

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

**Cultivo de *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella*
salina em diferentes meios de cultura**

Gilvaniera Batista de Oliveira

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO DEPARTAMENTO DE
ENGENHARIA DE PESCA, DO CENTRO DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, COMO
PARTE DAS EXIGÊNCIAS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
ENGENHEIRO DE PESCA.**

FORTALEZA - CE

1997.1

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O47c Oliveira, Gilvaniera Batista de.
Cultivo de *Chaetoceros gracilis* e *dunaliella salina* em diferentes meios de cultura /
Gilvaniera Batista de Oliveira. – 1997.
30 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro
de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 1997.
Orientação: Profa. Dra. Vera Lucia Mota Klein.

1. Alga marinha. 2. Plantas marinhas. I. Título.

CDD 639.2

Prof.^a Adj. IV. Dra. VERA LUCIA MOTA KLEIN

Orientadora

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof.º Adj. IV JOSÉ WILLIAM BEZERRA E SILVA
PRESIDENTE

Prof.º Subs. ALDENEY ANDRADE SOARES FILHO

Prof.º Subs. DÁRLIO INÁCIO ALVES TEIXEIRA

VISTO:

Prof.º Adj. IV Dr. PEDRO DE ALCÂNTARA FILHO

Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Prof.º Adj. IV LUIS PESSOA ARAGÃO

Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Dra. Vera Lucia Mota Klein pela orientação e compreensão a todo momento.

À Prof.^a Dilma Bezerra da EMPARN (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte), pela colaboração no envio de cepas das espécies em estudo.

Aos colegas e companheiros Soraya Rabay e Lourival Marques pela disponibilidade e apoio fundamentais para a finalização deste trabalho.

E a todos que, de alguma maneira, colaboraram na realização deste trabalho.

Nossos sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Pág.
INTRODUÇÃO.....	01
MATERIAL E MÉTODOS.....	04
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	08
- Tratamento com radiação ultra-violeta.....	08
- Desenvolvimento de <i>Dunaliella salina</i>	08
- Desenvolvimento de <i>Chaetoceros gracilis</i>	10
CONCLUSÕES.....	14
RESUMO.....	15
BIBLIOGRAFIA.....	17
TABELAS.....	19
FIGURAS.....	20

CULTIVO DE *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

GILVANIÈRE BATISTA DE OLIVEIRA

INTRODUÇÃO

Entre as maiores dificuldades que o cultivo de organismos marinhos enfrenta, destaca-se a falta de uma metodologia de baixo custo que permita produzir microalgas planctônicas em volumes consideráveis, de boa qualidade e que possam ser utilizadas como alimento vivo.

O cultivo em massa de microalgas em meios alternativos menos dispendiosos apresenta-se com muitas vantagens quando se cultiva organismos marinhos, sendo uma boa opção que ajudaria a reduzir os riscos de contaminação do meio, diminuindo as perdas de larvas por falta de alimento adequado.

Muitas culturas de microalgas são utilizadas na alimentação dessas larvas tais como: *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros gracilis*, *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana*, além de outras. Entre as citadas, uma das mais usadas é *Chaetoceros gracilis*. Isto se dá, em função dos bons resultados obtidos de sua utilização em cultivo de larvas de camarão *Penaeus brasiliensis*, pois anteriormente, utilizava-se fermento biológico para a alimentação o que aumentava a possibilidade de contaminação e acidificação do meio na larvicultura.

Outra, também muito utilizada em cultivo é *Dunaliella salina* que é provavelmente, a alga mais haloterante, mostrando uma grande adaptação à variação de salinidade, ocorrendo em amplas áreas no habitat marinho, bem como em estuários. É uma microalga apropriada para cultivo em massa, podendo ser cultivada ao ar livre com acesso à água salobra e oceânica. A produção em massa pode ser realizada por técnicas parecidas com as empregadas normalmente para a produção de outras microalgas. Estudos nesse sentido encontram-se em desenvolvimento como pesquisa de caráter experimental, podendo ser utilizadas com finalidades as mais diversas.

Um dos aspectos mais importantes que se deve levar em consideração na produção de microalgas, é a seleção adequada dos meios de cultura através de repicagens sucessivas, em meios de cultivo os quais contêm todos os nutrientes necessários para o crescimento satisfatório.

Meios convencionais conhecidos, tais como os de Guillard e Ryther, Provasoli, Walne entre outros, embora apresentem um bom desempenho, tornam-se proibitivos quando se pretende uma produção em larga escala, por onerar bastante os custos.

Vários autores tem desenvolvido pesquisas nesse sentido para diferentes tipos de algas como: KLEIN e COSTA (1982), com água do mar envelhecida, Guillard e Ryther, ES-Gross e MSA; YONESHIGUE - BRAGA (1971), com extrato de húmus enriquecido; LARA (s /d), com meios de cultura utilizados em Galveston; e UKELES (1965), com preparo mistura Rile Marine Mix.

O uso de compostos orgânicos e inorgânicos, como os fertilizantes agrícolas, apesar de apresentarem bons resultados e custos menos elevados, têm sido pouco utilizados. Nesse sentido destacam-se os trabalhos de :

KLEIN e GONZALEZ (1993); YAMASHITA e MAGALHÃES (1984); OLIVEIRA e KOENING (1984); BUITRAGO et al (1989); e ALFONSO e MARTINEZ (1988).

Nesse estudo são cultivadas as espécies *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina*, utilizando-se quatro diferentes meios de cultura, um convencional e os demais à base de fertilizantes agrícolas, com vistas a favorecer o uso de técnicas apropriadas para o preparo de meios de cultura unialgais em massa, sob condições controladas, que associem maior produção em relação ao espaço de tempo, a um menor custo.

MATERIAL E MÉTODOS

As cepas de microalgas deste estudo procederam do Laboratório do Núcleo Potengi do Projeto Camarão (Natal - RN), o qual possui um banco de algas unicelulares, mantidas em cultivo.

Foram utilizadas duas espécies de microalgas marinhas: *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina*, mantidas no Laboratório de Planctologia do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, aclimatadas em tubos de ensaio com iluminação constante e submetidas a uma temperatura de $24 \pm 1^\circ \text{C}$ (figura 1 e 2).

As culturas foram obtidas através de repicagens das espécies em meios FeNS e fertilizantes agrícolas: uréia, superfosfato triplo e silicato de sódio para diatomáceas, por 24 a 26 dias (tabelas 1 e 2).

Os meios foram preparados em água do mar previamente filtrada e autoclavada, com salinidade a 30‰ e pH em torno de 7,5.

Para se atingir o nível de cultura em massa desenvolveu-se um ciclo que compreende as seguintes etapas:

- 1 - Inicialmente, foram retiradas cinco gotas de cada inóculo contendo *Chaetoceros gracilis* ou *Dunaliella salina* em tubos de ensaio de 10 ml com os meios FeNS ou fertilizante agrícola, com a finalidade de manter as cepas em cultura unialgal. Em seguida, procedeu-se a repicagem em tubos de 60ml contendo os meios, mantendo-os expostos à ação da luz fluorescente de 40 watts, super luz do dia.

2 - Três a quatro dias depois, o conteúdo dos tubos foi inoculado em erlenmeyers contendo um litro de água do mar filtrada, autoclavada e enriquecida com nutrientes. Neste ponto, as culturas começaram a ser mantidas em suspensão pela aeração constante, sempre expostas à ação da luz, ficando esta, a 15cm de distância.

3 - Após cinco dias, procedeu-se a repicagem dos erlenmeyers em garrações com capacidade para 14 litros, contendo 10 litros de água do mar enriquecida com nutrientes, previamente filtrada, submetidos à ação da luz ultra-violeta por 20 minutos para a esterilização do meio. Esses garrações foram submetidos à aeração e luminosidade constante (figura 3).

4 - Uma semana depois os meios estavam prontos para serem inoculados em tanques de 50 litros previamente lavados e esterilizados.

As contagens das células foram feitas a cada dois dias, a partir do volume de 60ml, com o auxílio da Câmara de Newbauer, em microscópio (figura 4).

Para a microalga *Dunaliella salina* utilizou-se formol a 4% como fixador, antes de ser procedida a contagem.

O crescimento e a eficiência dos cultivos nos diferentes meios testados, foram avaliados pelo ponto de vista do número de células por mililitro, representado graficamente.

PREPARAÇÃO DO MATERIAL

O sucesso da boa qualidade de um cultivo ocorre, principalmente, devido a eficiência da esterilização do material a ser utilizado. Existindo falha na assepsia dos mesmos, ocorre a possibilidade do aparecimento de outros microrganismos através de contaminações, diminuição no número de células ou mesmo a morte delas, prejudicando a cultura. Desse modo, algumas precauções devem ser tomadas ao se iniciar um cultivo, bem como ao longo deste.

