

USO DE UNA ZEOLITA CUBANA EN CULTIVOS DE DOS ESPECIES DE MICROALGAS MARINAS

Sylvia Leal ^{1*}, Elvira Alfonso ¹ y Rafael Curbelo ²

(1) Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de la Habana, Calle 16 No.114, Playa, CP 11300, Ciudad Habana, Cuba.

(2) Empresa Yaguacam, Ministerio de la Industria Pesquera, Carr. Cienfuegos – Trinidad, Km 63½, Yaguababo, Cienfuegos, Cuba.

(*) Autor correspondiente: sylvia@comuh.uh.cu

RESUMEN

Se usó una zeolita natural cubana enriquecida para el cultivo de las microalgas marinas *Tetraselmis suecica* y *Chaetoceros ceratosporum*, especies utilizadas en la alimentación de larvas de camarón en cultivo. Se probaron diferentes concentraciones de zeolita (5, 10 y 25 mg/L) adicionándola al medio Guillard "f" (para *C. ceratosporum*) y "f/2" (para *T. suecica*) y se ensayaron diferentes porcentajes de utilización del medio (100, 75, 50 y 25% + zeolita en todos los casos). Se determinó velocidad de crecimiento (K), tiempo de duplicación (TD) y producción (P) para la fase exponencial de los cultivos, que fueron desarrollados en condiciones controladas de iluminación, salinidad y temperatura. Los resultados demostraron que no hubo diferencias significativas, para $\alpha=0.05$, entre los tratamientos con las diferentes proporciones de la zeolita, en ninguna de las dos especies. Todos los porcentajes de utilización del medio fueron diferentes al control, pero si comparamos los tratamientos de zeolitas, para el caso de *T. suecica* no se debe sustituir más del 25% del medio y para *C. ceratosporum* se puede sustituir hasta en un 50%. Los parámetros poblacionales no arrojaron diferencias significativas entre las diferentes proporciones de zeolita en ninguna de las especies. En *T. suecica*, cuando empleamos 75% del medio, se obtiene la mayor K y TD aunque la P para la fase exponencial fue menor significativamente que el control. Para *C. ceratosporum* la mayor K se obtuvo sustituyendo el 50% del medio, el TD fue similar para todos los tratamientos con zeolitas y la P fue mayor con el control porque no decayó el cultivo.

Palabras clave: microalgas; cultivo; productos zeolíticos; *Chaetoceros*; *Tetraselmis*

ABSTRACT

A natural zeolite Cuban was used enriched for the cultivation of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* and *Chaetoceros ceratosporum*, species used in the feeding of shrimp larvae in cultivation. Different zeolite concentrations were proven (5, 10 and 25 mg/L) adding it to the culture media Guillard "f" (for *C. ceratosporum*) and "f/2" (for *T. suecica*) and different percentages of utilization of the culture media were rehearsed (100, 75, 50 and 25% + zeolite in all the cases) speed of growth was determined (K), time of duplication (TD) and production (P) for the exponential phase of the cultivations that you/they were developed in controlled conditions of illumination, salinity and temperature. The results demonstrated that there were not significant differences, for $\alpha=0.05$, among the treatments with the different proportions of the zeolite, in none of the two species. The used percentages all were different from the control but if we compare the zeolite treatments, for the case of *T. suecica* it should not be substituted more than 25% of the culture media and *C. ceratosporum* stops you can substitute until in 50%. The parameters populations didn't throw significant differences among the different zeolite proportions in none of the species. In *T. suecica*, when it's use 75% of culture media, it's obtained the biggest K and TD although the P for the exponential phase was smaller significantly that the control. For *C. ceratosporum* the biggest K was obtained substituting 50% of culture media the TD was similar for all the treatments with zeolite and the P was bigger with the control because the cultivation didn't decay.

Key words: microalgae; cultura; zeolitic products; *Chaetoceros*; *Tetraselmis*

Las zeolitas se emplean en diferentes campos de la ciencia aprovechando las diferentes propiedades que posee. La utilización de productos zeolíticos en procesos acuícolas comenzó con la eliminación de amonio por medio del intercambio iónico de zeolitas (Mumpton, 1977). A través del estudio de esta utilización se llegó a conocer que las zeolitas ejercen influencia en la transformación de amonio a nitrito (López-Ruiz y Gómez-Garrudo, 1994). El análisis de la concentración amónica en la

descomposición de piensos para peces ha llevado al conocimiento de la influencia zeolítica en procesos biológicos, encontrándose que la aparición de amonio y de diversas cantidades y tipos de bacterias, depende del producto de naturaleza zeolítica que se encuentra presente (Chávez Sanz y López-Ruiz, 1990); además la adición de zeolita permite aumentar la concentración de oxígeno, evita la intoxicación de los peces en sus propias excretas, pudiéndose

aumentar la densidad por m², ya que actúa como estabilizador del medio (Ceballos *et al.*, 1994).

