la etapa de cuatro células, blástula, gástrula y pluteus respectivamente. La evaluación se hace en

función de si se da o no un desarrollo normal. Si los huevos no son fertilizados, si hay desarrollo anormal o si los estadios posteriores presentan anomalías morfológicas, el material probado no debe utilizarse.

5.2 Utilización de agua de mar natural o artificial

El agua para iniciar el cultivo puede provenir de un cuerpo de agua natural o hacerse a partir de sales artificiales. En el primer caso se ha hecho una práctica común almacenarla en recipientes de materiales inertes en la oscuridad por unos meses antes de ser usada para el cultivo. Esto se debe a que se ha observado que se mejora la capacidad del agua para mantener organismos estenoplásticos. El agua de mar natural presenta la desventaja de que su calidad será muy variable a pesar de seguir los mismos procedimientos para colectarla y almacenarla. Por el contrario, si se utiliza agua de mar producida artificialmente, se conoce y controla su contenido químico, además de evitar la presencia de microorganismos o materia orgánica. Lo antedicho tiene gran importancia para la investigación porque permite reproducir las condiciones experimentales.

Siempre se debe contar con agua almacenada para el caso de una emergencia y para efectuar los cambios parciales que requiere el sistema. Estos cambios parciales ayudan a que no se concentren los nitratos, fosfatos, sulfatos y otras sustancias co-

loidales y orgánicas (Spotte, 1979a). Además, se reponen los elementos traza a la vez que se ayuda a mantener el pH (King y Spotte, 1974). Generalmente se cambia un 25% mensualmente; sin embargo, es más adecuado reemplazar un porcentaje menor con mayor frecuencia para evitar fluctuaciones que afecten a los organismos. Por ejemplo, reemplazar un 5% semanalmente.

También se debe considerar el volumen de agua a utilizar porque entre mayor sea más lentamente ocurrirán los cambios y, por lo tanto, será más fácil contrarrestarlos (Plessis, 1964; Breder, 1964).

Los tanques de cultivo deben tener una cubierta que evite la entrada de polvo y la pérdida de agua por evaporación.

5.3 Consideraciones finales

El mejor diseño de un sistema cerrado es aquel que comienza de la forma más sencilla y que permite modificaciones posteriores; la sencillez en la construcción y funcionamiento del sistema de cultivo da la posibilidad de identificar con mayor facilidad las causas de algún problema y su versatilidad permitirá solucionarlos. Lo cual significa, que el sistema podrá irse adaptando a las necesidades que surjan a lo largo del cultivo. De este modo se disminuyen los costos de construcción y operación al evitar gastos innecesarios.

Es conveniente que cada tanque de cultivo constituya una unidad independiente, o sea que cada uno esté provisto del equipo necesario para su mantenimiento, con el fin de evitar que alguna falla afecte a todos los cultivos. Para el tratamiento del agua, cada unidad deberá contar al menos con la filtración biológica para el control de los desechos nitrogenados y de alguna técnica que mantenga la estabilidad del pH.

En un sistema cerrado se establecen relaciones entre los organismos cultivados y los organismos que actúan en el filtro biológico, reproduciendo partes de las relaciones que se dan en los ecosistemas naturales. Esto nos lleva a entender un sistema cerrado no como un cultivo monoespecífico, sino multiespecífico, donde se deben dar relaciones equilibradas entre los organismos que lo conforman. Por esta razón, en el diseño y funcionamiento es indispensable tomar en cuenta los parámetros vitales de las especies que han de interactuar en dichas relaciones, para lograr el equilibrio de las mismas. Este equilibrio sólo se alcanzará con la constancia de los parámetros en su punto considerado como óptimo. Es decir, se deben evitar siempre los cambios bruscos en cualquiera de ellos; si es necesario hacer algún ajuste, debe ser en forma gradual para dar tiempo a que los organismos se adecúen a las nuevas condiciones.