Neste trabalho foram utilizados os seguintes métodos:

a) Lavagem das pipetas

- Colocou-se as pipetas em beakers com um pouco de água até ficarem parcialmente submersas;
- Acrescentou-se um pouco de sabão neutro líquido;
- Lavou-se com bastante água corrente até sair todo o sabão e em seguida com água destilada;
- Guardou-se as pipetas cobrindo-as com papel alumínio.

b) Lavagem dos tubos de ensaio e erlenmeyers

- Apagou-se todas as marcas de inscrições;
- Removeu-se as tampas, esvaziando os tubos;
- Adicionou-se água com um pouco de sabão neutro até ficarem submersos;

- Limpou-se o material com escovas retirando todos os vestígios de impurezas;
- Retirou-se o sabão com água corrente e lavou-se com água destilada;
- Levou-se o material ao autoclave durante 15 minutos, a uma temperatura de 121°C.

c) Lavagem das mangueiras e pedras de aeração

- Colocou-se o material em beckers, contendo água destilada;
- Aqueceu-se por 3 a 5 minutos;
- Repetiu-se o procedimento removendo a água 3 vezes.

d) Lavagem dos garrafões

- Removeu-se todas as marcas de inscrições
- Lavou-se com água, acrescentando-se sabão neutro;
- Em seguida retirou-se o sabão com água corrente, acrescentando-se água destilada;
- Tampou-se os garrafões com plásticos adesivos
- Colocou-se em exposição à luz ultra-violeta por 20 minutos para esterilização.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

- TRATAMENTO COM RADIAÇÃO ULTRA-VIOLETA

Segundo GERLOFF et all (1950), o método de purificação com radiações ultra-violeta é eficiente com relação às cianofíceas. No entanto, grande parte dos autores afirmam que este método não é muito eficaz devido, principalmente, à resistência das bactérias em culturas de algas fitoplanctônicas.

Nesse trabalho, entretanto, esse método de purificação apresentou-se favorável para a obtenção de culturas axênicas, para a maioria dos meios de cultura utilizados, com exceção do meio FeNS com *Dunaliella salina*, devido ao crescimento de fungos ocorrido após o tratamento, o que acarretou o declínio rápido da cultura, observado nos maiores volumes testados.

- DESENVOLVIMENTO DE *Dunaliella salina*

O meio de cultura F1, à base de fertilizantes agrícolas, tendo como principais componentes uréia e superfosfato triplo, obteve entre todos os meios testados os melhores resultados para *Dunaliella salina*, atingindo uma densidade máxima de $152,50 \times 10^4$ células/ml no 12º dia de cultivo, em 60ml de cultura. A partir do volume de um litro, os picos alcançados foram bem menores, chegando a apenas $50,0 \times 10^4$ células/ml, no 19º dia de cultivo. A partir do 22º dia de cultivo, houve uma recuperação da densidade,

alcançando $88,50 \times 10^4$ células/ml no 26º dia de cultivo no volume de 10 litros.

A menor densidade atingida no meio F1 aconteceu após a repicagem em um litro de cultura, com apenas $19,25 \times 10^4$ células/ml, no 17º dia de cultivo (figura 5).

Em todas os volumes para F1 a coloração do meio era caracteristicamente verde, aumentando sua intensidade progressivamente com o número de células.

O meio F2 à base de uréia e fosfato ácido de potássio, apresentou-se ineficiente em todos os volumes, atingindo sempre baixas concentrações celulares. Seu melhor desempenho ocorreu no 12º dia de cultivo em 60ml de cultura, com $20,75 \times 10^4$ células/ml. Prosseguindo a repicagem, houve uma diminuição gradativa do número de células, alcançando apenas $6,25 \times 10^4$ células/ml no 19º dia de cultivo para um litro de cultura, havendo uma pequena redução no volume de 10 litros no 26º dia de cultivo, com $5,75 \times 10^4$ células/ml (figura 6).

O desempenho de *Dunaliella salina* no meio F3 à base de uréia, foi semelhante ao meio F2, apresentando-se sempre com baixo número de células. O seu pico máximo de desenvolvimento aconteceu no 12º dia de cultivo com $14,50 \times 10^4$ células/ml, em 60ml de cultura. A partir do volume de um litro, iniciou-se uma diminuição gradativa da densidade celular, não ultrapassando entretanto, $2,00 \times 10^4$ células/ml obtido no 19º dia de cultivo. Para o volume de 10 litros, seu pico máximo ocorreu no 26º dia de cultivo com apenas $1,50 \times 10^4$ células/ml (figura 7).

Em ambos os meios F2 e F3, a coloração verde característica não se manifestou, ficando a água de cultura turva durante todo o cultivo. Deve-se

salientar também, que *Dunaliella salina* possuía movimentos mais lentos devido, talvez, à carência de nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. Supõe-se então, que o superfosfato triplo existente no meio F1 supria esta necessidade.

O meio convencional FeNS obteve um melhor desempenho para *Dunaliella salina* no 19º dia de cultivo, atingindo $127,25 \times 10^4$ células/ml, em um litro de cultura. Antes disso, o pico máximo aconteceu no 12º dia de cultivo em 60ml de cultura, com $44,25 \times 10^4$ células/ml (figura 8).

Ao final do cultivo, no volume de 10 litros do meio FeNS, ocorreu o aparecimento inicialmente de protozoários ciliados e posteriormente, de fungos, diminuindo a eficiência do cultivo e acarretando a redução eminente do número de células, devido à contaminação alcançando apenas $25,75 \times 10^4$ células/ml no 24º dia de cultivo. Neste ponto, a coloração da água mudou passando de verde para marrom, havendo também o aparecimento de pontos marrons nas paredes e no fundo do recipiente, o que denunciava claramente a presença dos fungos.

- DESENVOLVIMENTO DE *Chaetoceros gracilis*

O melhor resultado alcançado para *Chaetoceros gracilis* aconteceu no meio F1, à base de uréia e superfosfato triplo, com $430,50 \times 10^4$ células/ml em 60ml de cultura no 12º dia de cultivo, sendo o meio que apresentou o maior desenvolvimento durante todo o cultivo. A partir deste ponto os picos alcançados foram menores, havendo uma redução gradativa do número de células nos volumes seguintes: $168,75 \times 10^4$ células/ml em um

litro de cultura e $71,25 \times 10^4$ células/ml no garrafão com 10 litros. Acreditamos que tal decréscimo na densidade celular tenha ocorrido devido às constantes faltas de energia elétrica, o que acarretou um aumento da temperatura e suprimento deficiente de luminosidade e aeração nos cultivos, verificado no laboratório neste período (figura 9).

Em todos os volumes do meio F1, observou-se a coloração marrom característica do cultivo, aumentando sua intensidade de acordo com o número de células.

O meio de cultura F2 obteve um dos mais baixos desempenhos para *Chaetoceros gracilis*. Seu pico máximo aconteceu no 12º dia de cultivo alcançando uma densidade de $19,25 \times 10^4$ células/ml em 60ml de cultura, declinando nos volumes seguintes. Em um litro de cultura seu pico foi de $10,50 \times 10^4$ células/ml no 19º dia de cultivo e em 10 litros de cultura apresentou uma significativa recuperação atingindo 16×10^4 células/ml, no 26º dia de cultivo. Esse meio apresentou-se com um desenvolvimento homogêneo durante todo o período, além de apresentarem células maiores apesar de estarem em número bem reduzido (figura 10).

O melhor desempenho para *Chaetoceros gracilis* no meio F3 aconteceu no 12º dia de cultivo em 60ml de cultura, apresentando uma densidade de 12×10^4 células/ml. Com a continuidade da repicagem seus picos foram diminuindo consideravelmente, alcançando apenas $3,25 \times 10^4$ células/ml em um litro de cultura e $2,50 \times 10^4$ células/ml no 17º e no 24º dias de cultivo, respectivamente (figura 11).

Acreditamos que os baixos desempenhos alcançados por *Chaetoceros gracilis* nos meios F2 e F3 foram resultados da reduzida quantidade de nutrientes existentes nesses meios, necessários para o seu crescimento

satisfatório. Além disso, ambos os meios apresentaram-se turvos, sem a coloração marrom característica, resultante do desenvolvimento celular afetado.

No meio de cultura FeNS seu pico inicial foi de apenas 95×10^4 células/ml em 60ml de cultura no 10º dia de cultivo, obtendo um desenvolvimento melhor no 12º dia com 213×10^4 células/ml. Em todo o experimento o seu melhor desempenho aconteceu no 17º dia de cultivo com $389,50 \times 10^4$ células/ml para *Chaetoceros gracilis* em um litro de cultura.

Ao alcançar o volume de 10 litros, seu desenvolvimento foi comprovadamente inferior devido à contaminação do meio pela microalga *Tetraselmis chii* que parecia assimilar os nutrientes mais efetivamente do que *Chaetoceros gracilis*, pois observamos sua redução gradativa (apenas 75×10^4 células/ml) e posterior substituição pela microalga contaminante, conforme pode ser observado na Figura 12. Isto se deveu por certo, ao manuseio de pipetas mal esterilizadas, contendo células de *Tetraselmis chuii*, existentes no banco de microalgas do Laboratório de Planctologia do Departamento de Engenharia de Pesca.

Dentre os meios utilizados para *Chaetoceros gracilis*, podemos observar que o meio F1 foi o mais eficiente mostrando os melhores desempenhos, seguido do meio FeNS. Os meios F2 e F3 apresentaram-se sempre com baixos resultados, não sendo muito eficazes para uma produção em massa (figura 13).