El efecto de las zeolitas en la producción de microalgas no ha sido estudiado en mayor detalle y ahora se está intentando dilucidar los mecanismos que lo favorecen. No se conoce si los resultados pueden ser mejorados con dosis mayores de zeolitas y queda por demostrar si es posible obtener resultados similares con microalgas diferentes de las diatomeas, cuyo crecimiento pudiera verse estimulado por una posible disolución de los silicatos contenidos en las zeolitas (Nieves *et al.*, 2000).

Una posibilidad de utilización es la de enriquecer los medios de cultivo con compuestos que incidan directamente en la división celular, aumenten la biomasa y aceleren el proceso de producción en los sistemas de cultivo, ofreciendo la posibilidad de ahorros reales en términos de tamaño y uso de la infraestructura. En esta perspectiva, se ha demostrado que algunos productos de naturaleza zeolítica hacen posible aumentar la biomasa de algunas diatomeas que se puede obtener en un tiempo determinado, lo cual es susceptible de reducir los costos de producción aumentando sustancialmente la productividad de cada sistema de cultivo.

El uso de productos zeolíticos como parte del medio de cultivo en microalgas ha sido probado recientemente (Voltolina *et al.*, 1997; Escalante-Gastelum, 1999; Villegas-Beltrán, 1999; García-Sánchez, 2000). Arredondo *et al.* (2004) concluyen que los diferentes productos zeolíticos utilizados en su trabajo influyen en la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en *Thalassiosira weissflogii* y sugieren que esos productos pueden ser usados como parte del medio f/2 para cultivar dicha especie y enriquecerlos en estos ácidos grasos necesarios para la alimentación de las larvas de camarón.

Es factible el uso de las zeolitas en Cuba debido a la disponibilidad y abundancia de yacimientos de este mineral. Se trata de introducirlas en sistemas de producción de microalgas con vistas a abaratar los costos de producción de las mismas.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- ✓ Determinar la concentración óptima de zeolita para cultivar las microalgas marinas *Chaetoceros ceratosporum* y *Tetraselmis suecica* en diferentes medios de cultivo.

- ✓ Determinar el porcentaje de utilización del medio de cultivo, adicionando zeolitas para ambas especies.

MATERIALES Y METODOS

Las especies utilizadas fueron: *Tetraselmis suecica* que se cultivo en medio Guillard "f/2" y *Chaetoceros ceratosporum* cultivada en medio Guillard "F" (Guillard, 1975), obtenidas del cepario del Centro de Investigaciones Pesqueras del Ministerio de la Industria Pesquera de Cuba.

Se utilizaron matraces erlenmeyers de vidrio de 1 litro, previamente esterilizados, que contenían agua de mar estéril a 35‰. Se adicionaron 100 mL de inóculo por lo que las concentraciones iniciales para el caso de *T. suecica* fue de 45×10^3 cel/mL y para *C. ceratosporum* de 204×10^3 cel/mL. Se hicieron 3 réplicas por tratamiento.

Se colocaron los frascos en estantes donde recibían continuamente iluminación artificial de 2000 lx, proveniente de lámparas fluorescentes, ubicados en un salón climatizado ($25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) para cultivos menores, ubicado en el Área de Fitoplancton del Centro de Desove Yaguacam en la provincia de Cienfuegos.

La zeolita empleada en los bioensayos es preparada partiendo de una zeolita natural cubana extraída de Tasajeras, Provincia Matanzas, que contiene 40% de clinoptilolita, 40% de mordenita y el restante 20% de calcita, cuarzo y feldespato y fue enriquecida, por intercambio iónico, con $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, a la que llamamos CZ. La composición química de la zeolita natural de Tasajeras es: SiO₂: 68%; Al₂O₃: 11%; Fe₂O₃: 3%; CaO: 3%; Na₂O: 1% K₂O: 2%; MgO: 1% y H₂O: 10%.

Para los ensayos de diferentes proporciones de zeolitas se emplearon los siguientes tratamientos: **Tto 1:** Medio cultivo; **Tto 2:** 5 mg/L; **Tto 3:** 10 mg/L y **Tto 4:** 25 mg/L.

