



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

IMPORTANCIA DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS FÍSICO
QUÍMICOS QUE INFLUYEN EN EL CULTIVO DE MICROALGAS
MARINAS.

AMAY JIMENEZ JENNIFFER LILIBETH
INGENIERA ACUÍCULTORA

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

IMPORTANCIA DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS FÍSICO
QUÍMICOS QUE INFLUYEN EN EL CULTIVO DE MICROALGAS
MARINAS.

AMAY JIMENEZ JENNIFFER LILIBETH
INGENIERA ACUÍCULTORA

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

EXAMEN COMPLEXIVO

IMPORTANCIA DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS QUE
INFLUYEN EN EL CULTIVO DE MICROALGAS MARINAS.

AMAY JIMENEZ JENNIFFER LILIBETH
INGENIERA ACUÍCULTORA

VELASQUEZ LOPEZ PATRICIO COLON

MACHALA, 25 DE AGOSTO DE 2022

MACHALA
25 de agosto de 2022

J Amay

por Jennifer Amay

Fecha de entrega: 19-ago-2022 09:24a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1884393436

Nombre del archivo: Jennifer_Amay_1.docx (2.64M)

Total de palabras: 4921

Total de caracteres: 26489

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, AMAY JIMENEZ JENNIFFER LILIBETH, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Importancia de los principales parámetros físico químicos que influyen en el cultivo de microalgas marinas., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 25 de agosto de 2022



AMAY JIMENEZ JENNIFFER LILIBETH
0750561557

RESUMEN

Las microalgas son un recurso natural valioso para las diversas especies acuícolas. Debido a sus potenciales aplicaciones se ha generado un creciente interés en los últimos años. Su principal función dentro de la acuicultura es ser una fuente de alimento natural. El presente trabajo realiza una revisión bibliográfica sobre la importancia de los parámetros físico-químicos de las microalgas para obtener una proliferación masiva y de óptima calidad para la nutrición de organismos acuáticos, los cuales pueden afectar su crecimiento, biomasa y contenido nutricional. Evidencias científicas indican que las condiciones ambientales de las microalgas varían en función a la especie, pero la literatura ha podido establecer una tabla estandarizada en la cual se maneja una intensidad lumínica entre 2,500-5,000 lux, un fotoperiodo de 16:8 (mínimo); 14:0 (máximo) lux, pH entre 8.2-8.7, una salinidad de 20-24 ppt y una temperatura desde 18-24 °C, asimismo, es importante controlar la disponibilidad de nutrientes y CO₂. Por otra parte, es necesario conocer la curva de crecimiento de las microalgas para evaluar el cultivo y su desarrollo. En cuanto a su producción, es necesario implementar un medio de cultivo, entre los principales se encuentran Conway y Guillard's F/2, los cuales proveen ciertos nutrientes y vitaminas en función a la especie. Diferentes autores llegan a la conclusión de que Guillard's F/2 es mejor en cuanto a densidad celular y producción de carotenoides. Se puede concluir que no es recomendable estandarizar un medio de cultivo, porque los requerimientos van a variar en base a la especie seleccionada.

Palabras clave: Cultivo de microalgas, microalgas como alimento, nutrientes, parámetros ambientales.

ABSTRACT

Microalgae are a valuable natural resource for various aquaculture species. Due to their potential applications, they have generated a growing interest in recent years. Their main function in aquaculture is to be a natural food source. This paper reviews the literature on the importance of the physicochemical parameters of microalgae to obtain a massive proliferation of optimum quality for the nutrition of aquatic organisms, which can affect their growth, biomass and nutritional content. Scientific evidence indicates that the environmental conditions of microalgae vary according to the species, but the literature has been able to establish a standardized table in which a light intensity between 2,500-5,000 lux, a photoperiod of 16:8 (minimum); 14:0 (maximum) lux, pH between 8.2-8.7, a salinity of 20-24 ppt and a temperature from 18-24 °C are used, also, it is important to control the availability of nutrients and CO₂. On the other hand, it is necessary to know the growth curve of the microalgae to evaluate the culture and its development. Regarding their production, it is necessary to implement a culture medium, among the main ones are Conway and Guillard's F/2, which provide certain nutrients and vitamins depending on the species. Different authors conclude that Guillard's F/2 is better in terms of cell density and carotenoid production. It can be concluded that it is not advisable to standardize a culture medium, because the requirements will vary according to the selected species.

Keywords: Microalgae culture, microalgae as food, nutrients, environmental parameters.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. DESARROLLO	7
2.1. Características físico químicas del agua de mar	7
2.2. Medios de cultivo artificiales para el cultivo de microalgas	8
2.2.1. <i>Medio de cultivo Walne/Conway y Guillard's F/2</i>	9
2.3. Parámetros para el crecimiento de microalgas	10
2.3.1. <i>Nutrientes</i>	10
2.3.2. <i>Intensidad lumínica</i>	12
2.3.3. <i>Temperatura</i>	12
2.3.4. <i>CO₂</i>	13
2.3.5. <i>pH y salinidad</i>	13
2.4. Condiciones de cultivo en base a la división de microalgas	14
2.5. Curva de crecimiento del fitoplancton	16
2.5.1. <i>Fase de retraso o inducción</i>	17
2.5.2. <i>Fase exponencial o logarítmica</i>	17
2.5.3. <i>Fase estacionaria</i>	17
2.5.4. <i>Fase de muerte</i>	18
2.6. Microalgas marinas más importantes para la acuicultura	19
2.6.1. <i>Peces</i>	19
2.6.2. <i>Crustáceos</i>	20
2.6.3. <i>Moluscos</i>	20
3. CONCLUSIÓN.....	21
4. BIBLIOGRAFÍA	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporción de sales disueltas en los océanos.....	7
Tabla 2. Composición nutricional de los medios de Walne (Walne, 1970) y Guillard F/2 (Guillard, 1975).....	9
Tabla 3. Conjunto generalizado de condiciones para el cultivo de microalgas.....	14
Tabla 4. División de microalgas y los requerimientos para su cultivo.....	15
Tabla 5. División de microalgas y los requerimientos para su cultivo.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1. Descripción gráfica de la proporción de sales disueltas en los océanos.....	7
Ilustración 2. Curva tradicional de crecimiento de una población de microorganismos.....	18
Ilustración 3. <i>Chlorella vulgaris</i>	19
Ilustración 4. <i>Thalassiosira pseudonana</i>	20

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura se puede definir como el cultivo de diversos organismos como peces, mariscos, algas y microalgas, para uso y consumo humano. El cultivo de estos organismos marinos o de agua dulce se realiza generalmente en condiciones controladas. Debido a un crecimiento relevante en la demanda mundial de estas especies, la acuicultura es considerada una industria de rápido crecimiento que sustenta esta problemática. Entre los principales productos básicos potenciales del sector acuícola, el cultivo de microalgas marinas es uno de los más relevantes.

