

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**UNS**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL SANTA

**Capacidad de la microalga *Tetraselmis suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO ACUICULTOR**

**Autores:**

**Bach. Carhuanina León, Gabby Adela**

**Bach. Fuentes Jara, Sandra Lissette**

**Asesor:**

**Dr. Juan Fernando Merino Moya**

**DNI: 17909299**

**ORCID: 0000-0002-4848-3190**

**NUEVO CHIMBOTE – PERÚ**

**2023**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**UNS**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL SANTA

**Capacidad de la microalga *Tetraselmis suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei***


**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO  
ACUICULTOR**

**Autores:**

**Bach. Carhuanina León, Gabby Adela**

**Bach. Fuentes Jara, Sandra Lissette**

Revisado y aprobado por el asesor:



---

**Dr. Juan Fernando Merino Moya**

**DNI:17909299**

**ORCID: 0000-0002-4848-3190**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**UNS**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL SANTA

**Capacidad de la microalga *Tetraselmis suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO  
ACUICULTOR**

Revisado y aprobado por el jurado evaluador:

**Dr. Walter Reyes Avalos**  
Presidente

**DNI: 17878579**

**ORCID: 0000-0002-4277-9521**

**Dr. Juan Fernando Merino Moya**  
Integrante

**DNI: 17909299**

**ORCID: 0000-0002-4848-3190**

**M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza**  
Integrante

**DNI: 32924785**

**ORCID: 0000-0002-9212-8030**

## ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Laboratorio de Biología Acuática, siendo las 12:00 horas del día 21 de Febrero del 2023, dando cumplimiento a la Resolución N° 054-2023-UNS-FC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por Dr. Walter Reyes Ayala, teniendo como miembros a M.Sc Sorayda Mendoza Espinoza (secretario) (a), y Dr. Juan Fernando Merino Moya (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biólogo Acuicultor realizado por el, (la), (los) tesista (as) Sandra Lissette Fuentes Jara Gabby Adela Carhuamán León

....., quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: Capacidad de la microalga Tetraselmis suecica para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco Litopenaeus vannamei

Terminada la sustentación, el (la), (los) tesista (as)s respondió (ieron) a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como Aprobado (Bueno) asignándole un calificativo de Dieciocho (18) puntos, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU.-R-UNS)

Siendo las 13:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

Nombre: Walter Reyes Ayala  
Presidente

Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza  
Secretario

Nombre: Juan Fernando Merino Moya  
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (2), tesistas (2) y archivo (02).



## DEDICATORIA

*Dedico este informe a mi Padre amado, a ti mi Dios, porque a través de tu palabra me corriges, me exhortas y a la vez me animas a no desmayar en esta etapa de mi vida, gracias por tu amor y tu paciencia Señor.*

*Dedico también este trabajo al amor de mi vida, a ti mi Angelito bello al regalo más hermoso que me ha dado Dios y la prueba de su misericordia.*

**Sandra**

*Le dedico el resultado de este trabajo a DIOS, por ser guía en mi camino y por darme la fuerza necesaria para culminar esta meta, a mis amados padres HESQUIO y JACOBA por todo su amor y por motivarme a seguir hacia adelante y nunca rendirme.*

*Asimismo, quiero dedicarle este trabajo a mi hija Belén para que cada una de mis metas alcanzadas le quede como ejemplo, a mis hermanas, JESSICA y MARISOL por brindarme su apoyo moral e incondicional.*

**Gabby**

## AGRADECIMIENTOS

*Agradecer a mis profesores miembros del jurado evaluador por su tiempo, por su paciencia y por darnos la oportunidad de culminar esta etapa en nuestra vida profesional.*

*Agradecer también a mis hermanos y mi madre por animarme siempre a culminar y cerrar este ciclo de mi vida.*

*y sobre todo agradecida con mi Padre amado, Porque de Él, por Él y para Él son todas las cosas. A Él sea la gloria para siempre. Amén.*