Para a microalga *Dunaliella salina* o meio F1 também mostrou uma melhor produção, seguido pelo meio convencional FeNS, com resultados

bem próximos. Para os meios F2 e F3 seus desempenhos foram bastante inferiores, apresentando-se semelhantes ao longo do cultivo (figura 14).

Comparando-se os desempenhos entre *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina* podemos observar que o meio F1 mostrou-se como o mais positivo para as duas microalgas, com relação à uma produção em massa, apresentando contudo, um melhor resultado para *Chaetoceros gracilis*, que obteve picos mais elevados de desenvolvimento (figura 15).

Para o meio F2 o desempenho das duas espécies estudadas mostrou-se similar durante quase todo o cultivo, apresentando entretanto um melhor resultado para *Chaetoceros gracilis* ao final do cultivo (figura 16).

Quanto ao meio F3 o desenvolvimento celular para as duas microalgas apresentou-se semelhante durante todo o experimento, obtendo ao final uma mesma produção (figura 17).

O meio convencional FeNS mostrou bons resultados para ambas as espécies, embora tenha apresentado níveis celulares mais baixos para *Dunaliella salina* (figura 18).

CONCLUSÕES

- 1) O meio de cultura F1 à base de fertilizantes agrícolas contendo uréia e superfosfato triplo, foi o que obteve os melhores resultados com relação à produção em massa de microalgas para as duas espécies em estudo.
- 2) No meio F2, à base de uréia e fosfato ácido de potássio, as células de *Chaetoceros gracilis* se apresentaram maiores, mas reduziram consideravelmente a quantidade.
- 3) Nos meios F2 e F3 a microalga *Dunaliella salina* tinha os movimentos mais lentos, sugerindo carência de nutrientes necessários para seu desenvolvimento satisfatório, sendo ineficientes para uma produção em massa.
- 4) O meio F3, cujo único componente era a uréia, mostrou-se o menos eficiente para as duas espécies.
- 5) A diminuição drástica do número de células no cultivo de *Dunaliella salina* em meio FeNS para o volume de 10 litros, deu-se em função da contaminação com cilióforos e fungos.
- 6) A esterilização dos meios de cultura com U.V. nos volumes de 10 litros foi eficiente para todos os cultivos utilizando-se fertilizantes agrícolas, não sendo eficaz entretanto, no meio FeNS com *Dunaliella salina*.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer uma análise comparativa entre o desempenho de diferentes meios de cultura para microalgas, associando maior produção em reduzido espaço de tempo a um menor custo, com o meio de controle FeNS, que é um meio convencional de uso frequente, de fácil preparo e que tem dado bons resultados.

Além do FeNS, foram utilizados neste trabalho meios à base de fertilizantes agrícolas: uréia, superfosfato triplo e silicato de sódio para diatomáceas, em diferentes combinações.

As espécies em estudo: *Dunaliella salina* e *Chaetoceros gracilis* foram escolhidas por serem amplamente utilizadas como alimento nos primeiros estágios de vida larval de organismos marinhos, obtendo-se bastante sucesso tanto do ponto de vista nutricional, quanto na redução de contaminações do meio da larvicultura por microrganismos prejudiciais ao cultivo.

Os resultados alcançados com a produção de microalgas nas diversas combinações testadas com fertilizantes agrícolas, apresentaram-se melhores no meio de cultura F1 à base de uréia e superfosfato triplo, para ambas as microalgas, atingindo um pico de $152,50 \times 10^4$ células/ml, em 60ml de cultura no 12º dia de cultivo, para *Dunaliella salina* e 430×10^4 células/ml.

O meio F2 (à base de uréia e fosfato ácido de potássio) bem como o meio F3 (à base de uréia) apresentaram baixo desempenho com relação às duas espécies de microalgas, mostrando-se ineficientes para uma produção em massa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFONSO, E.; MARTINEZ, L. Comparacion del volumen celular y del crecimiento de *Tetraselmis chuii* spp. com diferentes fertilizantes. **Revista de Investigaciones Marinas**. v. VIII, n. 3, 1987.
- ALFONSO, E.; NUÑEZ, C. M. Uso de nuevos fertilizantes para cultiver fitoplâncton. **Revista de Investigaciones Marinas**. v. VI, n. 1, 1985.
- BEM - AMOTZ, A.; AVRON, M. The Biotechnology of cultivating the haloterant alga *Dunaliella*. Elsevier Science Publishers Ltd. v. 8, p. 121-125, 1990.
- BUITRAGO, E. B. Concentracion y preservacion de microalgas como reserva de alimento de organismos marinos cultivables. **Red Nacional de Acuicultura**. p. 47-53, 1988.
- BUITRAGO, E. B.; NORCINI, C.; ARRAGUE, M. Evaluacion de tres medios nutritivos empleados on el cultivo masivo de *Isochrysis* aff. *galbana* Green. **Boletim Oceanográfico de Venezuela**, Universidade de Oriente, v. 28, n.1/2, p. 97-202, 1989.
- KLEIN, V. L. M.; COSTA, F. A. P. Estudios preliminares sobre cultivo de microalgas en condiciones de laboratorio. **Memoria de IV Simpósio Latino-americano de Aquicultura realizado na República do Panamá** de 25-29 de Janeiro de 1982, 22 p.

KLEIN, V. L. M.; GONZALEZ, A. A. N. Cultivo da microalga *Tetraselmis chuii* Prings em diferentes meios de cultura. **Ciênc. Agron.**, Fortaleza, v. 24, n. 1/2, p. 91-100, 1983.

NEWMARK, F.; CRIALES, M. M.; BLANCO, J. Estandarizacion del cultivo de seis cepas de microalgas com cuatro medios de crecimiento. **Red Nacional de Acuicultura**, p. 149-161, 1989.

OLIVEIRA, A. A. G.; KOENING, L. L. Crescimento exponencial de *Tetraselmis chuii* com fertilizantes orgânicos. **Arq. Biol. Tecnol.** v. 27, n. 3, 1984.

VIEIRA, A. A. H. Métodos de cultura de algas do plâncton marinho - Estudos realizados nas regiões de Cananéia e de Ubatuba, SP. **Bol. Inst. Oceanogr. São Paulo**, v. 26, p. 303-338, 1987.

YAMASHITA, C.; MAGALHÃES, P. M. S. Meios de cultura para a alga *Chaetoceros gracilis*. EMPARN. **Boletim de Pesquisa**, Natal, n. 7, 1984.

TABELA 1 - Composição e concentração do meio de cultura FeNS.

Substância	Quantidade (ml/litro)	Solução (%)
Fosfato ácido de sódio	0,5	1,0
Sulfato de ferro amônia	0,5	0,5
Nitrato de potássio	1,0	4,0
EDTA	1,0	1,0
Silicato de sódio (1)	0,5	1,0

(1) O silicato de sódio é usado apenas em meio com *Chaetoceros gracilis*.

TABELA 2 - Preparação dos meios de cultura à base de fertilizantes agrícolas.

SUBSTÂNCIAS	MEIOS DE CULTURA		
	F1 (mg/litro)	F2 (mg/litro)	F3 (g/litro)
Uréia	600	100	0,2
Superfosfato triplo	300	—	—
Silicato de sódio	150	—	—
Fosfato ácido de potássio	—	200	—

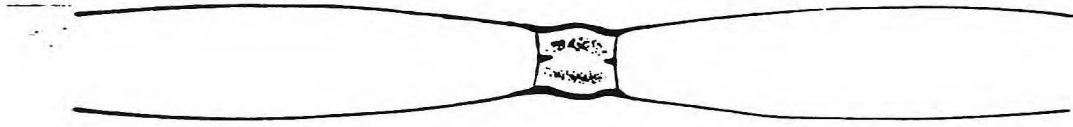


Figura 1 - *Chaetoceros gracilis*

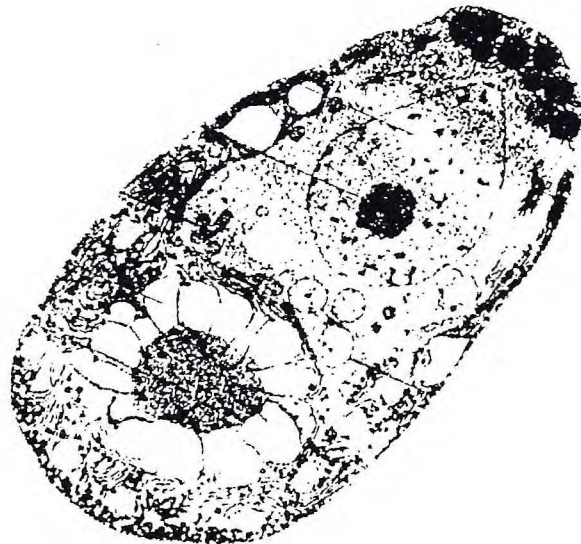


Figura 2 - *Dunaliella salina*

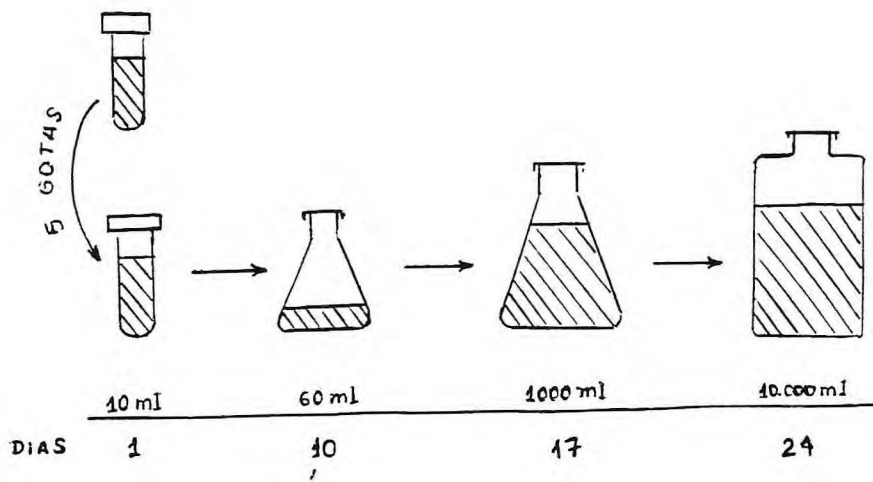


Figura 3 - Ciclo de cultivo de microalgas.