Las microalgas son células que se utilizan de forma diversa en la acuicultura, pero sus principales aplicaciones están relacionadas con la nutrición, son relevantes para las cadenas alimentarias acuáticas porque son productores primarios. La importancia de las algas en este ámbito no es de extrañar ya que son la fuente natural de alimento para organismos acuáticos, utilizándose frescas como único componente o como aditivo alimentario a los nutrientes básicos y para inducir otras actividades biológicas. Los géneros preferidos de microalgas para la alimentación de larvas incluyen *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, *Tetraselmis*, *Isochrysis* y *Nanochloropsis*. Estos organismos alimentan directa y/o indirectamente al organismo larvario cultivado. De forma indirecta podemos proporcionar las algas a través de varias especies como la artemia o los rotíferos. Por otra parte, para los moluscos, las microalgas son una fuente de alimento importante en la crianza de todos los estadios de moluscos bivalvos marinos (almejas, ostras, vieiras), los estadios larvarios de ciertos gasterópodos marinos (abulón, caracol), larvas de varias especies de peces, camarones y zooplancton (Priyadarshani et al., 2012).

El tamaño de las microalgas generalmente fluctúa entre 1 μm y 2 mm. Generalmente, las microalgas son microorganismos acuáticos unicelulares que pueden cultivarse en una amplia gama de condiciones ambientales, ya sea en agua salada, dulce o residual, debido a su alta tolerancia al estrés ambiental. Los diferentes parámetros de cultivo, como la intensidad de la luz, el pH, la salinidad, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y el CO_2 pueden afectar las tasas de crecimiento de microalgas, el rendimiento de biomasa y su contenido nutricional en términos de producción de lípidos y ácidos grasos. Por lo tanto, estos parámetros de cultivo deben optimizarse para mejorar la productividad de la biomasa (Chowdury et al., 2020). Es decir, la relación entre los parámetros físico-químicos del agua tiende a fluctuar una correlación positiva entre la productividad del cultivo de algas y la tasa de crecimiento (Rahman et al.,

2019). En base a lo previamente redactado, el presente trabajo realiza una revisión bibliográfica sobre la importancia de los parámetros físico químicos dentro de un cultivo de microalgas marinas con el fin de poder obtener una proliferación masiva y de óptima calidad para la nutrición de organismos acuáticos.

2. DESARROLLO

2.1. Características físico químicas del agua de mar

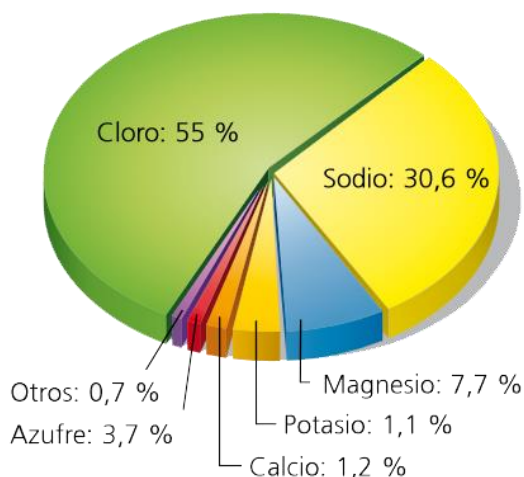
El agua de mar es una combinación compleja de 96,5% de agua y 3,5% de sales y otras sustancias, incluidos gases atmosféricos, materiales inorgánicos y orgánicos disueltos y algunas partículas. Los seis iones más relevantes del agua marina son cloruro (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}), calcio (Ca^{2+}), sodio (Na^+), potasio (K^+) y magnesio (Mg^{2+}). En relación al peso, estos iones estructuran alrededor del 99% del total de sales del mar.

Tabla 1. Proporción de sales disueltas en los océanos

COMPONENTES INORGÁNICOS EN EL AGUA DE MAR	
Cloro	55%
Sodio	30.6%
Sulfato	7.7%
Magnesio	3.7%
Calcio	1.2%
Potasio	1.1%
Otras sales	0.7%

Fuente: (Rivas, 2015)

Ilustración 1. Descripción gráfica de la proporción de sales disueltas en los océanos



Fuente: (Rivas, 2015)

La cantidad de estas sales en un volumen de agua de mar varía debido a la adición o eliminación local de agua (por ejemplo, a través de la evaporación y precipitación). El carbono inorgánico, bromuro, boro, estroncio y fluoruro constituyen las otras principales sustancias disueltas del agua de mar. De los constituyentes químicos disueltos en menor cantidad, el nitrógeno inorgánico y el fósforo inorgánico se encuentran entre los más relevantes, ya que son importantes para el crecimiento de las diversas especies de microalgas. El agua de mar también contiene varios gases atmosféricos disueltos, principalmente oxígeno, argón, nitrógeno y dióxido de carbono (Mackenzie et al., 2022).

Se ha observado que la salinidad en el océano abierto oscila entre 34 y 37 ppt. Sin embargo, la salinidad puede llegar hasta 10 ppt en zonas costeras. El pH del agua marina se establece entre 7,6 a 8,4. La alcalinidad total del agua de mar varía entre 100 y 130 mg/l como CaCO_3 , con un promedio de 116 mg/l. Se dice que el pH promedio del océano es 8.1, pero está disminuyendo lento pero constantemente a medida que aumenta la concentración de CO_2 atmosférico. (Boyd, 2020). El CO_2 elevado está alterando el pH en los ambientes marinos (acidificación de los océanos, modificando la química del carbonato marino, lo cual, puede influir en el metabolismo de muchos organismos marinos (Liu et al., 2017).

2.2. Medios de cultivo artificiales para el cultivo de microalgas

La elección del medio de cultivo puede depender de la especie elegida, las algas se pueden cultivar en agua dulce, agua salobre o agua de mar. Un factor clave que favorece el crecimiento de las microalgas es la presencia de micronutrientes, como las vitaminas en el medio de cultivo. Un medio estándar como Guillard's F/2, se utiliza normalmente para producir monocultivos de microalgas a escala de laboratorio (Sánchez et al., 2020).