**Sandra**

*Agradecer a mis amados padres, hermanas y esposo, quienes me persuadieron constantemente para retomar esta batalla y culminar con este proyecto.*

*Asimismo, agradecer a mi compañera de tesis SANDRA por su apoyo incondicional para culminar este proyecto y por no rendirse nunca y mis profesores por darme la oportunidad de culminar esta etapa profesional, y sobre todo agradecer a Dios por ser fortaleza en nuestras vidas.*

**Gabby**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>8</b>
2.1 LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	8
2.2 OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO .....	8
<b>MEDIO HM .....</b>	<b>8</b>
2.3 OBTENCIÓN DEL AGUA DE MAR .....	8
2.4 OBTENCIÓN DEL EFLUENTE.....	9
2.5 PREPARACIÓN DEL INÓCULO.....	10
2.6 DISEÑO EXPERIMENTAL .....	10
2.7 ACONDICIONAMIENTO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES.....	11
2.8 REGISTRO DE pH Y TEMPERATURA .....	11
2.9 DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE <i>T. suecica</i> .....	12
2.10 DETERMINACIÓN DE LOS NUTRIENTES.....	12
2.11 TASA DE REMOCIÓN DE NUTRIENTES.....	12
2.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	13
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>14</b>
3.1 TEMPERATURA.....	14
3.2 pH .....	15
3.3 DENSIDAD POBLACIONAL .....	16
3.4 TASA DE CRECIMIENTO POBLACIONAL Y TIEMPO DE DUPLICACIÓN .....	17
3.5 TASA DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO.....	18
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>23</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>24</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>25</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>33</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química del medio de cultivo HM .....	8
<b>Tabla 2.</b> Concentraciones de nitrógeno y fosforo contenidas en el efluente de las pozas de sedimentación del hatchery de langostino blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> del Centro de Investigación y Desarrollo de Post Larvas de Langostino Marinazul S.A .....	09
<b>Tabla 3.</b> Diseño experimental de la investigación .....	10
<b>Tabla 4.</b> Composición de los tratamientos del cultivo de <i>T. suecica</i> con el efluente de hatchery de langostino blanco .....	11
<b>Tabla 5.</b> Concentraciones iniciales de nitrógeno (NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub> ) y fósforo (PO <sub>4</sub> ) de cada tratamiento .....	17
<b>Tabla 6.</b> Tasa de crecimiento poblacional y tiempo de duplicación al quinto día de cultivo de la microalga <i>Tetraselmis suecica</i> dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco <i>L. vannamei</i> .....	18
<b>Tabla 7.</b> Cantidades removidas (mg/L) y tasa de remoción de nitrógeno (NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> y NH <sub>3</sub> ) de los tratamientos .....	19
<b>Tabla 8.</b> Cantidades removidas (mg/L) y tasa de remoción de fosforo (PO <sub>3</sub> ) de los tratamientos	19



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Pozas de sedimentación del hatchery de langostino blanco <i>Litopenaues vannamei</i> del centro de investigación y desarrollo de post larva de langostino Marinazul, de donde se obtuvo el efluente .....	10
<b>Figura 2.</b> Variación de la temperatura de los cultivos de <i>T. suecica</i> dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco <i>L. vannamei</i> .....	14
<b>Figura 3.</b> Comportamiento del pH durante los días de cultivo .....	15
<b>Figura 4.</b> Curva de la densidad poblacional de la microalga <i>Tetraselmis suecica</i> dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco <i>L. vannamei</i> .....	16
<b>Figura 5.</b> Concentraciones iniciales y finales de nitrógeno y fósforo por cada tratamiento .....	20