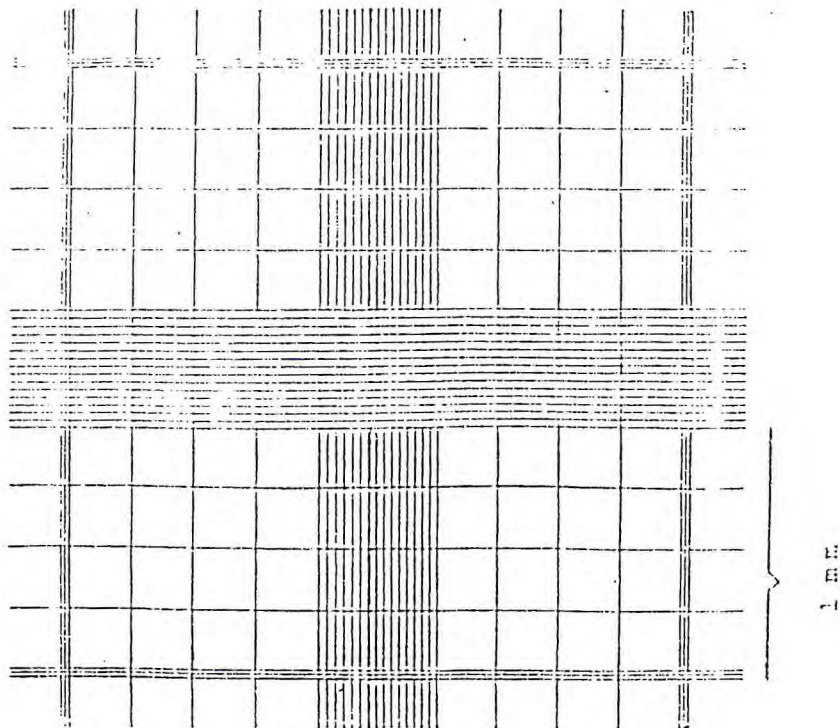


Figura 4 - Esquema da câmara de Newbauer.