El medio de cultivo es una disolución acuosa que transporta los nutrientes inorgánicos que necesitan las microalgas para su crecimiento. El suministro de medio de cultivo y las concentraciones de los nutrientes deben estar acoplado con la producción de biomasa, de forma que se suministren en cantidad suficiente para que nunca se produzca una limitación que tendría como consecuencia un decrecimiento en la productividad de biomasa o incluso alguna difusión del cultivo como la fotoinhibición.

El cultivo axénico de microalgas exige una composición más estricta de nutrientes en su medio de cultivo. Por lo tanto, fórmulas especiales de medios estándar como Guillard's F/2 y Conway se emplean comúnmente para producir monocultivos de microalgas a escala de laboratorio (Sánchez et al., 2020).

2.2.1. Medio de cultivo Walne/Conway y Guillard's F/2

Las soluciones nutritivas de algas o el medio de cultivo se componen de una mezcla de sales químicas y agua. El medio de cultivo proporciona el material necesario para el crecimiento de las algas, se constituye con la adición de macronutrientes, micronutrientes y vitaminas. Los micronutrientes incluyen nitrato, fosfato y silicato. Los micronutrientes contienen varios metales traza. Las vitaminas como la tiamina (B1), la cianocobalamina (B12) y, a veces, la biotina es comúnmente necesaria para el crecimiento de la mayoría de las microalgas.

El medio de Guillard F/2 es un medio de agua de mar enriquecido, ampliamente utilizado para cultivar algas marinas costeras, especialmente diatomeas. La concentración de la formulación original, denominada "f Medium" (Guillard y Ryther 1962), (Al-Adali et al., 2012).

Tabla 2. Composición nutricional de los medios de Walne (Walne, 1970) y Guillard F/2 (Guillard, 1975)

Composición	Walne	Guillard's F/2
Componente nutritivo:		
Nitrato de sodio (NaNO ₃)	100,00 g/L	75,00 g/L
Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	33,60 g/L	-
EDTA Na ₂	45,00 g/L	4,360 g/L
Ortofosfato de hidrógeno de sodio (NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O)	20,00 g/L	5,65 g/L
(FeCl ₃ · 6H ₂ O)	1,300 g/L	3.150 g/L
Cloruro manganoso (MnCl ₂ · 4H ₂ O)	0,360 g/L	0,180 g/L
Elementos trazas:		
Cloruro de zinc (ZnCl ₂)	4,2 g/L	-
Cloruro cobaltoso (CoCl ₂ · 6H ₂ O)	4,0 g/L	10,0 g/L

(NH ₄) ₈ .Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	1,8 g/L	-
Sulfato cúprico (CuSO ₄ .5H ₂ O)	4,0 g/L	10,0 g/L
Vitaminas		
Biotina	-	100 mg/L
Tiamina HCl (Vit. B ₁)	2 g	20 g/L
Cianocobalamina (Vit. B ₁₂)	100 mg	100 mg/L
Fuente:	(Putri et al., 2019)	(Al-Adali et al., 2012).

Cabanayan et al., (2021), realizaron un estudio, en cual analizaron los medios de cultivo mencionados anteriormente, el medio F/2, la fase exponencial fue de los días 1-8, y la densidad celular máxima se alcanzó el día 9, seguido de una fase estacionaria de 5 días. Para el medio de Walne, la fase exponencial fue del día 1 al 10, y la densidad celular máxima fue el día 11, seguida de una fase estacionaria de 3 días. Sin embargo, la máxima densidad celular se da en cultivos enriquecidos con varios medios.

Saseendran & Saramma (2018) demostraron que la producción de clorofila es más alta con el medio F/2 en comparación con el medio de Walne. También estudiaron el efecto de diferentes medios de cultivo de algas sobre la producción total de carotenoides. Dando como resultado, la producción máxima de carotenoides se notó el día 30 (3042 µg/L) con el medio de Walne, mientras que en el medio F/2 fue el día 27 (2919 µg/L).

2.3. Parámetros para el crecimiento de microalgas

2.3.1. Nutrientes

El cultivo de microalgas demanda un suministro constante de ciertos nutrientes inorgánicos, como nitrógeno (N), carbono (C) y fósforo (P) para mantener una alta productividad de algas (Zhao & Huang, 2021). El incremento de nutrientes en el agua, como el fósforo y el nitrógeno, pueden provocar una eutrofización en el medio, afectando así a la ecología acuática (Mu et al., 2021). El 50% de la biomasa de las microalgas está conformada de carbono. El carbono es requerido en predominantes concentraciones por ser el constituyente vital de todas las sustancias orgánicas sintetizadas por las células, como proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, lípidos y vitaminas.

El nitrógeno es considerado el elemento más importante después del carbono. Es el segundo elemento más notable en la biomasa de microalgas con una concentración de 1% a 14% en masa seca. Es el encargado de la formación de ácidos nucleicos, proteínas, vitaminas y pigmentos fotosintéticos (Zarrinmehr et al., 2020). El agotamiento del nitrógeno en el medio de cultivo conlleva a una disminución del crecimiento. Las microalgas presentan aproximadamente un 20% de contenido lipídico y tiende a subir a un 40% cuando el contenido de nitrógeno es limitante en el medio.

Las microalgas pueden asimilar nitrógeno en forma de nitrato, nitrito, urea y amonio, sin embargo, el nitrato se usa ampliamente para el cultivo de microalgas en comparación con las sales de amonio, ya que es más estable y tiene menos probabilidades de cambiar el pH. Además, el amoníaco en concentraciones mayores a 25 μm es tóxico para las microalgas; por lo tanto, el nitrato se emplea comúnmente en medios de cultivo. Sin embargo, la limitación de nitrógeno en el medio de cultivo puede disminuir la producción de biomasa, pero aumentaría la producción de lípidos y carbohidratos, el agotamiento de nitrógeno desplaza el flujo hacia la producción de lípidos (Yaakob et al., 2021). Cuando las microalgas sufren escasez de nitrógeno, suele producirse una decoloración de las células (reducción de clorofilas y aumento de carotenoides) y una acumulación de compuestos orgánicos como polisacáridos y algunos aceites (Chowdury et al., 2020).

El fósforo (P) es un elemento relevante de las microalgas, que se requiere para el metabolismo o para el anabolismo energético. Es un nutriente crucial para el crecimiento y la división celular de las microalgas, y su requerimiento varía en base a las especies, de igual forma, es fundamental para el almacenamiento y la transmisión de energía e información en las células vivas. Desempeña un papel esencial en la síntesis de moléculas biológicas como el ADN, ATP, ARN y fosfolípidos, así como en los procesos que incluyen la fotosíntesis, el almacenamiento de energía y la información genética, entre otros. Las microalgas pueden absorber elevadas cantidades de ortofosfatos inorgánicos y algunas formas orgánicas para adaptarse a las condiciones de restricción de P (Xing et al., 2021). La concentración de fósforo puede variar de 0,05% a 3,3% en masa seca (Chowdury et al., 2020).