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Registro de la temperatura durante los días de cultivo por cada tratamiento .....	33
<b>Anexo 2.</b> Registro de la temperatura promedio durante los días de cultivo .....	34
<b>Anexo 3.</b> Registro del pH durante los días de cultivo por cada tratamiento .....	35
<b>Anexo 4.</b> Registro del pH promedio durante los días de cultivo de cada tratamiento .....	36
<b>Anexo 5.</b> Densidad poblacional durante los días de cultivo por cada tratamiento .....	37
<b>Anexo 6.</b> Densidad poblacional promedio por tratamiento durante los días de cultivo .....	38
<b>Anexo 7.</b> Tasa de crecimiento poblacional y tiempo de duplicación diaria de la microalga <i>Tetraselmis suecica</i> dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco <i>L. vannamei</i> de cada tratamiento .....	39
<b>Anexo 8.</b> Concentración inicial y final de NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub> y PO <sub>4</sub> de cada tratamiento .....	40
<b>Anexo 9.</b> Concentración inicial y final del nitrógeno total y fosforo de cada tratamiento .....	41
<b>Anexo 10.</b> Tasa de remoción de nitrógeno y fósforo por cada tratamiento .....	41
<b>Anexo 11.</b> Tasa de remoción promedio de nitrógeno y fósforo por cada tratamiento .....	42

## RESUMEN

La actividad acuícola promueve la generación de empleos y divisas; Sin embargo, una de sus desventajas es que altera el ecosistema circundante al verter sus efluentes directamente al cuerpo receptor incrementándose los niveles de nutrientes causando mortalidad de las especies acuáticas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad que tiene la microalga *T. suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo del efluente de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*. Se empleó el diseño estímulo creciente, consistente en cuatro tratamientos (200 ml, 300 ml, 400 ml y 500 ml de efluente) más un grupo control (HM), con tres repeticiones cada uno, a los cuales se les inoculó 200 ml de la microalga ( $1,08 \times 10^5$  cél/mL aproximadamente) y enrasó con agua de mar hasta obtener un volumen efectivo de 1500 ml de cultivo manteniéndolos con luz y aireación constante durante 7 días. Los resultados demuestran que *T. suecica* es capaz de reducir altas concentraciones de los nutrientes, que van desde 87.37% a 91.21% para el caso del nitrógeno y 94.42% hasta 97.41% de remoción del fosforo; Asimismo, se demostró que el efluente de un hatchery de larvas de *L. vannamei* es un medio de cultivo eficiente para el crecimiento de esta microalga; en ese sentido el tratamiento 4 (500 ml de efluente) fue el más eficiente al remover mayor cantidad de nitrógeno y fósforo, y obtuvo la mayor tasa de crecimiento poblacional ( $\mu$ ) y el menor tiempo de duplicación (TD) por lo cual es el tratamiento recomendado para ser implementado ya que cuenta con las condiciones necesarias para cumplir la función de remover los nutrientes del efluente de hatchery de langostino blanco y al mismo tiempo fomenta el buen crecimiento de esta microalga.

**Palabras Clave:** Microalga *Tetraselmis suecica*, capacidad de remoción, efluente de hatchery de langostino blanco *Litopenaues vannamei*.

## ABSTRACT

The aquaculture activity promotes the generation of jobs and foreign exchange; However, one of its disadvantages is that it alters the surrounding ecosystem by pouring its effluents directly into the receiving body, increasing nutrient levels, causing mortality of aquatic species. The objective of this work was to evaluate the capacity of the microalga *T. suecica* to remove the concentrations of nitrogen and phosphorus from the effluent of a white shrimp *Litopenaeus vannamei* hatchery. The increasing stimulus design was used, consisting of four treatments (200 ml, 300 ml, 400 ml and 500 ml of effluent) plus a control group (HM), with three repetitions each, which were inoculated with 200 ml of the microalgae (approximately  $1.08 \times 10^5$  cells/mL) and filled up with seawater until an effective volume of 1500 ml of culture was obtained, keeping them under constant light and aeration for 7 days. The results show that *T. suecica* is capable of reducing high concentrations of nutrients, ranging from 87.37% to 91.21% in the case of nitrogen and 94.42% to 97.41% of phosphorus removal; Likewise, it was shown that the effluent from a *L. vannamei* larvae hatchery is an efficient culture medium for the growth of this microalgae; In this sense, treatment 4 (500 ml of effluent) was the most efficient by removing the greatest amount of nitrogen and phosphorus, and obtained the highest population growth rate ( $\mu$ ) and the shortest doubling time (TD), for which it is the recommended treatment to be implemented since it has the necessary conditions to fulfill the function of removing nutrients from the white shrimp hatchery effluent and at the same time promotes the good growth of this microalgae.