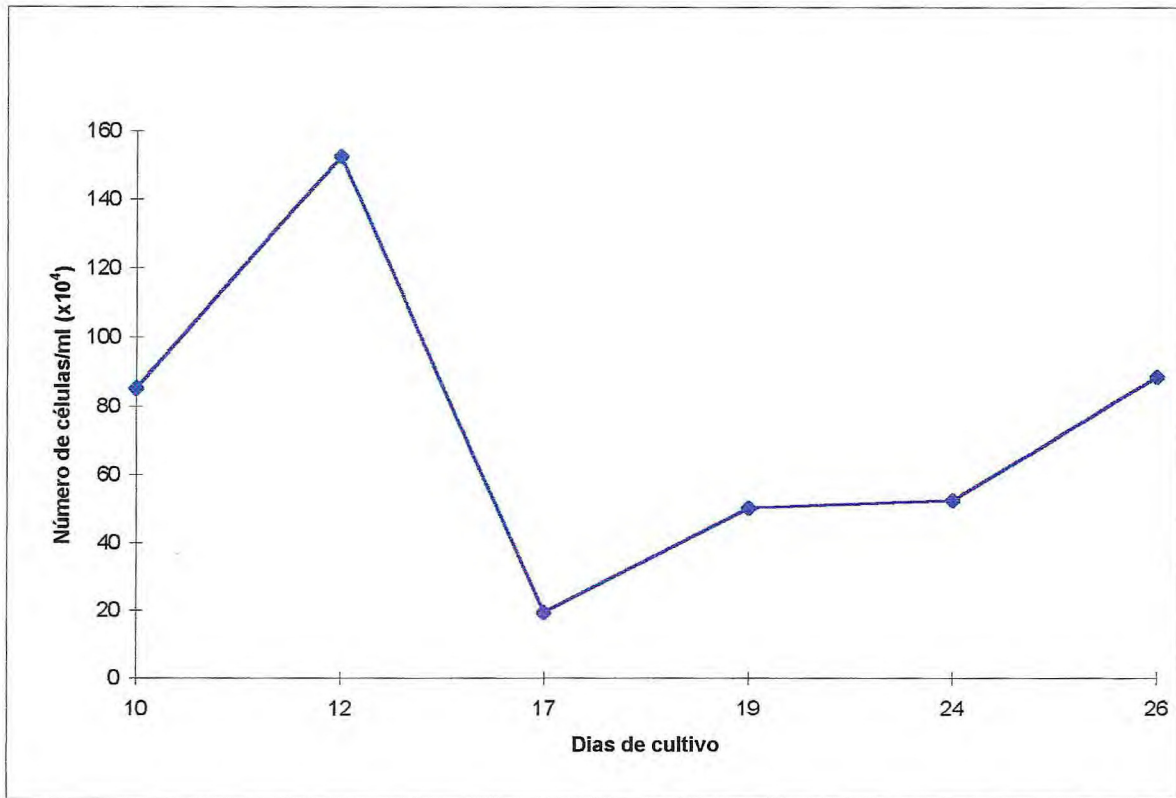


Figura 5 - Desenvolvimento de *Dunaliella salina* em meio F1

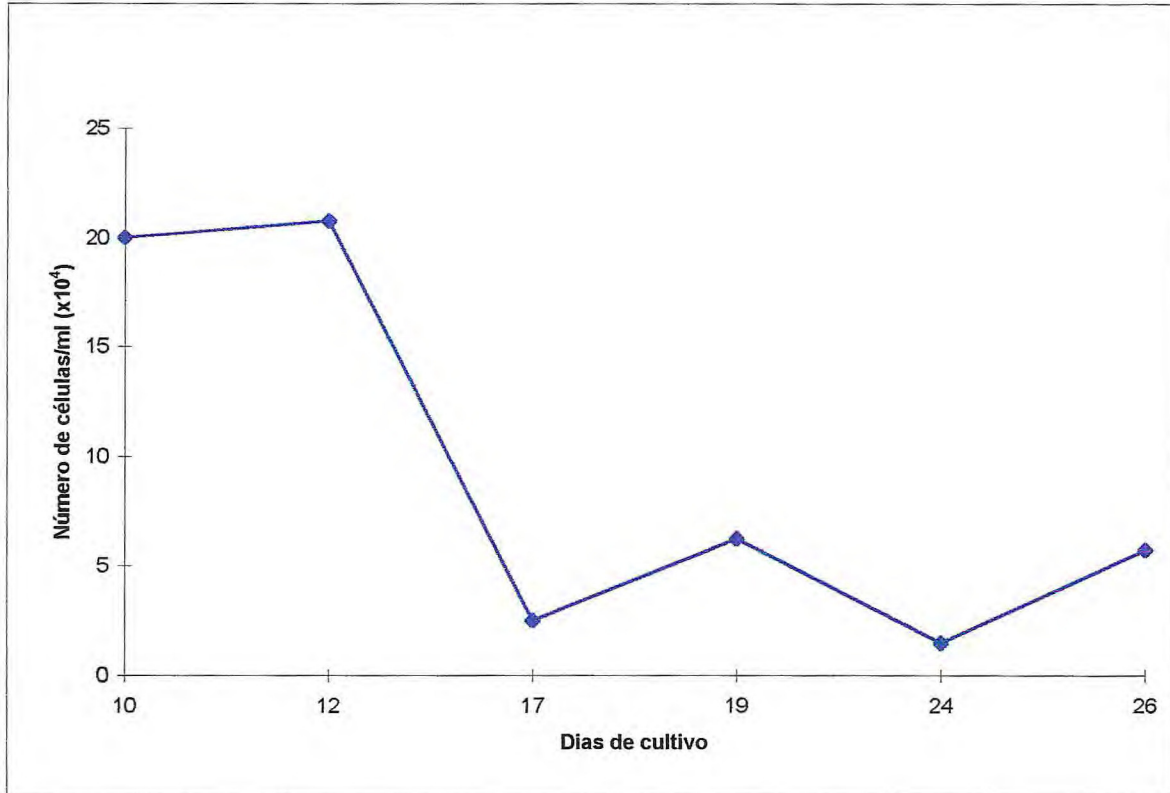


Figura 6 - Desenvolvimento de *Dunaliella salina* em meio F2

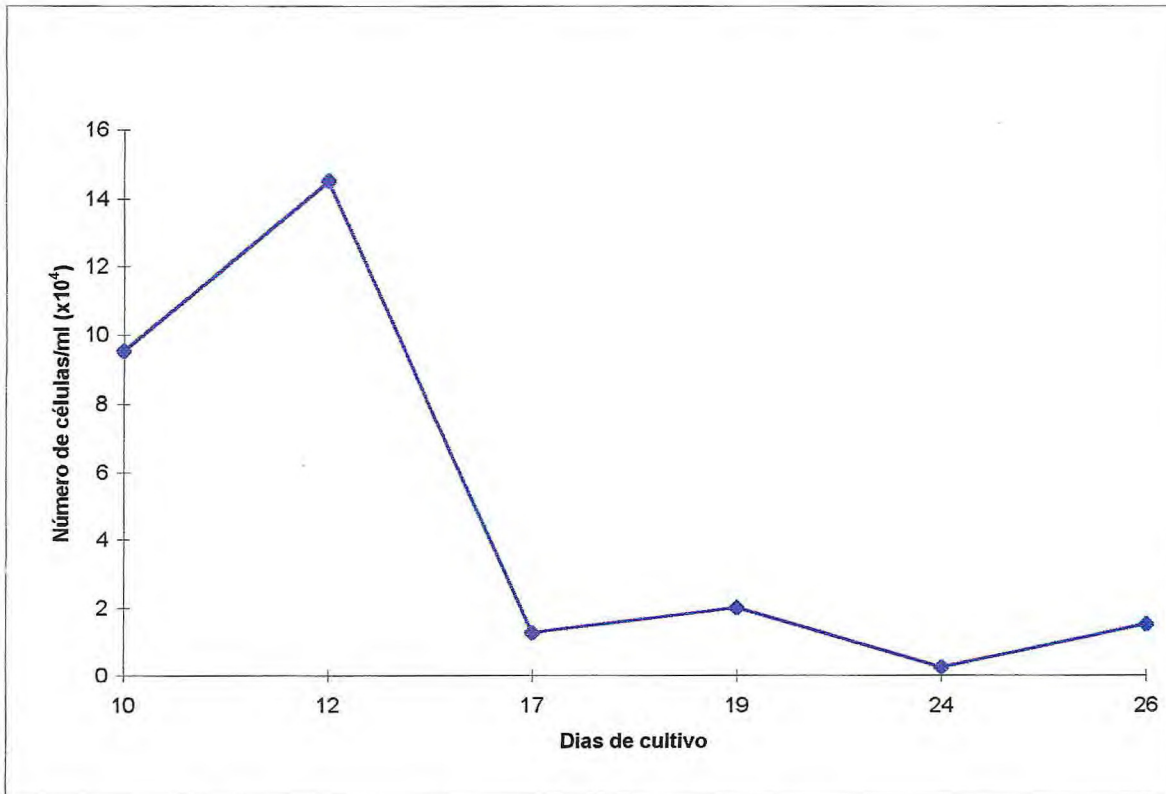


Figura 7 - Desenvolvimento de *Dunaliella salina* em meio F3

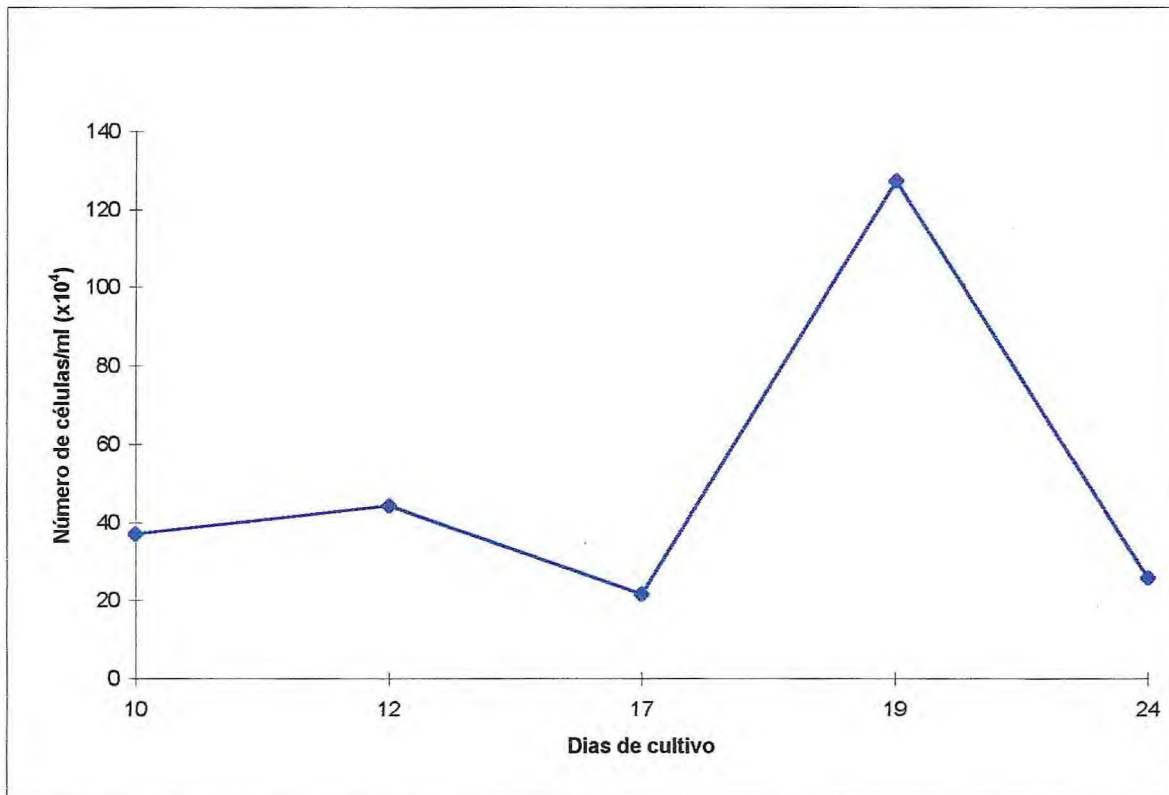