La relación N:P de 16:1 fue estimada por primera vez por Alfred C. Redfield en 1934 por medio de la composición elemental de las células de microalgas. Esta relación se conoce como la relación de Redfield por el nombre del investigador. Sin embargo, algunos estudios

han probado diversas proporciones. Silva et al., (2015), analizaron el efecto de la relación N:P sobre el crecimiento de las microalgas *P. subcapitata* y *C. vulgaris*, en el cual, evaluaron las relaciones N:P de 8:1, 16:1 y 24:1. Para *C. vulgaris*, la relación N:P de 8:1 fue la que más favoreció el crecimiento. La reducción de fósforo puede causar la acumulación de pigmento en ciertas microalgas, pero el impacto es inferior que la deficiencia de nitrógeno.

2.3.2. Intensidad lumínica

La luz es un parámetro relevante para el crecimiento de los organismos fotosintéticos, permite que puedan llevar a cabo sus procesos metabólicos. El fotoperíodo controla la división celular en la reproducción asexual, la cual ocurre durante el período de luz, y se acelera bajo iluminación continua. Por tanto, el fotoperíodo se puede ajustar según los objetivos del cultivo: una iluminación continua produce un crecimiento rápido, mientras que un fotoperíodo, alternando horas de luz y oscuridad, como el fotoperíodo solar, mantiene un crecimiento normal y saludable. La división celular se da durante la fase de luz, mientras que la fase de oscuridad se utiliza para acumular reservas (Sánchez et al., 2020).

La alta intensidad de luz es uno de los factores más efectivos para estimular la síntesis de carotenoides, incluidos el β -caroteno, la luteína y la astaxantina en las microalgas. Sin embargo, en la región de intensidades de luz saturadas, un aumento adicional en la iluminación no aumenta la tasa de fotosíntesis. La vegetación de microalgas bajo una luz excesiva puede provocar daños foto-oxidativos en el aparato fotosintético y disminuir la eficiencia y la tasa de fotosíntesis, es decir, la fotoinhibición (Maltsev et al., 2021).

2.3.3. Temperatura

La temperatura es también uno de los parámetros ambientales esenciales que intervienen en el crecimiento de las microalgas. Debido a la dependencia de la temperatura de la actividad enzimática intracelular, las tasas biológicas de los ectotermos son generalmente más rápidas a temperaturas más altas (Carvalho et al., 2018). Similar al efecto de la intensidad de la luz, el crecimiento de microalgas aumenta linealmente hasta un punto óptimo, después del cual el crecimiento celular disminuye gradualmente.

Además del crecimiento, el factor de temperatura también tiene un efecto sobre el tamaño celular y la composición bioquímica de las microalgas. La temperatura por encima del rango óptimo causa la disminución del crecimiento, incluso es capaz de matar algunas de las células de microalgas. Sin embargo, la temperatura por debajo del rango óptimo (18-24 °C) y por encima del nivel de congelación no matará a las microalgas, pero hará que se vuelvan inactivas para crecer (Gani et al., 2019).

2.3.4. *CO₂*

Las microalgas son microorganismos fotoautótrofos que utilizan recursos naturales baratos y ampliamente disponibles, como el CO₂, el H₂O y las sales inorgánicas, para transformar la energía radiante en productos valiosos contenidos en la biomasa (Sánchez et al., 2020).

Para producir 1 kg de biomasa, las microalgas necesitan de 1,8 a 2,0 kg de CO₂. Teniendo en cuenta esta relación, la cantidad de CO₂ presente en el aire (0,03%) no es suficiente para satisfacer la presión de gas requerida en el cultivo para promover una elevada productividad. Por lo tanto, para incrementar la eficiencia fotosintética en su crecimiento, es necesario implementar carbono, mediante la inyección de aire rico en CO₂ en el cultivo o en forma de sales, como bicarbonato. El suministro de CO₂ en los cultivos de microalgas permite potenciar la productividad de la biomasa, pero provoca la reducción del pH, lo que puede intervenir en el crecimiento de algunas especies de estos microorganismos (Chowdury et al., 2020).

2.3.5. *pH y salinidad*

El pH del ambiente de cultivo (como condición física) es de gran importancia para las microalgas. La temperatura, la cantidad de CO₂ disuelto y la actividad metabólica de las células pueden intervenir en el pH del medio de cultivo (Chu et al., 2019). Ya se discutió el efecto del comportamiento del pH sobre la producción de biomasa y la tasa de crecimiento. Sin embargo, la investigación del pH inicial mostró que las microalgas mantuvieron su productividad y crecimiento de biomasa en el rango de pH de 6-10 (Qiu et al., 2017).

La salinidad también es un parámetro crítico que debe probarse, ya que la presencia de salinidad puede influir en el crecimiento de las algas y en la composición bioquímica de las células de las algas. El exceso de salinidad inhibe el proceso de fotosíntesis y reduce la productividad de la biomasa de las microalgas (Gani et al., 2019).

Tabla 3. Conjunto generalizado de condiciones para el cultivo de microalgas

Parámetros	Rango	Condición optima
Temperatura	16-27	18-24
Salinidad	12-40	20-24
Intensidad lumínica (lux)	1,000-10,000	2,500-5,000
Fotoperiodo		16:8 (mínimo); 14:0 (máximo)
pH	7-9	8.2-8.7

Fuente: (Bindra et al., 2017)

2.4. Condiciones de cultivo en base a la división de microalgas

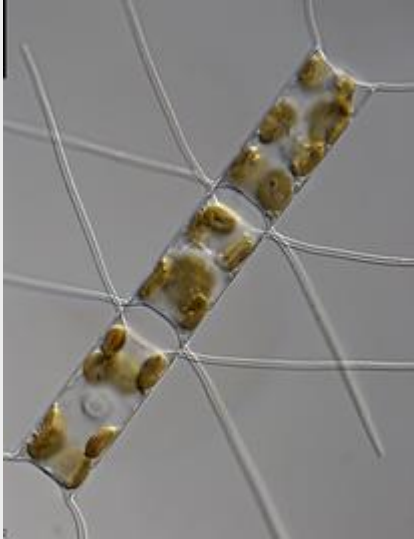



Las microalgas son un grupo diverso de organismos que forman el componente básico de muchos ecosistemas. Las algas poseen diversos caracteres en sus pigmentos, naturaleza del alimento de reserva, naturaleza de los cilios, etc. De acuerdo con estas diferencias morfológicas y fisiológicas, muchas personas las clasifican. Los grupos más grandes son clorofitas, diatomeas, cianobacterias y dinoflagelados.