**Keywords:** *Tetraselmis suecica* microalgae, removal capacity, effluent from hatchery of white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

## I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad de gran importancia económica a nivel mundial como generadora de empleos, divisas y productos alimenticios de un alto valor nutricional y accesibles a un gran sector de la población (Barraza et al., 2014). Se estima que la producción mundial de recursos hidrobiológicos ha alcanzado unos 179 millones de toneladas en el 2018, de los cuales 82 millones de toneladas provinieron de la producción acuícola (continental y marina) representando el 46 % de la producción con un valor de 250 mil millones de dólares en divisas (FAO, 2020).

En el Perú, la producción acuícola está representada por la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, la tilapia nilótica *Oreochromis niloticus*, la concha de abanico *Argopecten purpuratus* y el langostino blanco *Litopenaeus vannamei* (Ramirez, et al., 2018), Siendo estas dos últimas especies las que tienen como destino los mercados internacionales.

En lo que a acuicultura continental se refiere, la especie más representativa que se cultiva en el Perú es *L. vannamei*, especie preferida y más utilizada para el cultivo de langostinos en todo el mundo (FAO, 2020). Los principales departamentos donde se cultivan son: Tumbes y Piura, siendo el departamento de Tumbes el de mayor importancia puesto que en el año 2017 tuvo una producción del 89 % del volumen total de langostino proveniente de la acuicultura, además de acuerdo con el Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola 2017 del Ministerio de la Producción, Piura cuenta sólo con 500 hectáreas de producción, mientras que Tumbes cuenta con 6 340 hectáreas (Del Carpio, 2020). La mayor parte de la producción de langostinos se realiza en estanques, los cuales descargan sus efluentes directamente al ecosistema costero ya sea cuando realizan un recambio de agua o cuando los estanques son drenados para la cosecha (Barraza et al., 2013).

Van y Maeda (2015) reportan que para producir 1.0 kilogramo de camarón necesita 84.9 g de N y 26.1 g de P y descarga 47.3 g de N y 16.0 g de P al ambiente. Por lo tanto, el vertimiento de estos efluentes a cuerpos de agua receptores conduce a un significativo incremento en los niveles de nutrientes, biomasa del fitoplancton, materia orgánica y sólidos suspendidos.

Como resultado de ello, en los cuerpos de agua receptores se pueden originar florecimientos algales debido a las altas concentraciones de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo y conducir a la eutrofización. Estos eventos crean hipoxia o anoxia en aquellos cuerpos de agua conllevando en algunos casos a mortandades de organismos que habitan en esos cuerpos de agua (Del Río et al., 2016). Algunos de estos florecimientos de algas pueden producir cantidades elevadas de toxinas y crecimiento bacteriano perjudiciales inclusive para el ser humano, por lo que una persona podría enfermarse si entra en contacto con agua contaminada (EPA, 2021).

En definitiva, es indudable que el crecimiento de la acuicultura, en este caso específico del cultivo de langostino tiene un efecto positivo en la región y por ende en el país en donde se desarrolla, debido a la generación de empleos y divisas; sin embargo, esta actividad afecta también de manera negativa al ecosistema que lo rodea al verter sus efluentes directamente al cuerpo receptor, sean estos: mangles, ríos, lagos o mares. De ahí la razón por la que, la gestión del agua en la acuicultura es una necesidad urgente para minimizar los impactos al ambiente mediante la reducción de la descarga de los efluentes (Yong et al., 2018), la producción de buenas prácticas en la producción de especies acuáticas, además de procesos físico-químicos y aplicaciones biológicas (Ramos y Pizarro, 2018).