En la cama de grava del filtro bacteriológico-mecánico se forma una comunidad de bacterias que utiliza como nutrientes y fuentes de energía las sustancias orgáni-

cas que resultan de los procesos metabólicos de los organismos cultivados. La quimio síntesis de las bacterias nitrificantes es el proceso bioquímico de mayor importancia para el mantenimiento de la calidad del agua en un sistema cerrado. A partir de los estudios de la actividad de las bacterias nitrificantes en un filtro biológico realizados por Honig (1934), Kawai y col. (1965), Forster (1974), Hirayama (1974), Siddall (1974), Srna (1975), entre otros, se han establecido las bases para el tratamiento del agua en un sistema cerrado con un método que mantiene circulando el agua al mismo tiempo que favorece el intercambio gaseoso y llevando a cabo simultáneamente filtración mecánica y biológica. Esto implica que el primer esfuerzo debe ser orientado a lograr la máxima eficiencia del filtro bacteriológico mecánico y sólo cuando no sea posible por este medio mantener la calidad del agua para el cultivo, se introducen otras formas que ayuden a ello, como ser equipos de adsorción y/o de desinfección. Los métodos de tratamiento del agua del cultivo se colocan en serie y preferentemente en el orden indicado en la figura 15.

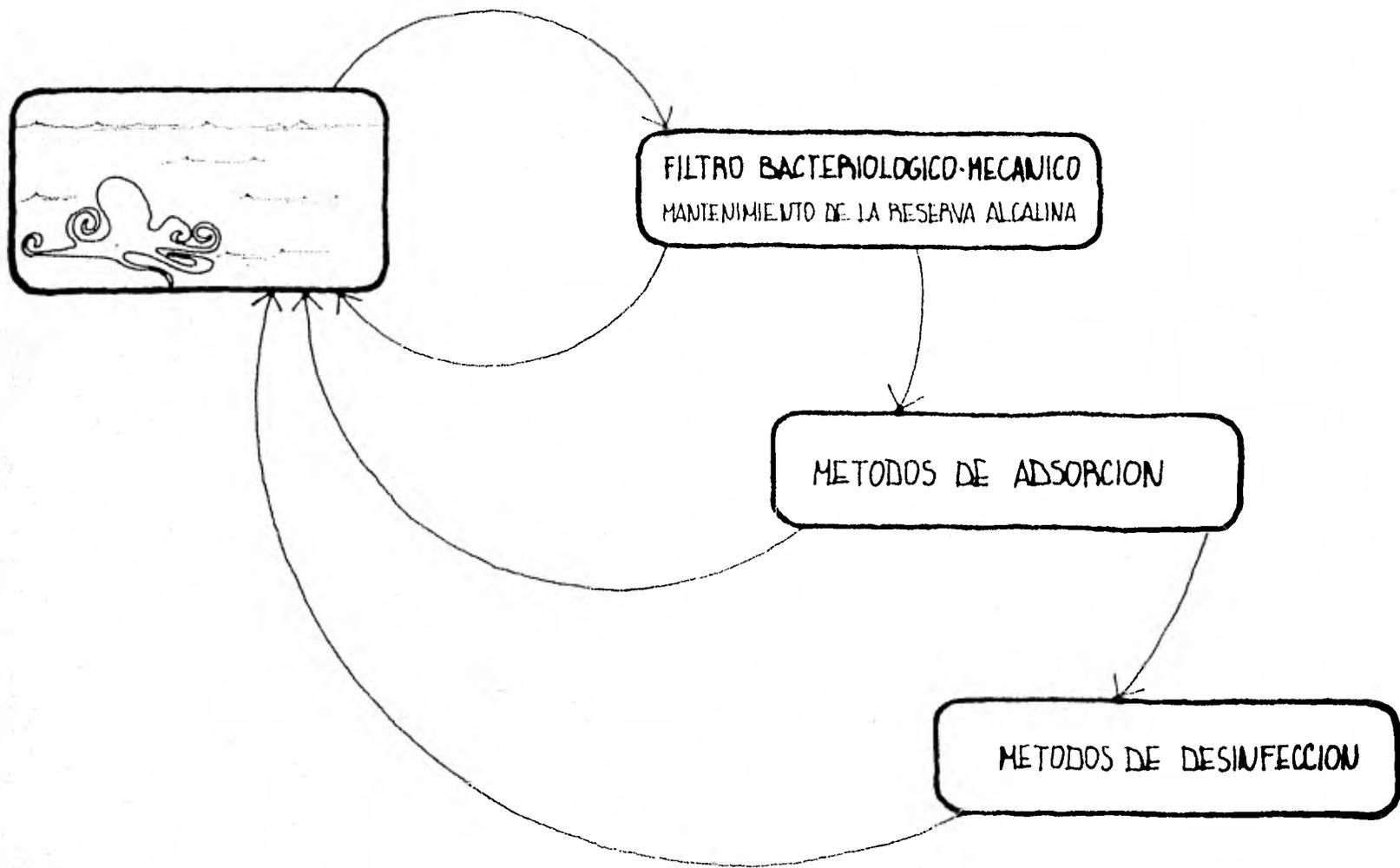


FIGURA 15 DIAGRAMA QUE INDICA LA COLOCACION DE LOS METODOS PARA EL TRATAMIENTO DEL AGUA EN UN SISTEMA CERRADO

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. Atz, J. W. 1964. Some principles and Practices of water management for marine aquariums. Res. Rep. U. S. Fish Wildl. Serv. 63:3-16.
2. Atz, J. W. 1970. Maintaining water quality in aquaculture. Sea-Scope 1(1):108.
3. Breder, C. M., Jr. 1964. Miniature circulating systems for small laboratory aquariums. Res. Rep. U. S. Fish Wildl. Serv. 63:39-53.
4. Chin, E. 1959. An inexpensive recirculating sea-water system. Progue. Fish Cult. 21:91-93.
5. Eagleton, L. C. y E. S. Herald. 1968. Ultraviolet sterilization for marine aquaria. Salt Water Aquarium. 4(6):158-164.
6. Forster, J. R. M. 1974. Studies on nitrification in marine biological filters. Aquaculture. 4(4):387-397.
7. Goldizen, V. C. 1970. Management of closed-system marine aquariums. Helgoländer wiss Meeresunters. 20:637-641.
8. Herald, E. S., R. P. Dempster y M. Hunt. 1970. Ultraviolet sterilization of aquarium water. Spec. Ed., Crum & Croaker, W. Hagen (ed.). U. S. Dept. Int., Washington, D. C., pp. 57-71.
9. Hirayama, K. 1966. Studies on water control by filtration through sand bed in marine aquarium with closed circulating system IV. Rate of pollution of water by fish and the possible number and weight of fish kept in a aquarium. Bull. Jap. Soc. Sc. Fish. 32(1):20-27.