Figura 8 - Desenvolvimento de *Dunaliella salina* em meio FeNS

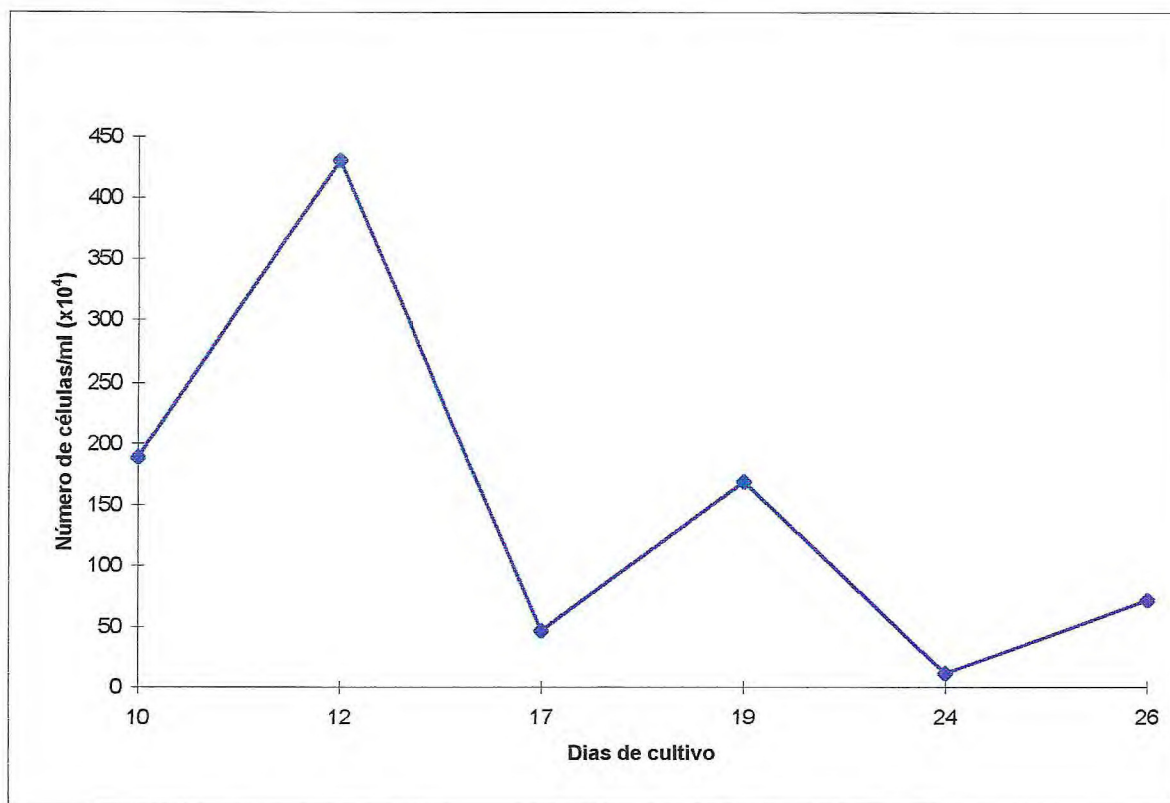


Figura 9 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* em meio F1

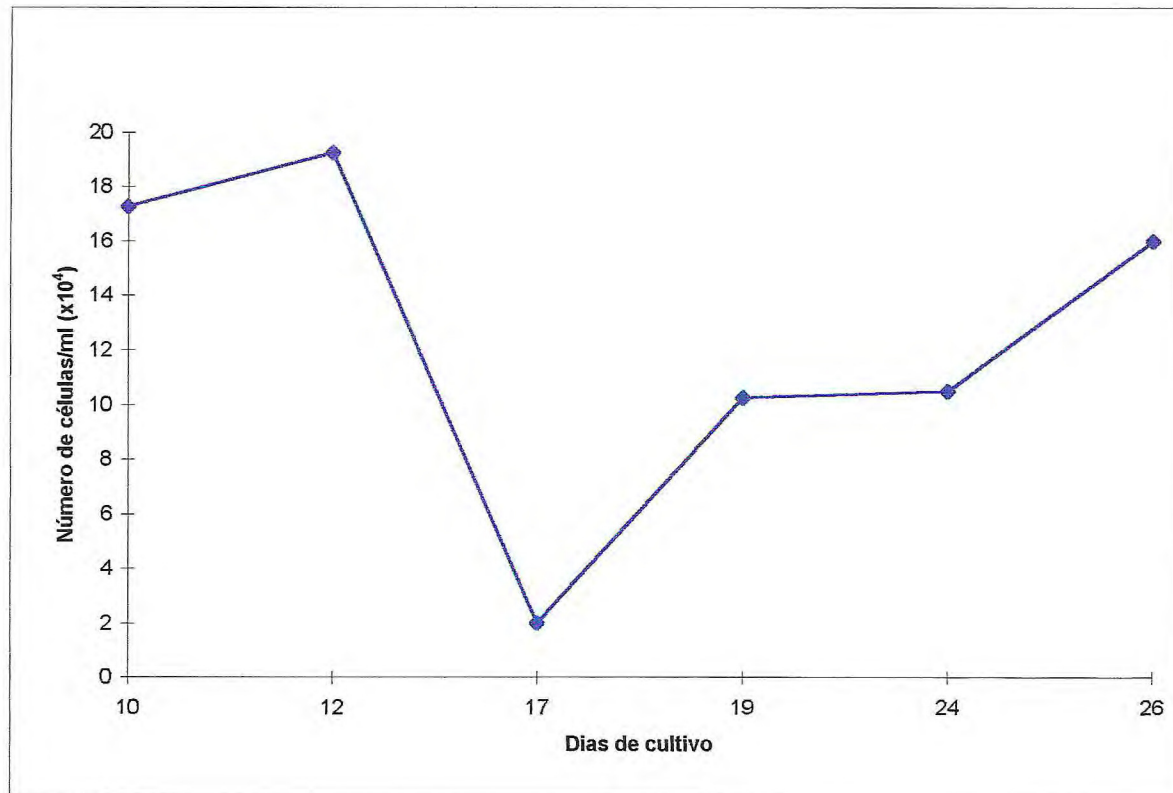


Figura 10 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* em meio F2

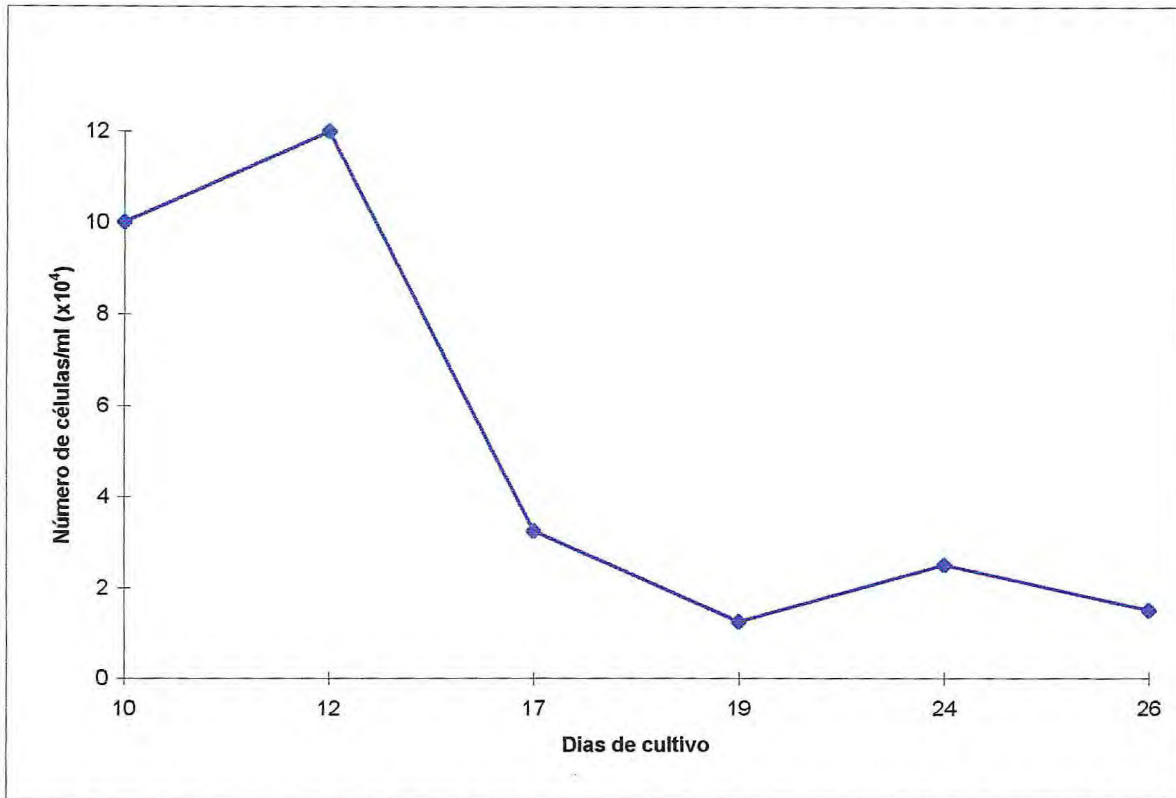


Figura 11 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* em meio F3