No obstante, el procedimiento para el tratamiento de efluentes incrementa los costos de producción para el productor acuícola (Guldhe et al., 2017), por lo que es necesario establecer tratamientos en los que el productor no sólo desarrolle una acuicultura amigable con el medio ambiente, sino que, además pueda obtener rentabilidad o no le genere mayor costo de producción.

En tal sentido se han considerado varias alternativas para mitigar los impactos producidos por los efluentes de la acuicultura, destacando el uso de los efluentes del policultivo de peces y camarones para alimentar moluscos bivalvos y macroalgas (Schuenhoff et al., 2006), así como la disminución del porcentaje de recambio de agua y la utilización de organismos como biofiltros o removedores de productos nitrogenados y fosfatos, utilizando mangles, halofitas, macroalgas, microalgas, cianobacterias y bacterias (Schuenhoff et al., 2006).

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales la remoción de nutrientes principalmente de nitrógeno y fósforo se ha convertido en un paso importante del tratamiento (Raouf et al., 2012), Codina et al. (2014), propone utilizar los efluentes como medio de cultivo de microalgas, permitiendo la bioconversión de nutrientes en

biomasa y al mismo tiempo reducir la capacidad del efluente de provocar la eutrofización y el deterioro de los ecosistemas receptores, por lo que sería una solución ambientalmente sostenible (SustainAqua, 2009).

Malibari et al., (2018) destaca que la mayoría de estudios sobre el tratamiento de los efluentes generados por la acuicultura se han concentrado en la remoción de los nutrientes, convirtiéndose en una oportunidad para estudiar la efectividad de los efluentes como medio de cultivo para especies seleccionadas de microalgas, especialmente para remover nitrógeno y fosforo (Helena et al., 2016). Por otro lado, Velichkova et al., (2018) menciona que, uno de los principales desafíos en el desarrollo de un sistema de producción de biomasa microalgal son los altos costos operativos y de capital para estas tecnologías, una gran oportunidad para superar estos desafíos podría ser la integración del tratamiento de efluentes con la producción de biomasa microalgal.

Asimismo, cabe destacar que las microalgas, son la principal fuente de alimentos para un gran número de organismos acuáticos y juegan un rol importante en el desarrollo de la acuicultura (Helena et al., 2016). Estas pueden crecer en varios tipos de efluentes, incluidos los generados en la acuicultura como resultado de la operación de los hatcheries y los sistemas de cultivo (Malibari et al., 2018).

Los géneros de microalgas que son empleados con mayor frecuencia en la acuicultura incluye a *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Scenedesmus*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema* y *Thalassiosira* (Sirakov et al., 2015). De ellos *Chaetoceros sp.*, *Nannochloropsis sp.* y *Tetraselmis sp.* son microalgas marinas ampliamente usadas como alimento vivo en la acuicultura debido a su alta calidad nutricional y adecuado para el crecimiento y desarrollo de larvas y juveniles (Helena et al., 2016).

Así mismo, cabe señalar que la microalga marina *Tetraselmis suecica* está considerada como el flagelado marino más fácil de cultivar a gran escala y se utiliza como alimento para larvas de moluscos y crustáceos con un valor nutritivo considerable (Ulloa, 2011). Además, esta microalga es una especie de rápido crecimiento y contiene adecuados porcentajes de proteína (10.5%), carbohidratos (51.9%), lípidos (14%) (Azma, et al. 2009 cómo se citó en Ulloa, 2011) y ácidos grasos que son esenciales para los organismos cultivados; Asimismo, estas microalgas contienen muchos pigmentos activos como los carotenoides que tienen actividad antioxidante y protectora sobre las células humanas (Sansone, et al. 2017). Por tal motivo, en la presente investigación se

eligió a esta especie de microalga como un posible agente removedor de nitrógeno y fosforo.