10. Hirayama, K. 1974. Water control by filtration in closed culture systems. Aquaculture. 4(4):369-385.

11. Honig, C. 1934. Nitrates in aquarium water. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 19:723-725.
12. Kawai, A., Y. Yoshida y M. Kimata. 1965. Biochemical studies on the bacteria in aquarium with circulating system. II. Nitrifying activity of the filter sand. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 31:65-71.
13. Kelley, W. E. 1965. A notable advance in marine biology. Wards Bull. 5:1-2.
14. King, M. J. y S. Spotte. 1974. Marine aquariums in the research laboratory. Aquarium Systems Inc., Ohio, 39 pp.
15. Kinne, O. 1976. Marine Ecology. John Wiley & Sons, Ltd., New York, 3(1):577 pp.
16. Lees, H. 1952. The biochemistry of the nitrifying organisms. 1. The ammonia-oxidizing systems of Nitrosomonas. Biochem. J. 52:134-139.
17. Plessis, B. Y. 1964. Marine aquarium procedures and techniques. Res. Rep. U. S. Fish. Wildl. Serv. 63:55-68.
18. Roff, C. J. 1972. The nitrogen cycle in nature and culture. Sea-Scope 2(4):1-8.
19. Rubin, E., R. Everett Jr., J. J. Weinstock y H. M. Schoen. 1963. Contaminant removal from sewage plant effluents by foaming. PHS Publ. Health Serv., Cincinnati. 999-WF-5: 56 pp.
20. Sander, E. 1967. Skimmers in the marine aquarium. Petfish Mon. 2:48-51.
21. Serfling, S. A. y R. F. Ford. 1975. Laboratory culture of juvenile stages of the California spiny lobster Panulirus interruptus (randall) at elevated temperatures. Aquaculture 6(4):377-387.
22. Shelbourne, J. E. 1964. Experimental sea-water systems for rearing fish larvae. Res. Rep. U. S. Fish. Wildl. Serv. 63:81-92.
23. Siddall, S. E. 1974. Studies of closed marine culture systems. Prog. Fish-Cult. 36(1):8-15.
24. Spotte, S. 1973. Marine Aquarium keeping: the science, animals and art. John Wiley & Sons, New York, 173 pp.
25. Spotte, S. 1979a. Fish and invertebrate culture: water management in closed

- systems, 2a. ed. John Wiley & Sons, New York, 179 pp.
26. Spotte, S. 1979b. Seawater aquariums: the captive environment. John Wiley & Sons, New York, 413 pp.
 27. Srna, R. F. 1975. A modular nitrification filter design based on a study of the kinetics of nitrification of marine bacteria. 6th. An. Workshop World Maricult. Soc., pp. 463-478.
 28. Tchobanoglous, G. (ed.). 1972. Wastewater engineering: collection, treatment, disposal. McGrawHill, New York, 782 pp.
 29. Wheaton, F. W. 1977. Aquacultural engineering. John Wiley & Sons, New York, 708 pp.