Las especies y cepas de microalgas varían mucho en términos de tasa de crecimiento, productividad, requisitos de nutrientes y luz, y capacidad para acumular diferentes compuestos deseables y adaptarse a condiciones adversas. Por lo tanto, de forma general, el primer paso para el cultivo de microalgas es identificar los requerimientos básicos en base a las especies o cepas seleccionadas con el propósito de establecer un medio de cultivo específico.

Tabla 4. División de microalgas y los requerimientos para su cultivo

División	Condiciones de cultivos
Diatomeas	En un laboratorio utilizando el medio f/2 de Guillard. Se encontró que las condiciones óptimas para el cultivo de diatomeas eran 18h de luz (1000–1200 lux) y 6 h de oscuridad, temperatura de 20–24 °C, salinidad de 20–24 y pH de 8.2–8.7 con mezcla de cultivo usando un aireador (Ashokkumar et al., 2015).
Dinoflagelados	Se debe eliminar el silicato de un medio de cultivo f/2 (Guillard, 1975) en un ciclo de luz: oscuridad de 12 h:12 h. El rango de temperatura y salinidad que comprende el 90-100% del óptimo se encuentra en 21,3-26,2 °C y 27,6-36,7, respectivamente (Kim et al., 2004).
Clorofitas	Maroubou et al., (2018) observaron que 30 °C es la temperatura óptima para la mayor producción total de clorofila, fotoperíodo 16:8 con una intensidad de luz alta (7000 lux) y salinidad de 0–20 ppt.
Cianobacterias	La máxima tasa de crecimiento y producción celular con máxima acumulación de clorofila se encontró a temperatura de 35 °C y fotoperiodo 12:12 (2000 lux). Pero con un mayor aumento de la temperatura y la intensidad de la luz, se observó una reducción en la tasa de crecimiento. El contenido de carotenoides se encontró como máximo a 3.500 lux (Kumar et al., 2011).

Tabla 5. División de microalgas y los requerimientos para su cultivo

<p>Diatomea: <i>Chaetoceros</i> sp.</p>  <p>Fuente: (Li et al., 2017)</p>	<p>Dinoflagelado: <i>Dinophysis</i> sp.</p>  <p>Fuente: (Linacre et al., 2021)</p>
<p>Clorofitas: <i>Tetraselmis</i> sp.</p>  <p>Fuente: (Hyung et al., 2021)</p>	<p>Cianobacterias: <i>Spirulina</i> sp.</p>  <p>Fuente: (Asghari et al., 2016)</p>

2.5. Curva de crecimiento del fitoplancton

El período de duración de cada fase varía en función a la especie y de las condiciones de cultivo. Las microalgas tienden a crecer en cierto patrón predecible, lo que da como

resultado una curva de crecimiento compuesta por cuatro fases: la fase de retraso, exponencial, estacionaria y muerte. Los detalles relacionados con cada curva de crecimiento (duración de cada fase, número de células, rapidez de crecimiento o muerte y cantidad total de tiempo) cambian de un organismo a otro o incluso con condiciones diferentes para el mismo organismo. Pero normalmente tienden a mantener el patrón de cuatro fases de crecimiento (Bruslind, 2021).

2.5.1. Fase de retraso o inducción

Es un período de adaptación, en el que los organismos se están ajustando a un nuevo medio. La duración de la fase puede variar considerablemente, en función de cuán diferentes sean las condiciones de las que proceden los organismos. Las células en crecimiento activo transferidas de un tipo de medio al mismo tipo de medio, con las mismas condiciones ambientales, tendrán el período de retraso más corto. Las células dañadas tendrán un extenso período de retraso, ya que deben repararse antes de lograr reproducirse (Bruslind, 2021).

2.5.2. Fase exponencial o logarítmica

Una vez que las células han acumulado todo lo que requieren para crecer, proceden a la división celular. Las condiciones que son óptimas para las células darán como resultado un crecimiento muy acelerado (y una pendiente más pronunciada en la curva de crecimiento), mientras que las condiciones menos ideales resultarán en un crecimiento más tardío. Las células en la fase exponencial de crecimiento son las más uniformes y sanas (Bruslind, 2021). La densidad celular aumenta en función del tiempo. La tasa de crecimiento específica depende principalmente de las especies de algas, la intensidad de la luz y la temperatura.

2.5.3. Fase estacionaria

En cierto momento, la población se queda sin un nutriente esencial o su crecimiento se ve inhibido por sus propios productos de desecho o por falta de espacio físico, lo que hace que las células se introduzcan en la fase estacionaria. En este punto, el número de células nuevas que se producen es igual al número de células que mueren o el crecimiento ha cesado por completo, lo que resulta en un aplanamiento de su desarrollo en la curva de crecimiento

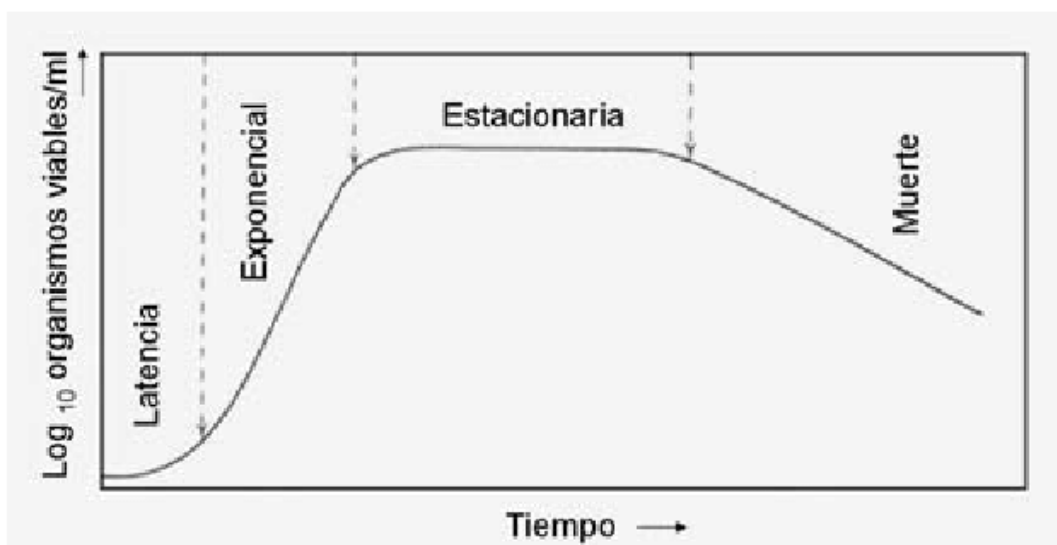
(Bruslind, 2021). Cuando se equilibra el factor limitante y la tasa de crecimiento, da como resultado una densidad celular relativamente constante.