La importancia de esta investigación se basa en la necesidad del desarrollo sustentable de la acuicultura, la cual es de interés nacional y mundial, porque se encuentra enmarcado en el objetivo 14 de la agenda 2030 de la Asamblea General de la ONU, en donde se menciona que se debe prevenir y reducir la contaminación marina de todo tipo sobre todo de las actividades realizadas en tierra incluido la polución por nutrientes (FAO, 2016).

Es preciso resaltar que, si bien es cierto la acuicultura en el Perú es aún incipiente en comparación con otros países; sin embargo, en esta última década ha ido en crecimiento, ya que, de acuerdo al Ministerio de la Producción, el crecimiento anual promedio del sector acuícola entre los años 2009 al 2019 ha sido del 13.8% (COMEXPERU, 2021), por lo que es necesario evaluar el impacto que pueden tener los efluentes de la actividad acuícola en el ecosistema que lo rodea.

### **Problema**

Por lo antes expuesto nos planteamos el siguiente problema de investigación: ¿Cuál es la capacidad de la microalga *Tetraselmis suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco?

### **Hipótesis**

Si cultivamos *T. suecica* en diferentes concentraciones (20, 30, 40 y 50%) de los efluentes de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*, se obtendrá mayor capacidad de remoción de nitrógeno y fósforo al cultivar *T. suecica* con un 50 % del efluente.

### **Objetivo General**

Evaluar la capacidad de la microalga *T. suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*.



### **Objetivos Específicos**

- Determinar la capacidad que tiene *T. suecica* para remover el nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_3$ ) y el fosforo ( $\text{PO}_4$ ) en las diferentes concentraciones (20, 30, 40 y 50%) del efluente de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*.
- Determinar el crecimiento poblacional ( $\text{cel. mL}^{-1}$ ) de *T. suecica* en las diferentes concentraciones (20, 30, 40 y 50%) del efluente de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*.
- Determinar si el efluente de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei* es un medio de cultivo eficiente para el crecimiento de *T. suecica*.

## II. MARCO TEÓRICO

Los impactos ambientales perjudiciales de la acuicultura mayormente están asociados a la elevada carga orgánica y las altas concentraciones en las descargas acuícolas (Barraza et al, 2014), estas descargas de los efluentes se dan durante el recambio diario o durante la cosecha (Bull et al., 2021). Esta realidad a alentado a la búsqueda de alternativas para reducir el volumen de efluentes de las granjas acuícolas o disminuir la carga de nutrientes.

Milhazes y Otero (2017) señalan que, en la acuicultura extensiva los procesos de cultivo y tratamiento usualmente toman lugar en el mismo estanque; mientras que el tratamiento de la acuicultura semi-intensiva se basa en el mismo principio, pero debido a una mayor densidad de animales y necesidades de energía, la calidad del agua puede ser difícil de controlar.

Entre los métodos biológicos, el uso de las microalgas y cianobacterias mejoran su capacidad de crecimiento usando la energía solar y grandes cantidades de nutrientes (Nogueira et al., 2018), Guldhe et al (2017) destaca que los procesos de tratamiento de efluentes de la acuicultura que existen actualmente incluyen el proceso de desnitrificación para liberar los compuestos nitrogenados a la atmósfera y la precipitación química para remover los compuestos fosforados; por otro lado, Buike (2018) destacó que la sedimentación y la biofiltración son técnicas simples pero efectivas para el tratamiento de los efluentes de los criaderos (hatcheries) de camarones; mientras que Raouf et al (2012) destaca que la historia del uso comercial de los cultivos de algas tiene 75 años con la aplicación para el tratamiento de aguas residuales y la producción masiva de diferentes cepas como *Chlorella* y *Dunaliella*; en tal sentido, Raouf et al (2012) indica que la alta concentración de nitrógeno y fósforo en la mayoría de los efluentes permite que estos posiblemente puedan ser usados como fuentes baratas de nutrientes para la producción de biomasa microalgal. Esta biomasa puede ser usada para: la producción de metano, compostaje, la producción de combustibles líquidos, como alimento para animales o en la acuicultura, y la producción de químicos caros.