Para probar los diferentes porcentajes de medio de cultivo se siguieron los tratamientos que a continuación se detallan: **Tto 1:** 100% medio de cultivo + CZ; **Tto 2:** 75% medio + CZ; **Tto 3:** 50% medio + CZ y **Tto 4:** 25% medio + CZ. CZ se empleó a 10 mg/L para todos los casos.

Al final de la fase exponencial (fe) se midieron diferentes parámetros poblacionales para caracterizar el cultivo. Para *Tetraselmis suecica* se consideró el día 8 del cultivo y para *Chaetoceros*

ceratosporum el día 4, cuando terminaron la fase exponencial. Ellos fueron:

- ❖ Velocidad de crecimiento:

$$K = (\ln C_f - \ln C_i) / (t_f - t_i)$$
- ❖ Tiempo de duplicación:

$$TD = \ln 2 / K$$
- ❖ Producción:

$$P = (C_f - C_i) / (t_f - t_i)$$

Donde :

Ci: Concentración inicial

Cf : Concentración final del cultivo al final de la fase exponencial

tf - ti: Duración de la fase exponencial en días

La comparación de los resultados se hizo por ANOVA de clasificación simple. Cuando se comprobó la distribución normal y la homogeneidad de varianzas se aplicó la Prueba de Tukey de comparación múltiple de medias, con un $\alpha = 0.05$, con el programa Statistic versión 5.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tetraselmis suecica

Cuando se probaron las diferentes proporciones de la zeolita empleada se comprobó que no existía diferencia entre las dosis empleadas, para ninguno de los días de cultivo, tal como se muestra en la Tabla 1 por lo que es factible utilizar la dosis mínima de 5 mg/L o la propuesta por otros autores (López-Ruiz, 2002) de 10 mg/L. Esto se pudo corroborar al estudiar los parámetros poblacionales registrados donde no existió diferencia ni para la velocidad de crecimiento, el tiempo de duplicación ni la producción (Tabla 2).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Nieves (2000) para esta misma especie cuando lo comparamos con los resultados obtenidos por él al final de la fase exponencial, donde tampoco encontró diferencias significativas entre las diferentes proporciones ensayadas cuando utilizó productos zeolíticos artificiales. En nuestro caso se registraron concentraciones celulares algo superiores que pueden deberse, o al uso de una zeolita natural enriquecida, que según Leal *et al.* (2003) favorece el crecimiento de los flagelados o a que el inóculo inicial utilizado por nosotros fue superior.

Nieves (2000) probó el crecimiento de esta especie con una zeolita natural cubana sin enriquecer, a concentraciones de 40, 70 y 100 mg/L para dilucidar si todos los productos zeolíticos, independientemente de su origen natural o artificial, podían actuar positivamente en el cultivo de microalgas, demostrando que esta hipótesis no es válida, haciendo la salvedad de que los diferentes productos de naturaleza zeolítica tienen efectos diferentes y actúan con distintas eficiencias sobre el cultivo de la especie. La zeolita empleada por nosotros, además de ser natural está enriquecida por lo que los resultados encontrados difieren de los obtenidos por dicho autor.

Respecto a los parámetros poblacionales en el presente trabajo se obtienen velocidades de crecimiento (K) superiores a las encontradas por Leal *et al.* (2003) para *Tetraselmis tetrathele* y la misma zeolita, ya que en ese trabajo, utilizando 10 mg/L de CZ obtienen una velocidad de crecimiento del cultivo de 0.44 difiriendo de 0.51 obtenido en el presente estudio. Consideramos que esta diferencia está condicionada a que son diferentes especies pero además la concentración inicial de los cultivos, en el presente trabajo, fue de 76×10^3 cel/mL, muy superior a la empleada en el trabajo anteriormente referido que fue de 7×10^3 cel/mL. Es conocido el efecto positivo que ejerce el tamaño del inóculo en la reducción de la fase de latencia y en la rápida entrada en la fase logarítmica del cultivo, lo que favorece significativamente este parámetro.

Con respecto a la sustitución del medio de cultivo, utilizar el 75% del medio resultó diferente significativamente al control (Tabla 3) por lo que el producto no logra sustituir el medio de cultivo para esta especie. Sin embargo, cuando analizamos los parámetros poblacionales que caracterizaron estos cultivos (Tabla 4) vemos que la mayor velocidad de crecimiento se obtuvo utilizando el 75% del medio más el producto zeolítico, el tiempo de duplicación fue más corto sin diferir del control y la máxima producción se obtuvo con el medio completo.