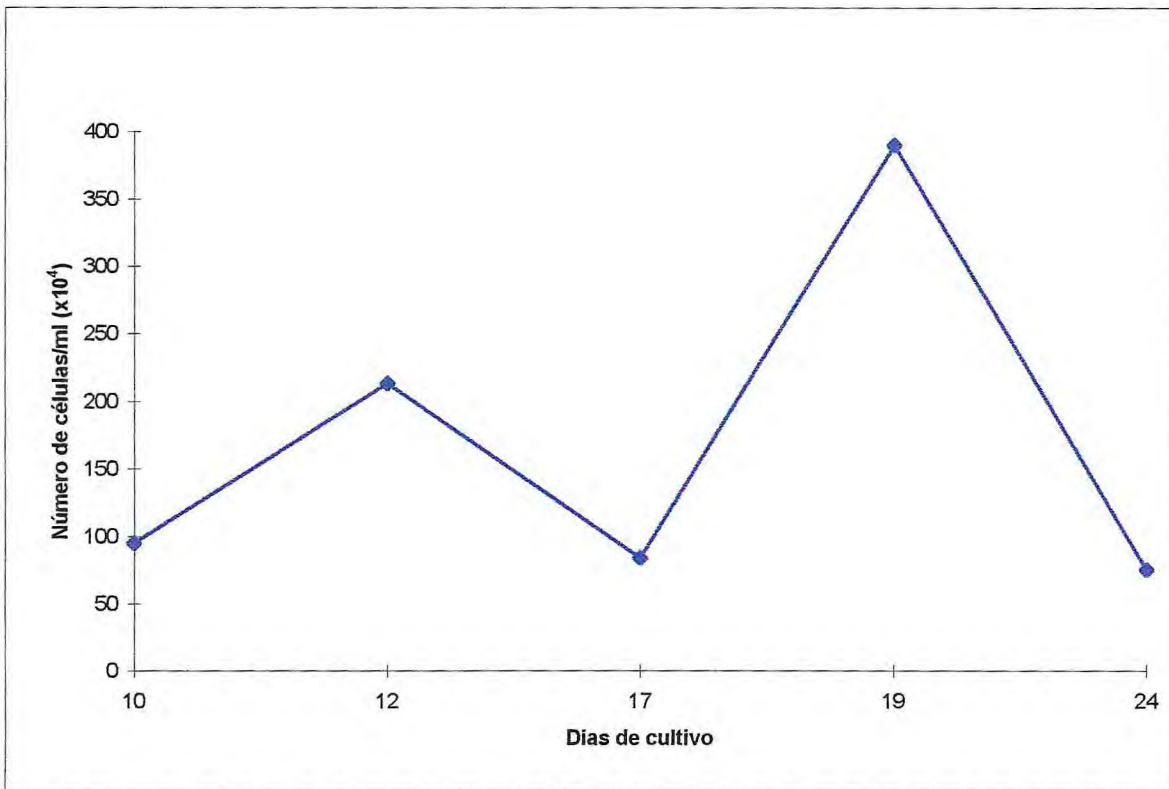


Figura 12 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* em meio FeNS

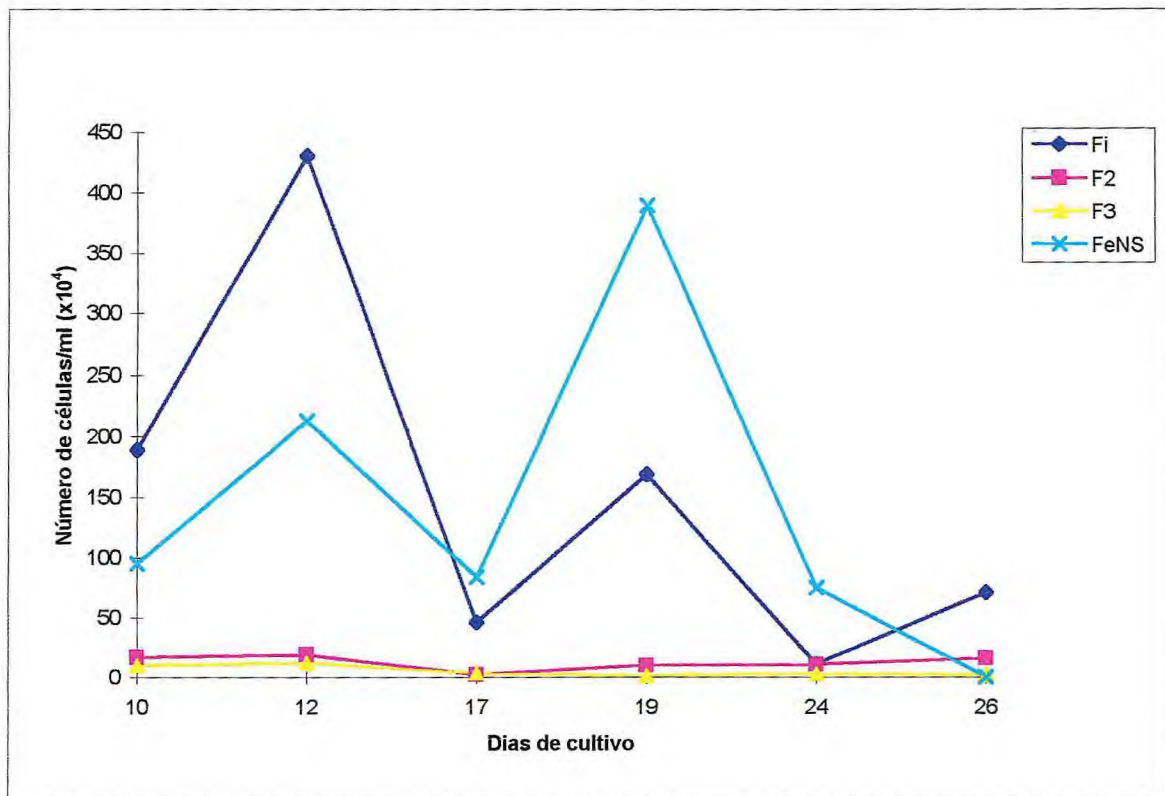


Figura 13 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* em diferentes meios de cultura.

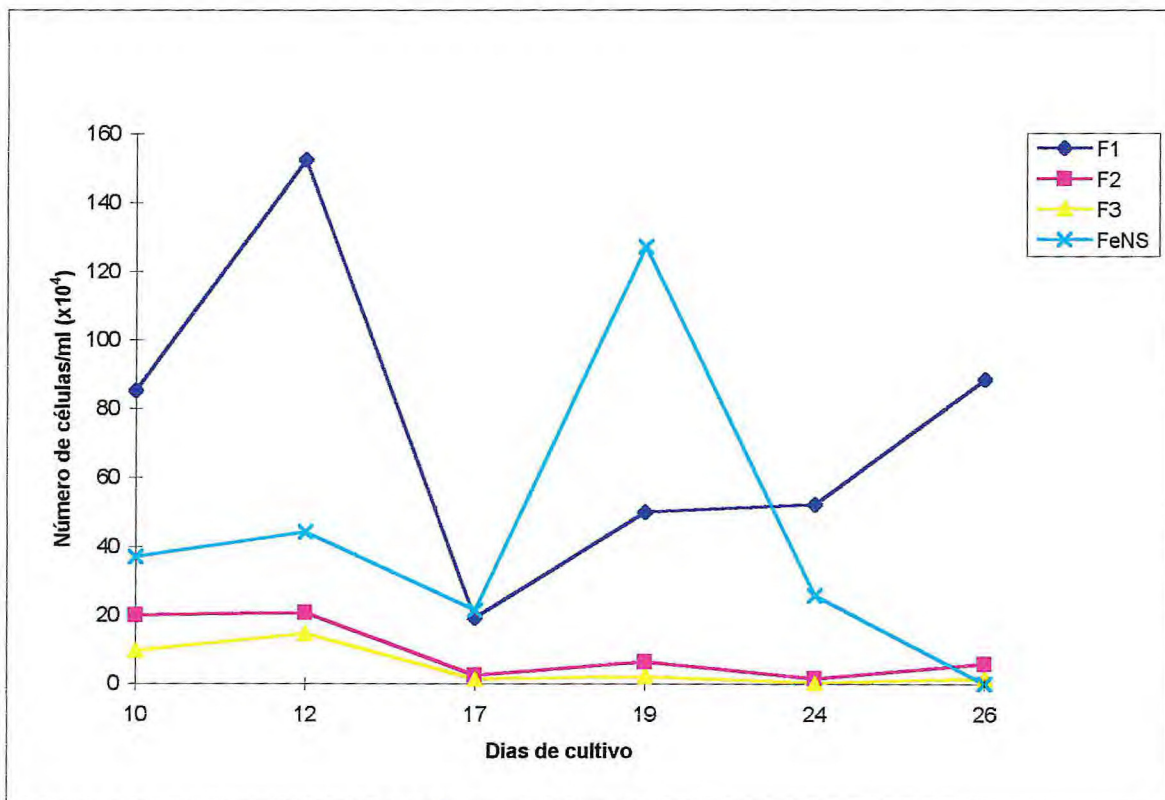


Figura 14 - Desenvolvimento de *Dunaliella salina* em diferentes meios de cultura