2.5.4. Fase de muerte

En la última fase de la curva de crecimiento, el número de células vivas decrece. La inclinación de la pendiente corresponde a la rapidez con la que las células pierden viabilidad. Se cree que las condiciones de cultivo se han deteriorado hasta el punto de que las células sufren daños irreparables, ya que las células recogidas en esta fase no muestran crecimiento cuando se transfieren a medio fresco (Bruslind, 2021).

Durante la última etapa, la calidad del agua se deteriora y los nutrientes se vuelven escasos hasta un nivel incapaz de mantener el crecimiento. La densidad celular disminuye rápidamente y el cultivo finalmente colapsa. En la práctica, los colapsos de cultivos suelen ser provocados por diversas razones, incluido la deficiencia de oxígeno, el agotamiento de un nutriente, la contaminación o la alteración del pH. El valor nutricional de las algas producidas es menor una vez que el cultivo supera la fase 3 debido a la composición deficiente y la posible producción de metabolitos tóxicos.

Ilustración 2. Curva tradicional de crecimiento de una población de microorganismos



Fuente: (Gamboa et al., 2007)

2.6. Microalgas marinas más importantes para la acuicultura

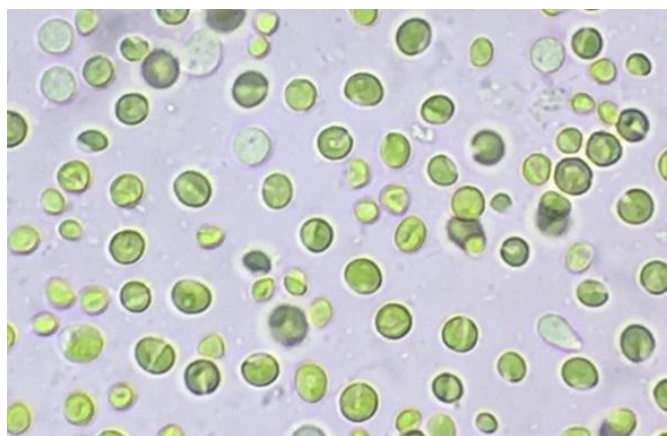
2.6.1. Peces

Los alimentos a base de microalgas muestran una amplia variación en la digestibilidad de los nutrientes y la energía, dependiendo de varios factores. *Spirulina* sp., *Isochrysis* sp., *Chlorella vulgaris* y *Schizochytrium* sp., son algunas de las microalgas, que mostraron valores muy altos de nutrientes y digestibilidad para los peces (Annamalai et al., 2021).

Chaetoceros muelleri es una de las especies de microalgas más utilizadas en la acuicultura como alimento para peces y crustáceos. Su importancia se debe a su rápido crecimiento, calidad nutricional y acumulación de lípidos en condiciones de limitación de nutrientes (Lovio et al., 2019). *Chlorella* sp. y *Spirulina* sp., se incluyen comúnmente en alimentos para peces ornamentales, donde la coloración y la apariencia saludable es el principal criterio de mercado (Sirakov et al., 2015).

Existe una necesidad urgente de encontrar alternativas al aceite y harina de pescado en los piensos compuestos debido al rápido aumento de sus precios y la demanda de pesquerías sostenibles. La espirulina, una microalga filamentosa de color verde azulado, es una excelente fuente de proteína vegetal y podría reemplazar las costosas proteínas de origen animal en los alimentos para peces (Zhang et al., 2020).

Ilustración 3. *Chlorella vulgaris*

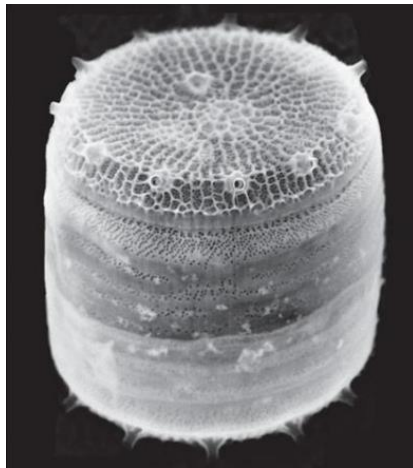


Fuente: (Ramaraj et al., 2016)

2.6.2. Crustáceos

La adición de microalgas al cultivo intensivo de camarones *Litopenaeus vannamei* puede mantener de manera efectiva un pH estable y aumentar el oxígeno disuelto en el agua, reducir la acumulación de nitrito-N, nitrato-N, ortofosfato-P y prevenir la acumulación de *Vibrios* en el agua y sedimento. Los efectos sinérgicos de estos parámetros pueden dar como resultado un mejor rendimiento de crecimiento. En relación a la calidad del agua y el aumento de la producción de camarones, los autores sugieren que la adición de *Thalassiosira pseudonana* puede ser más apropiada para el cultivo intensivo de camarones en términos de factibilidad y practicidad (Huang et al., 2022).

Ilustración 4. *Thalassiosira pseudonana*



Fuente: (Möhler & Hoose, 2011)

2.6.3. Moluscos

Dunaliella sp., cubre los requerimientos nutricionales del mejillón *Mytilus galloprovincialis*, desde el nivel de proteína hasta el nivel de lípidos de la carne, el peso del mejillón y el crecimiento lineal. Por lo tanto, *Dunaliella* sp. podría considerarse una de las mejores dietas para mejillones. Sin embargo, aún es necesario más investigaciones sobre los requisitos de nutrientes para promover una dieta bien balanceada para el cultivo de moluscos acuáticos (Jamal et al., 2020). Por otra parte, una multitud de estudios sugieren que las dietas mixtas de microalgas pueden proporcionar un mejor equilibrio de nutrientes esenciales para los bivalvos.

3. CONCLUSIÓN

Las diferentes condiciones de cultivo de microalgas pueden afectar la tasa de crecimiento, el rendimiento de la biomasa y su contenido nutricional en términos de producción de lípidos y ácidos grasos. La optimización de los parámetros físico-químicos es un método efectivo para una proliferación masiva y de óptima calidad para la nutrición de organismos acuáticos, los cuales pueden ser ajustados en función a la cepa seleccionada, pero la literatura ha podido establecer una tabla estandarizada donde se establece una intensidad lumínica de 2,500-5,000 lux, fotoperiodo de 16:8 (mínimo); 14:0 (máximo) lux, pH entre 8.2-8.7, salinidad de 20-24 ppt y temperatura desde 18-24 °C.