BIBLIOGRAFIA DE CONSULTA

1. Beard, T. W., J. F. Wickins y D. R. Arnstein. 1977. The breeding and growth of Penaeus merguensis De Man in laboratory recirculation systems. Aquaculture 10 (3):275-289.
2. Boghen, A. D. y J. D. Castell. 1979. A recirculating system for small-scale experimental work on juvenile lobsters (Homarus americanus). Aquaculture 18(4): 383-387.
3. Boyd, J. F. y R. C. Simmonds. 1974. Continuous laboratory production of fertile Fundulus heteroclitus (Walbaum) eggs lacking chorionic fibrils. J. Fish Biol. 6(4):389-394.
4. Breder, C. M. Jr. 1964. Miniature circulating systems for small laboratory aquaria. En: Sea-water-systems for experimental aquariums: a collection of papers, J. R. Clark y R. L. Clark (eds.) Res. Rpt. 63, Bur. Sport Fish. Wildl., Wash., D. C., pp. 39-53.
5. Chin, E. 1959. An inexpensive recirculating sea-water system. Proque. Fish Cult. 21:91-93.
6. Charters, A. C. y M. Neushul. 1979. A hydrodynamically defined culture system for benthic seaweeds. Aquatic Botany 6(1):67-78.
7. Clark, R. C. y J. S. Finley. 1974. Tidal aquarium for laboratory studies of environmental effects on marine organisms. Proque. Fish Cult. 36(3):134-137.
8. Connor, P. M. y K. W. Wilson. 1972. A continuous flow apparatus for assessing the toxicity of substances to marine animals. J. exp. mar. Biol. Ecol. 9:209-215.

9. Davis, W. P. 1970. Closed systems and the rearing of fish larvae. *Helgoländer wiss Meeresunters.* 20:691-696.
10. De Cock, A. E. A. M. 1977. Culture of Zostera marina L. in the laboratory. *Aqua culture* 12(3):279-281.
11. Epifanio, C. E., C. M. Logan y Ch. Turk. 1975. Culture of six species of bivalves in a recirculating seawater system. En: 10th. European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, Persoone, G. y E. Jaspers (eds.) 1 pp. 97-108.
12. Epifanio, E. C., R. Srna y G. Pruder. 1975. Mariculture of shellfish in controlled environments: a prognosis. *Aquaculture* 5:227-241.
13. Fahy, W. E. 1964. A temperature-controlled saltwater circulating apparatus for developing fish eggs and larvae. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 28:364-384.
14. Forsythe, J. W. y R. T. Hanlon. 1980. A closed marine culture system for rearing Octopus joubini and other large-egged benthic octopods. *Lab. An.* 14:137-142.
15. Gordon, M. S. y R. A. Boolotin. 1964. A closed circulating sea water system. En: *Sea-water-systems for experimental aquarium: a collection of papers*, Clark, J. R. y R. L. Clark (eds.) Res. Rpt. 63, Bur. Sport Fish. Wildl. Was., D. C., pp. 29-34.
16. Hale, L. J. 1964a. A fast-flow closed-circuit marine aquarium. En: *Sea-water-systems for experimental aquariums: a collection of papers*, Clark, J. R. y R. L. Clark (eds.) Res. Rpt. 63 Bur. Sport Fish Wildl., Wash., D. C. pp. 69-75.
17. Hanlon, R. T. y col. 1979. Rearing experiments in the California market squid Loligo opalescens Berry 2911. *The Veliger* 21(4):428-431.
18. Hartman, G. F. 1965. An aquarium with simulated stream flow. *Trans. Am. Fish. Soc.* 94:274-276.
19. Hartman M. y col. 1973. Farming the artificial sea: Growth of clams in a recirculating seawater system. *Proc. Gulf & Caribbean Fish. Inst.*, 26th. An. Session, pp. 59-74.
20. Honn, K. V. 1975. Prototype design for a closed marine system employing quaternary water processing. *Mar. Biol.* 31(4):293-298.