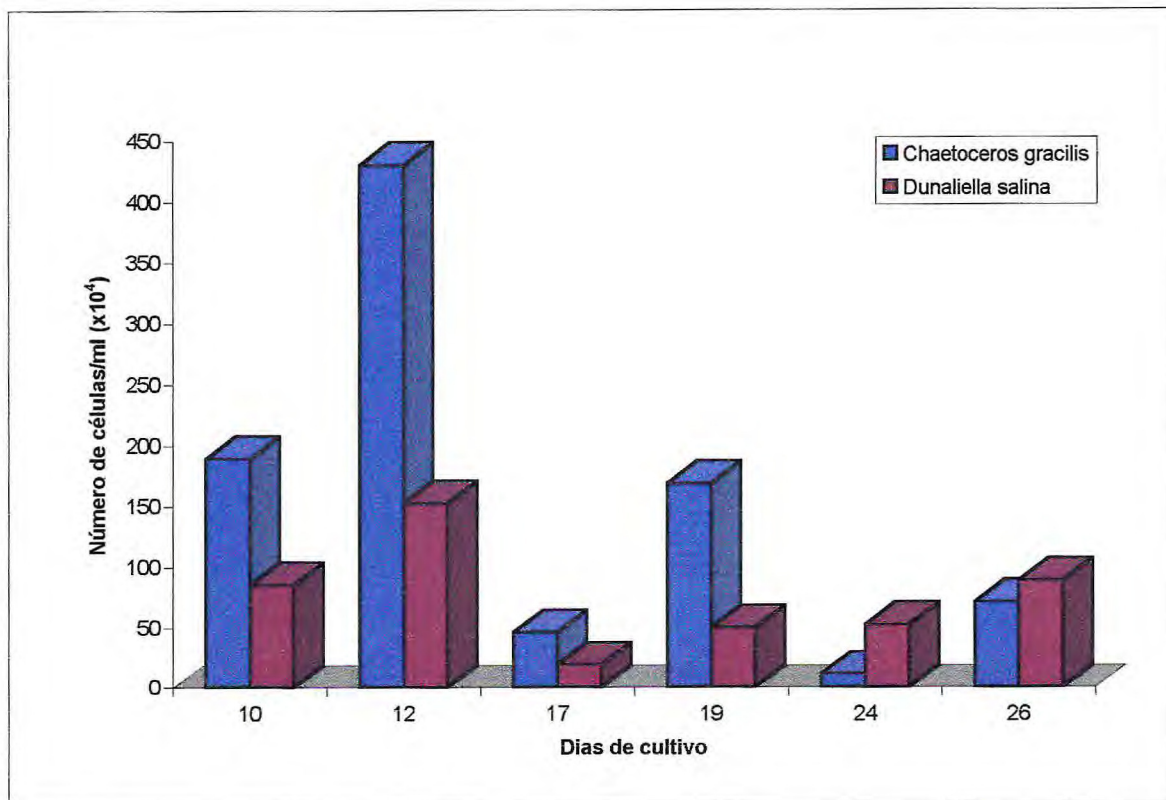


Figura 15 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina* em meio F1

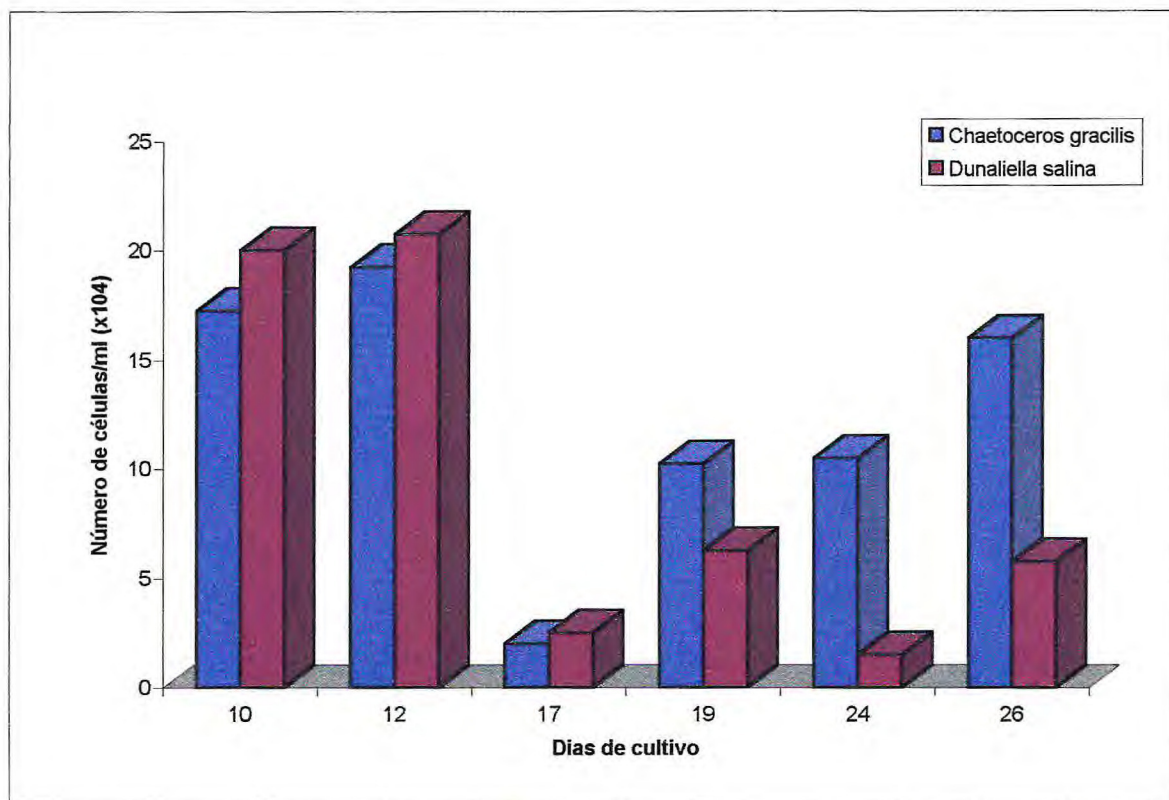


Figura 16 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina* em meio F2

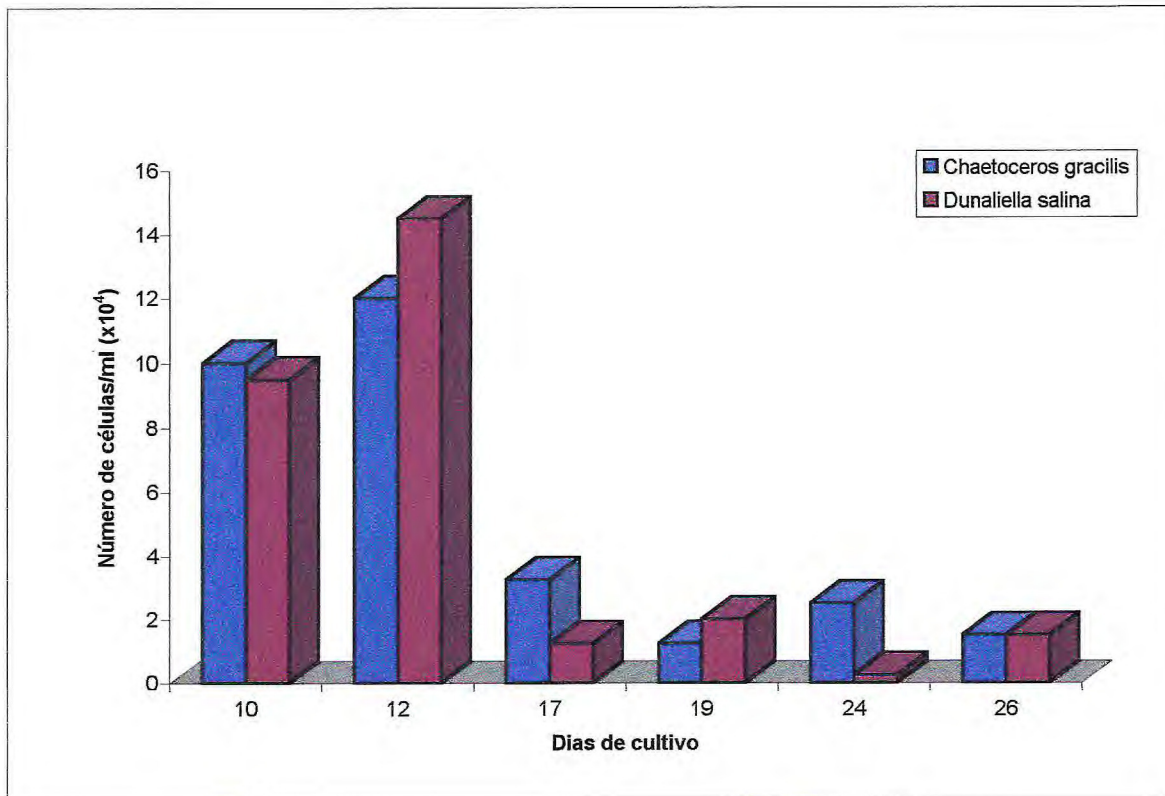


Figura 17- Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina* em meio F3

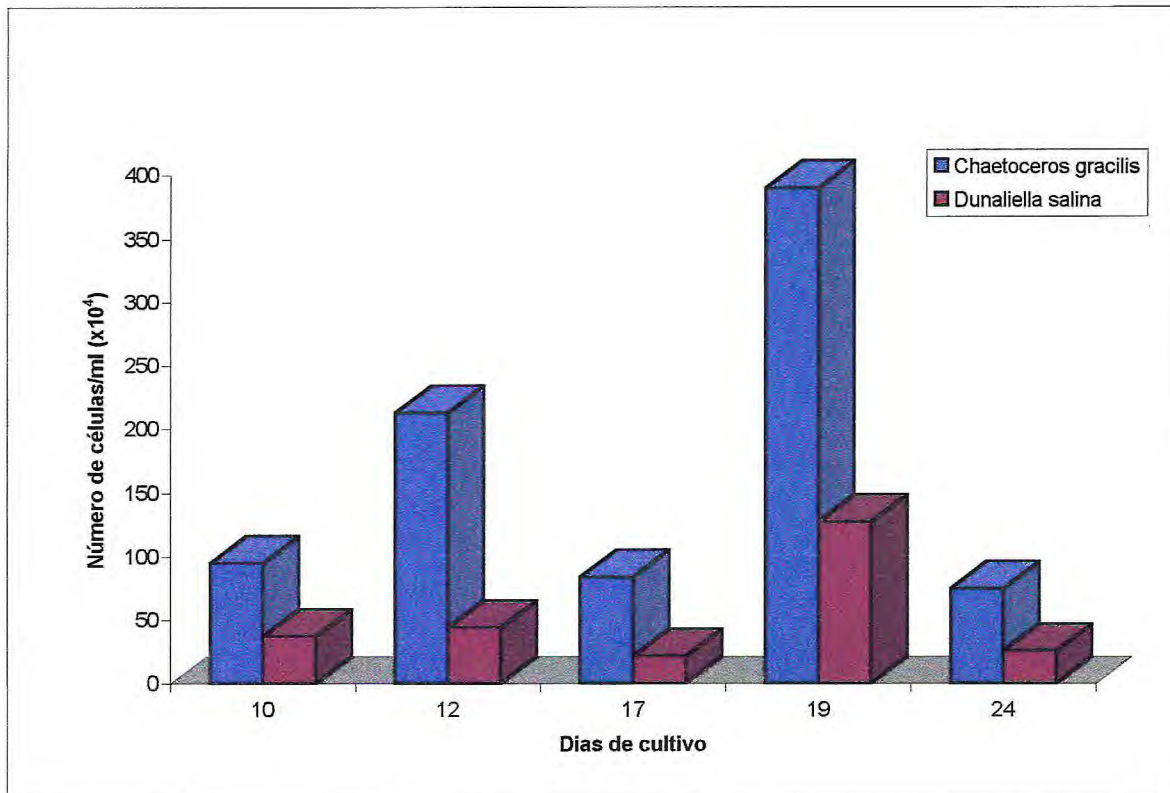


Figura 18 - Desenvolvimento de *Chaetoceros gracilis* e *Dunaliella salina* em meio FeNS