La disponibilidad de nutrientes también es un factor relevante, por lo cual es necesario implementar un medio de cultivo, siendo Conway y Guillard's F/2 uno de los más relevantes para microalgas marinas. En base a la información recolectada se podría decir que el medio de Guillard's F/2 es mejor en cuanto a densidad celular y producción de carotenoides. Sin embargo, se puede concluir que los requerimientos y condiciones de cultivo tienden a variar en función a la división de las microalgas, por ende, no es recomendable estandarizar un medio.

Algunos autores afirman considerar mejor una combinación de diferentes medios con el fin de satisfacer por completo las necesidades de los organismos cultivados, un paso importante para este proceso es evaluar previamente la salinidad del medio proveniente y los nutrientes base del agua en particular. En todo cultivo es necesario evaluar la calidad de producción, en lo que corresponde a microalgas, se analiza la curva de crecimiento de los organismos para evaluar el número de células y su rapidez de crecimiento o muerte en relación.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Adali, K., Ahmed, E., Kumar, P., & Ayaril, N. (2012). Effect of salinity, temperature, nutrients and CO₂ on growth of two species of microalgae from Red Sea, Saudi Arabia. *Journal of King Abdulaziz University, Marine Science*, 23(1), 57–73. <https://doi.org/10.4197/MAR.23-1.5>
- Annamalai, S., Das, P., Thaher, M., Abdul, M., Khan, S., Mahata, C., & Al Jabri, H. (2021). Nutrients and energy digestibility of microalgal biomass for fish feed application. *Sustainability*, 13(23), 1–19. <https://doi.org/10.3390/SU132313211>
- Asghari, A., Fazilati, M., Latifi, A. M., Salavati, H., & Choopani, A. (2016). A review on antioxidant properties of Spirulina. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 3(1), 345–351. www.biotechrep.ir/article_69007_cf87ec6a3acc0e69c330b2086d8ecdd0.pdf
- Ashokkumar, S., Manimaran, K., & Kim, K. (2015). Cultivation and identification of microalgae (Diatom). *Marine Algae Extracts: Processes, Products, and Applications*, 1–2, 59–78. <https://doi.org/10.1002/9783527679577.CH4>
- Bindra, S., Sharma, R., Khan, A., & Kulshrestha, S. (2017). Renewable energy sources in different generations of bio-fuels with special emphasis on microalgae derived biodiesel as sustainable industrial fuel model. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 14(1), 259–274. <https://doi.org/10.13005/BBRA/2443>
- Boyd, C. (2020). *Typical chemical characteristics of full-strength seawater - Responsible Seafood Advocate*. <https://www.globalseafood.org/advocate/typical-chemical-characteristics-of-full-strength-seawater/>
- Bruslind, L. (2021). Microbial growth. In *Microbiology (Bruslind)* (pp. 9.1-9.4). [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_\(Bruslind\)/09%3A_Microbial_Growth](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_(Bruslind)/09%3A_Microbial_Growth)
- Carvalho, S., Burkepile, D., Feary, D., Bruno, J., Carr, L., & Gittman, R. (2018). Temperature influences herbivory and algal biomass in the Galápagos Islands. *Frontiers in Marine Science*, 1(279), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00279>
- Chowdury, K., Nahar, N., Deb, U., Chowdury, K., Nahar, N., & Deb, U. (2020). The growth factors involved in microalgae cultivation for biofuel production: A review.

Computational Water, Energy, and Environmental Engineering, 9(4), 185–215.
<https://doi.org/10.4236/CWEEE.2020.94012>

- Chu, F., Cheng, J., Zhang, X., Ye, Q., Chen, S., Zhou, J., & Cen, K. (2019). Transcriptome and key gene expression related to carbon metabolism and fatty acid synthesis of *Chlorella vulgaris* under a nitrogen starvation and phosphorus repletion regime. *Journal of Applied Phycology*, 31(5), 2881–2893. <https://doi.org/10.1007/S10811-019-01811-Y>
- Gamboa, W., Mantilla, O., & Castillo, V. (2007). Producción de micro Y nano fibras a partir de la técnica “electrospinning” para aplicaciones farmacológicas. *VII Congreso de La Sociedad Cubana de Bioingeniería*, 9(c), 1–4.
<http://cencomed.sld.cu/socbio2007/trabajos/pdf/t053.pdf>
- Gani, P., Sunar, N., Matias, H., & Apandi, N. (2019). An overview of environmental factor’s effect on the growth of microalgae. *Journal of Applied Chemistry and Natural Resources*, 1(2), 1–5. <https://fazpublishing.com/jacnar/index.php/jacnar/article/view/10>
- Huang, C., Luo, Y., Zeng, G., Zhang, P., Peng, R., Jiang, X., & Jiang, M. (2022). Effect of adding microalgae to whiteleg shrimp culture on water quality, shrimp development and yield. *Aquaculture Reports*, 22, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100916>
- Hyung, J., Kim, E., Moon, S., Kang, N., & Park, J. (2021). *Tetraselmis jejuensis* sp. nov. (Chlorodendrophyceae), a Euryhaline microalga found in supralittoral Tide Pools at Jeju Island, Korea. *Plants*, 10(7), 1–23. <https://doi.org/10.3390/plants10071289>
- Jamal, I., Housni, A., Adil, C., Hassan, E., Kamal, N., Francesco, C., Nadia, C., Senhaji, S., Haoujar, I., Abrini, J., Senhaji, N. S., Chadli, H., Essafi, A., Nhhala, H., Chebbaki, K., & Cacciola, F. (2020). Effect of four diets based on three microalgae on the growth performance and quality of Mediterranean mussel flesh, *Mytilus galloprovincialis*. *International Aquatic Research*, 12, 137–145.
[https://doi.org/10.22034/IAR\(20\).2020.1892283.1007](https://doi.org/10.22034/IAR(20).2020.1892283.1007)
- Kim, D., Matsuyama, Y., Nagasoe, S., Yamaguchi, M., Yoon, Y., Oshima, Y., Imada, N., & Honjo, T. (2004). Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). *Journal of Plankton Research*, 26(1), 61–66. <https://doi.org/10.1093/PLANKT/FBH001>
- Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Singh, G. (2011). Growth and biopigment accumulation of

- cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3), 1128–1135. https://www.researchgate.net/publication/256542450_Growth_and_biopigment_accumulation_of_cyanobacterium_Spirulina_platensis_at_different_light_intensities_and_temperature
- Li, Y., Boonprakob, A., Gaonkar, C., Kooistra, W., Lange, C., Hernández, D., Chen, Z., Moestrup, Ø., & Lundholm, N. (2017). Diversity in the globally distributed diatom genus *Chaetoceros* (Bacillariophyceae): Three new species from warm-temperate waters. *PLOS ONE*, 12(1), 1–38. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0168887>
- Linacre, L., Sánchez-Robles, C., Mirabal-Gómez, U., Lara-Lara, J. R., & Bazán-Guzmán, C. (2021). Cell carbon content and biomass assessments of dinoflagellates and diatoms in the oceanic ecosystem of the Southern Gulf of Mexico. *PLOS ONE*, 16(2), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247071>
- Liu, N., Beardall, J., & Gao, K. (2017). Elevated CO₂ and associated seawater chemistry do not benefit a model diatom grown with increased availability of light. *Aquatic Microbial Ecology*, 79(2), 137–147. <https://doi.org/10.3354/AME01820>
- Lovio, J., Hayano, C., López, J., Lovio, J., Hayano, C., & López, J. (2019). Effect of different phosphorus concentrations on growth and biochemical composition of *Chaetoceros muelleri*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(2), 361–366. <https://doi.org/10.3856/VOL47-ISSUE2-FULLTEXT-17>
- Mackenzie, F., Byrne, R., & Duxbury, A. (2022). *Seawater | Composition, Properties, Distribution, & Facts | Britannica*. <https://www.britannica.com/science/seawater>
- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M., & Maltseva, S. (2021). Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition. *Biology*, 10(10), 1–24. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10101060>
- Maroubi, L., Andrade, D., Cavaglione, J., Lovato, G., & Nagashima, G. (2018). Potential outdoor cultivation of green microalgae based on response to changing temperatures and by combining with air temperature occurrence. *BioEnergy Research*, 11(4), 748–762. <https://doi.org/10.1007/S12155-018-9931-2>
- Möhler, O., & Hoose, C. (2011). Ocean algae and atmospheric ice. *Nature Geoscience*, 4(2),

76–77. <https://doi.org/10.1038/ngeo1075>

Mu, R., Guo, Q., Qi, F., Jia, Y., Meng, Q., & Yu, G. (2021). Advances in studies on nitrogen and phosphorus removal by microalgal-bacterial consortia. *E3S Web of Conferences*, 293, 1–5. <https://doi.org/10.1051/E3SCONF/202129301006>

Priyadarshani, I., Sahu, D., & Rath, B. (2012). Algae in aquaculture. *International Journal of Health Sciences & Research*, 2(1), 108–114. <https://www.scirp.org/%28S%28vtj3fa45qm1ean45vffcz55%29%29/reference/referenc espapers.aspx?referenceid=728745>

Putri, D., Astuti, S., & Alaa, S. (2019). The growth of microalgae *Chlorococcum* sp. isolated from Ampenan estuary of Lombok Island in Walne's medium. *AIP Conference Proceedings*, 2199, 0500031–0500036. <https://doi.org/10.1063/1.5141301>

Qiu, R., Gao, S., Lopez, P., & Ogden, K. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 28, 192–199. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2017.11.004>

Rahman, I., Fadjar, M., & Tjahjono, A. (2019). The relationship water physical-chemical parameters in seaweed cultivation *Eucheuma Cottonii* with long-line system. *International Journal of Scientific & Technology*, 8(11), 1448–1452. <https://www.ijstr.org/final-print/nov2019/The-Relationship-Water-Physical-chemical-Parameters-In-Seaweed-Cultivation-Eucheuma-Cottonii-With-Long-line-System.pdf>

Ramaraj, R., Unpaprom, Y., & Dussadee, N. (2016). Cultivation of green microalga, *Chlorella vulgaris* for biogas purification. *Article in International Journal of Scientific & Technology Research*, 2, 117–122. https://www.researchgate.net/publication/300505269_Cultivation_of_Green_Microalga_Chlorella_vulgaris_for_Biogas_Purification

Rivas, R. (2015). *El agua de mar: composición y propiedades* (pp. 1–40). https://www.academia.edu/10275865/El_Agua_de_Mar_Composición_y_Propiedades

Sánchez, A., Morales, V., Rodríguez, R., Vicente, G., & Bautista, L. F. (2020). Cultivation of microalgae and cyanobacteria: Effect of operating conditions on growth and biomass composition. *Molecules*, 25(12), 1–17. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25122834>

Silva, N., Gonçalves, A., Moreira, F., Silva, T., Martins, F., Alvim-Ferraz, M., Boaventura, R.,

- Vilar, V., & Pires, J. (2015). Towards sustainable microalgal biomass production by phycoremediation of a synthetic wastewater: A kinetic study. *Algal Research*, *11*, 350–358. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2015.07.014>
- Sirakov, I., Velichkova, K., Stoyanova, S., Staykov, Y., & Katya, C. (2015). The importance of microalgae for aquaculture industry. Review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, *2*(4), 81–84. https://www.researchgate.net/publication/272523704_The_importance_of_microalgae_for_aquaculture_industry_Review
- Xing, Y., Guo, L., Wang, Y., Zhao, Y., Jin, C., Gao, M., Ji, J., & She, Z. (2021). An insight into the phosphorus distribution in extracellular and intracellular cell of *Chlorella vulgaris* under mixotrophic cultivation. *Algal Research*, *60*, 102482. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102482>
- Yaakob, M., Mohamed, R., Al-Gheethi, A., Ravishankar, G., & Ambati, R. (2021). Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: An overview. *Cells*, *10*(2), 1–19. <https://doi.org/10.3390/CELLS10020393>
- Zarrinmehr, M., Farhadian, O., Heyrati, F., Keramat, J., Koutra, E., Kornaros, M., & Daneshvar, E. (2020). Effect of nitrogen concentration on the growth rate and biochemical composition of the microalga, *Isochrysis galbana*. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, *46*(2), 153–158. <https://doi.org/10.1016/J.EJAR.2019.11.003>
- Zhang, F., Man, Y., Mo, W., & Wong, M. (2020). Application of *Spirulina* in aquaculture: A review on wastewater treatment and fish growth. *Reviews in Aquaculture*, *12*(2), 582–599. <https://doi.org/10.1111/raq.12341>
- Zhao, Q., & Huang, H. (2021). Microalgae cultivation. *Advances in Bioenergy*, *6*(1), 37–115. <https://doi.org/10.1016/BS.AIBE.2021.05.003>