Chaetoceros ceratosporum

Los resultados obtenidos demuestran que la diatomea no se sintió favorecida ni con la zeolita empleada ni con las proporciones ensayadas aunque las diferentes proporciones no difirieron del control (Tablas 5 y 6)

Nieves (2000) obtiene para *Chaetoceros* sp. densidades dos veces más altas al tercer día de

Tabla 1. Concentraciones celulares ($\times 10^3$ cel/mL) \pm DS alcanzadas para *Tetraselmis suecica* en los diferentes días de cultivo con los tratamientos empleando distintas proporciones de la zeolita natural cubana.

Días de cultivo	0	2	4	6	8
Tratamientos					
1. Medio Cultivo	45	424 a \pm 21.65	1820 a \pm 91.28	2323 a \pm 252.10	2558 a \pm 91.78
2. 5 mg/l	45	431 a \pm 135.14	1915 a \pm 178.23	2375 a \pm 161.34	2685 a \pm 211.26
3. 10 mg/l	45	437 a \pm 30.05	1853 a \pm 251.18	2170 a \pm 238.46	2625 a \pm 70.00
4. 25 mg/l	45	405 a \pm 45.09	1975 a \pm 61.91	2505 a \pm 352.65	2840 a \pm 190.43

Tabla 2. Parámetros poblacionales encontrados para *Tetraselmis suecica* al final de la fase exponencial (fe). K: Velocidad de crecimiento (cel/fe), TD: Tiempo de duplicación (cel/fe) y P: Producción (cel)

Tratamientos	K	TD	P
1. Medio de cultivo	0.51 a \pm 0.0058	1.37 a \pm 0.0058	314 a \pm 11.51
2. 5 mg/l	0.51 a \pm 0.0096	1.36 a \pm 0.0265	330 a \pm 26.19
3. 10 mg/l	0.51 a \pm 0.0050	1.36 a \pm 0.0096	323 a \pm 8.81
4. 25 mg/l	0.52 a \pm 0.0050	1.34 a \pm 0.0238	349 a \pm 8.81

Tabla 3. Concentraciones celulares ($\times 10^3$ cel/mL) \pm DS de *Tetraselmis suecica* alcanzada con diferentes porcentajes de utilización del medio de cultivo manteniendo constante la concentración de zeolita.

Días de cultivo	0	2	4	6
Tratamientos				
1. 100% Medio Cultivo	76	555 b \pm 81.57	2705 a \pm 179.16	3625 a \pm 444.93
2. 75% medio	76	844 a \pm 69.68	1533 b \pm 43.49	1368 b \pm 306.82
3. 50 % medio	76	333 c \pm 24.85	386 d \pm 46.10	315 d \pm 15.53
4. 25% medio	76	581 b \pm 127.82	819 c \pm 84.00	884 c \pm 145.16

Tabla 4. Parámetros poblacionales encontrados para *Tetraselmis suecica* al final de la fase exponencial (fe) utilizando diferentes porcentajes de medio de cultivo, manteniendo la concentración de zeolita constante. K: Velocidad de crecimiento (cel/fe), TD: Tiempo de duplicación (cel/fe) y P: Producción (cel)

Tratamientos	K	TD	P
1. 100% Medio	0.65 b \pm 0.0208	1.08 b \pm 0.0208	592 a \pm 74.19
2. 75 % medio	0.75 a \pm 0.0082	0.93 b \pm 0.0100	365 b \pm 10.84
3. 50% medio	0.41 c \pm 0.0311	1.72 a \pm 0.1431	78 c \pm 11.47
4. 25 % medio	0.41 c \pm 0.0275	1.71 a \pm 0.1109	135 c \pm 24.14

Tabla 5. Concentraciones celulares ($\times 10^3$ cel/mL) \pm DS alcanzadas para *Chaetoceros ceratosporum* en los diferentes días de cultivo con los tratamientos empleando distintas proporciones de la zeolita natural cubana.