En ese contexto, Guimaraes et al (2020) reportó que el cultivo de microalgas es una potencial alternativa biotecnológica para el tratamiento de los efluentes de la acuicultura, debido a que mientras que las microalgas consumen los nutrientes presentes en el efluente, a la vez produce biomasa de alto valor. Así mismo, Helena et al., (2016) subrayan que el biotratamiento con microalgas es particularmente atractivo debido a sus capacidades fotosintéticas, convirtiendo la energía solar en biomasa útil,

empleando los nutrientes que causan eutrofización como el nitrógeno y el fósforo. Los nutrientes en vez de ser desechados, se convierten en “alimento” para las microalgas. Yaakob et al. (2011) reporta que las microalgas tienen una eficiencia de crecimiento de 10 a 50 veces más comparado a las plantas terrestres y el uso de efluentes ricos en contaminantes inorgánicos, como el nitrógeno y el fósforo, son una buena alternativa para la producción a gran escala de las microalgas a bajo costo (Markou y Georgakakis, 2011).

En un estudio Méndez et al., (2010) cultivó *Scenedesmus quadricauda* en aguas residuales procedentes de lagunas de estabilización en la ciudad de Trelew, Argentina, logrando reducir las emisiones de nitrógeno, fósforo y otros componentes existentes en estas aguas residuales.

Venkatesan et al. (2006) cultivó las microalgas marinas *Skeletonima costatum* y *Chaetoceros coarctatus* empleando los efluentes del cultivo de langostino con la finalidad de recuperar los nutrientes orgánicos e inorgánicos, obteniendo mejores densidades poblacionales al compararlo con el medio de cultivo Conway.

Malibari et al., (2018) usó los efluentes de las granjas de cultivo de langostino, con altas concentraciones de nutrientes (P, N), como medio de cultivo para seis cepas de microalgas marinas de las aguas costeras de Arabia Saudita, entre las cuales se incluyen *Chlorella sp.*, *Dunaliella sp.*, *Nannochloropsis sp.*, *Navicula sp.* (dos cepas) y *Tetraselmis sp.* y concluye que *Navicula sp.* y *Tetraselmis sp.* fueron las que mejor crecieron, produciendo cantidades altas de lípidos; mientras que Helena et al. (2016) cultivó las microalgas *Chaetoceros calcitrans*, *Nannochloris maculate* y *Tetraselmis chuii* en efluentes de estanques de cultivo de langostino, no encontrando diferencias significativas entre el uso de efluentes y el medio de cultivo Conway.

Gao et al (2016) desarrolló un eficiente proceso de cultivo de microalgas para la producción de biomasa y la remoción de nutrientes de los efluentes de la acuicultura usando un fotobioreactor de membrana, ellos trabajaron con *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus*. Así mismo, Navarrete et al. (2022) compararon la eficiencia entre un consorcio microbianos y un consorcio de microalgas nativas (*Chlamydomonas sp.*, *Desmodesmus sp.* y *Chlorella sp.*) en la biorremediación de los efluentes de una camaronicultura en Manabí, Ecuador, obteniendo una diferencia significativa con el tratamiento que contenía el consorcio microalgal, quienes lograron disminuir las concentraciones de elementos como fosfatos y compuestos nitrogenados.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la E.A.P. Biología en Acuicultura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional del Santa, distrito de Nuevo Chimbote, región Ancash, Perú.

#### 2.2 OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

El inóculo de la microalga *T. suecica* se obtuvo del Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Escuela de Biología en Acuicultura de la Facultad de Ciencias en la Universidad Nacional del Santa, mismos que se mantuvieron en cultivo con medio HM en cinco tubos de ensayo de 20 ml e iluminados con un fluorescente de 40 w, con agitación diaria.