21. Houde, D. E. y K. Tanoguchi. 1977. Procedures used to culture larvae of marine fishes at the Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science. Report prepared for Environmental Protection Agency, pp. 1-17.
22. Hughes, T. J. 1964. Practical suggestions for construction and maintenance of large-volume sea-water systems. En: Sea-water-systems for experimental aquariums: a collection of papers, Clark, J. R. y R. L. Clark (eds.) Res. Rpt. 63 Bur. Sport Fish. Wildl., Wash., D. C., pp. 185-186.
23. Jones, W. E. y E. S. Dent. 1970. Culture of marine algae using a recirculating sea water system. *Helgoländer wiss Meeresunters* 20:70-78.
24. King, J. M. y S. Spotte. 1944. Marine aquariums in the research laboratory. Aquarium Systems, Inc., Eastlake, Ohio, 38 pp.
25. Lickey, M. E. y col. 1970. A recirculating sea-water aquarium system for inland laboratories. *Mar. Biol.* (Berling) 7&2):149-152.
26. McCrimmon, H. R. y A. H. Berst. 1966. A water recirculation unit for use in fishery laboratories. *Progr. Fish-Cult.* 28(3):165-170.
27. McInerney, J. E. y W. S. Hoar. 1964. A medium-sized sea-water system for the laboratory. En: Sea-water-systems for experimental aquariums: a collection of papers, Clark, J. R. y R. L. Clark (Eds.) Res. Rpt. 63, Bur. Sport Fish. Wilds., Wash., D. C. pp. 35-37.
28. Nair, K. K. C. y col. 1978. Closed sea water circulating system for cultivation of marine and estuarine organisms in the laboratory. *Indian J. Mar. Sc.* 7(3):159-162.
29. New, M. B. y col. 1974. A recirculation system for experimental aquaria. *Aquaculture* 3(1):95-103.
30. Parisot, T. J. 1967. A closed recirculated sea-water-system. *Proge. Fish-Cult.* 29(3):133-139.
31. Rebach, S. 1977. Simultaneous activity recording of multiple isolated marine organisms in an artificial saltwater recirculating system. *J. Fish. Res. Brd. Canada.* 34(9):1426-1430.

32. Sandifer, P. A. y col. 1974. A simple airlift-operated tank for closed-system culture of decapod crustacean larvae and other small aquatic animals. Helgoländer wiss Meeresunters. 26(1):82-87.
33. Sastry, A. N. 1970. Culture of brachyuran crab larvae using a re-circulating sea water system in the laboratory. Helgoländer wiss. Meeresunters. 20:406-416.
34. Sastry, A. N. 1976. An experimental culture-research facility for the american lobster, Homarus americanus. Proc. 10th. European Symposium on Marine Biol., Ostend., Belgium. Universa Press, Belgium. 1:419-435.
35. Scott, K. R. y D. C. Gillespie. 1972. A compact recirculation unit for rearing and maintenance of fish. J. Fish. Res. Bd. Can. 29:1071-1074.
36. Serfling, S. A. y col. 1974. A recirculating culture system for larvae of the american, Homarus americanus. Aquaculture 3:303-309.
37. Serfling, S. A. y R. F. Ford. 1975. Laboratory culture of juvenile stages of the California spiny lobster Panulirus interruptus (Randall) at elevated temperatures. Aquaculture 6(4):377-387.
38. Shelbourne, J. E. 1964. Sea water systems for rearing fish larvae. En: Sea-water-systems for experimental aquariums: a collection of papers, Clark, J. R. y R. L. Clark (eds.) Res. Rpt. 63, Bur. Sport Fish. Wildsl., Wash., D. C. pp. 81-93.
39. Sorgeloos, P. y G. Persoone. 1972. Three simple culture devices for aquatic invertebrates and fish larvae with continous recirculation of the medium. Mar. Biol. 15(3):251-254.
40. Valenti, R. J. 1975. Semiclosed system culture of the northern buffer, Spherooides maculatus. 6th. Annual Workshop World Mar. Soc. pp. 479-485.
41. Valenti, R. J. y J. Aldred. 1975. A culture apparatus for fish incorporating closed systems. Aquaculture 6(3):291-293.
42. Von Westerhagen, H. y H. Rosenthal. 1975. Rearing and spawning siganids (Pisces: Teleostei) in a closed seawater system. Helgoländer wiss. Meeresunters 27:1-18.
43. Ward, W. W. 1974. Aquarium systems for the maintenance of stenophores and jellyfish for hatching and harvesting of brine shrimp (Artemia salina) larvae. Ches-

peake SCI, 15(2):116-118.

44. Zillioux, E. J. 1969. A continuous recirculating culture system for planktonic copepods. Mar. Biol. 4(3):215-218.