Días de cultivo	0	2	4	6
Tratamientos				
1. Medio Cultivo	204	3395 a \pm 656.58	5355 a \pm 2210.96	7895 a \pm 2364.98
2. 5 mg/l	204	4045 a \pm 734.73	7645 a \pm 2222.57	9640 a \pm 796.65
3. 10 mg/l	204	3865 a \pm 472.26	6580 a \pm 2063.65	8260 a \pm 1588.20
4. 25 mg/l	204	4490 a \pm 491.12	8785 a \pm 2617.60	10910 a \pm 2124.80

inoculados los cultivos, utilizando una concentración celular inferior a la empleada por nosotros o sea que en su caso los productos de naturaleza zeolítica utilizados en las diferentes proporciones si favorecieron el crecimiento de los cultivos. Esto puede deberse a que, según afirman

Leal *et al.* (2003) las diatomeas crecen mejor con zeolitas artificiales que naturales debido al aporte de sílice libre que tienen estos compuestos obtenidos en su proceso de síntesis. Nuestros resultados coinciden con los de dichos autores en cuanto a que no hay diferencias significativas

Tabla 6. Parámetros poblacionales encontrados para *Chaetoceros ceratosporum* al final de la fase exponencial (fe). K: Velocidad de crecimiento (cel/fe), TD: Tiempo de duplicación (cel/fe) y P: Producción (cel)

Tratamientos	K	TD	P
1. Medio de cultivo	0.60 a ± 0.0499	1.15 a ± 0.0499	1282 a ± 394.11
2. 5 mg/l	0.64 a ± 0.0150	1.08 a ± 0.0222	1573 a ± 132.46
3. 10 mg/l	0.62 a ± 0.0320	1.13 a ± 0.0608	1343 a ± 264.86
4. 25 mg/l	0.66 a ± 0.0316	1.05 a ± 0.0538	1785 a ± 353.99

Tabla 7. Concentraciones celulares ($\times 10^3$ cel/ml) \pm DS de *Chaetoceros ceratosporum* alcanzada con diferentes porcentajes de utilización del medio de cultivo manteniendo constante la concentración de zeolita.

Días de cultivo	0	2	4	6
Tratamientos				
1. 100% Medio Cultivo	195	4025 a ± 161.96	6680 a ± 548.69	10145 a ± 681.05
2. 75% medio	195	2703 c ± 344.41	6070 ab ± 971.66	6920 b ± 524.34
3. 50 % medio	195	3248 b ± 159.86	6315 ab ± 552.90	7205 b ± 598.08
4. 25% medio	195	3275 b ± 185.74	5070 b ± 222.41	4530 c ± 139.04

Tabla 8 Parámetros poblacionales encontrados para *Chaetoceros ceratosporum* al final de la fase exponencial (fe) utilizando diferentes porcentajes del medio de cultivo, manteniendo la concentración de zeolita constante. K: Velocidad de crecimiento (cel/fe), TD: Tiempo de duplicación (cel/fe) y P: Producción (cel)

Tratamientos	K	TD	P
1. 100% Medio	0.70 c ± 0.0141	1.06 a ± 0.0141	1659 a ± 113.38
2. 75 % medio	0.86 ab ± 0.0386	0.81 b ± 0.0374	1469 ab ± 242.91
3. 50% medio	0.87 a ± 0.0216	0.80 b ± 0.0216	1530 ab ± 138.22
4. 25 % medio	0.81 b ± 0.0126	0.85 b ± 0.0096	1219 b ± 55.60

utilizando 10 mg/L respecto a las demás concentraciones, sin embargo aquí se obtienen concentraciones y valores poblacionales mucho mayores considerando que estamos comparando condiciones de cultivo similares, tamaños de inóculos prácticamente iguales y el mismo género de diatomea.

Por otra parte, Voltolina *et al.* (1997) reportaron una mayor producción celular de *Chaetoceros* con 10 mg/L de ZEBEN 06 que es una zeolita artificial.

Esta microalga se cultivó también adicionando al medio Guillard "f" 20 y 40 mg/l de una zeolita natural cubana sin encontrar diferencias importantes en los números de células y de divisiones celulares registrados al final de la fase exponencial y al día de la cosecha (Voltolina *et al.*, 1998, citado por Nieves, 2000)

Cuando sustituimos el medio de cultivo para esta especie vemos que las mejores concentraciones se logran con el medio completo para todos los días de cultivo (Tabla 7) aunque al 4to día, que es generalmente cuando se usan estos cultivos en la

producción, no hubo diferencias con la utilización del medio al 75 y 50%. A diferencia del flagelado los parámetros poblacionales si se vieron favorecidos con la utilización del medio de cultivo hasta en un 50% (Tabla 8).

Plasencia *et al.* (2004) obtienen para *Amphora cf marina*, utilizando esta misma zeolita, que se puede sustituir hasta el 50% del medio sin causar diferencias significativas, registrando los mayores valores de concentración sustituyendo 25 y 50% que no difirieron del control. Estos autores encontraron que se puede sustituir hasta el 25% del medio con 25 mg/L de la zeolita sin modificar la producción diaria.

La diferencia con este trabajo puede ser atribuible a que se trata de otra especie de diatomea y a la concentración utilizada de la zeolita.

CONCLUSIONES

- ◊ Se propone la utilización de 5 ó 10 mg/L del producto, para ambas especies, ya que no

- arrojó diferencias entre los tratamientos utilizados.
- ◇ Todos los porcentajes de utilización del medio fueron diferentes del control pero si comparamos los tratamientos de zeolitas, para el caso de *T. suecica* no se debe utilizar menos del 75% del medio y para *C. ceratosporum* se puede sustituir hasta en un 50% el medio de cultivo.
- ## REFERENCIAS
- Arredondo-Vega, B.O., S. Leal-Lorenzo y J. López-Ruiz (2004): Effect of zeolitic products in the nutritive quality of the diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Hidrobiológica* 14(1):69-74.
- Chavez Sanz, P. y J. López Ruiz (1990): Influence of microbial action of zeolites on nitrification. *Cuadernos de Química Oceanográfica*. 2(3): 175-179.
- Ceballos, J., A. Peláez, D. de la Paz y A. Fernández (1994): Efecto de la zeolita en dietas para la fase de precría del camarón blanco (*Penaeus schmitti*). *Rev. Cub. Invest. Pesq.* 18(5):10-14.
- Escalante-Gastelum, I.E. (1999): Cultivo de la microalga *Chaetoceros* sp. con un producto zeolítico natural para el cultivo de *Artemia franciscana* Kellog. México, Mazatlán, Universidad de Sinaloa, *Tesis de Licenciatura*, 40 pp.
- García-Sánchez, R. (2000): Uso de una zeolita natural en el cultivo de microalgas a escala comercial. México, Mazatlán, Universidad de Sinaloa, *Tesis de Licenciatura*, 30 pp.
- Guillard, R.R.L. (1975): Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrate. In: *Culture of Marine Invertebrates Animals* (W.L. Smith y M.H. Chanley, eds), pp: 29-60.
- Leal, S., G. Delgado, G. Rodríguez, J. López-Ruiz, E. Alfonso y F. Nodas (2003): Crecimiento de microalgas marinas con diferentes productos zeolíticos. *Rev. Invest. Mar.* 24(1): 57-62.
- López-Ruiz, J. (2002): Productos de naturaleza zeolítica (PNZ): Cultivo de microalgas marinas. <http://www.geocities.com/chrlstopheck/algas.html>.
- López-Ruiz, J. y M.E. Gómez Garrudo (1994): Zeolitas in marine nitrogen transformations. *Aquacultural Engineering*, 13:147-152.
- Mumpton, F.A. (1977): Natural Zeolites. In: *Natural Zeolites* (L.B. Sand y F.A. Mumpton, eds.), Pergamon Press, N.Y., 463 pp.
- Nieves S., M. (2000): Efectos de productos de naturaleza zeolítica sobre el crecimiento y la calidad dietética de microalgas para la acuicultura. México, Universidad de Colima, *Tesis Doctoral*, 189 pp.
- Nieves, M., D. Voltolina, J.L. López Muñiz, M.A. Cisneros y P. Piña (2000): Cultivo de microalgas marinas con medios enriquecidos con productos de naturaleza zeolítica. *Hidrobiológica*. 10(1):1-6.
- Plasencia, A.H., S. Leal, D. Voltolina y R. Curbelo (2004): Cultivo de la diatomea bentónica *Amphora* cf *marina* con una zeolita cubana enriquecida. *Rev. Invest. Mar.* 25(2):151-158.
- Villegas-Beltrán, J.E. (1999): Efectos de un producto de naturaleza zeolítica sobre el crecimiento de microalgas. México, Mazatlán, Universidad de Sinaloa, *Tesis de Maestría*, 57 pp.
- Voltolina, D., M. Nieves and J.L. López-Ruiz (1997): Zeolitic products as enrichment for cultures of a marine microalga. *Aquacultural Engineering*, 16:1-5.
- Voltolina, D., M. Nieves y J.E. Villegas Beltrán (1998): *Efectos de productos zeolíticos y de naturaleza zeolítica sobre el crecimiento de microalgas*. España, Cádiz, Informe Técnico a la Universidad Internacional de Andalucía, 87 pp. (citado por Nieves, 2000).

Aceptado: 12 de febrero del 2005