#### MEDIO HM

El medio de cultivo HM, que se utilizó durante la experiencia para el mantenimiento de los inóculos de *T. suecica* y el grupo control, fue preparado según la propuesta de Merino (2000), cuyos componentes se muestran en el Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición química del medio de cultivo HM

Componente	Concentración (mg.L <sup>-1</sup> )
Urea	206,0
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	30,0
KCL	19,0
FeCl <sub>3</sub>	25,0

#### 2.3 OBTENCIÓN DEL AGUA DE MAR

El agua de mar que se empleó para las diluciones fueron trasladadas de la playa “El Dorado” ubicada en la bahía de Samanco (09° 12’ S y 78° 30’ W), distrito de Nuevo Chimbote- Perú, transportándolos en cuatro recipientes de 25 L. cada uno. Una vez en el laboratorio, se dejó reposar por 48 horas, luego de este tiempo se filtró utilizando una malla Nytal de 5 µm, agregando luego 1 ml de hipoclorito de sodio (4,63%) por cada litro de agua de mar dejándolo actuar por 24 h. posteriormente se agregó tiosulfato de

sodio al 15 % a razón de 1 ml por cada litro de agua de mar e inyectándole abundante aireación ( $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) por espacio de 1 h para eliminar el cloro residual.

## 2.4 OBTENCIÓN DEL EFLUENTE

El efluente se obtuvo de las pozas de sedimentación (Figura 1) del hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei* del Centro de Investigación y Desarrollo de Post Larvas de Langostino Marinazul S.A. ubicado en el distrito de Canoas de Punta Sal, departamento de Tumbes -Perú; siendo recolectados en un recipiente de 20 L. trasladándolos vía terrestre hacia la ciudad de Nuevo Chimbote al Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Facultad de Ciencias en la Universidad Nacional del Santa, los cuales se vertieron en 6 botellas plásticas de 3 litros cada una y refrigeradas a una temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  durante 2 días, tiempo en el que se acondicionó las unidades experimentales. Previo al acondicionamiento de la experiencia se analizó las concentraciones de nitrógeno y fosforo propias del efluente, presentando las siguientes concentraciones (Tabla 2).

**Tabla 2.** Concentraciones de nitrógeno y fosforo contenidas en el efluente de las pozas de sedimentación del hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei* del Centro de Investigación y Desarrollo de Post Larvas de Langostino Marinazul S.A

Parámetros	Concentración
Nitritos $\text{NO}_2$ (mg/L)	3,22
Nitratos $\text{NO}_3$ (mg/L)	19,58
Amonio $\text{NH}_3$ (mg/L)	7,92
Fosfatos $\text{PO}_4$ (mg/L)	5,82



**Figura 1.** Pozas de sedimentación del hatchery de langostino blanco *Litopenaues vannamei* del centro de investigación y desarrollo de post larva de langostino Marinazul, de donde se obtuvo el efluente.

## 2.5 PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Los inóculos se prepararon en seis matraces de 250 mL, con 100 mL de volumen efectivo, utilizando para ello agua de mar esterilizada y medio HM. Estos inóculos se mantuvieron por 5 días con iluminación constante (2000 lux) agitándolos manualmente dos veces al día. Luego estos inóculos se trasladaron a seis matraces de 1000 ml con un volumen efectivo de 600 mL con iluminación (2000 lux) y aireación constante (50 mL/min) durante cinco días.

## 2.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó el diseño estímulo creciente, con cuatro tratamientos y un grupo control (HM) y tres repeticiones cada uno, tal como se muestran en el Tabla 3.

**Tabla 3.** Diseño experimental de la investigación

Tratamientos	Especificaciones
T control	Cultivo de <i>T. suecica</i> con medio de cultivo HM.
T <sub>1</sub>	Cultivo de <i>T. suecica</i> con 20 % del efluente de hatchery de langostino
T <sub>2</sub>	Cultivo de <i>T. suecica</i> con 30 % del efluente de hatchery de langostino
T <sub>3</sub>	Cultivo de <i>T. suecica</i> con 40 % del efluente de hatchery de langostino
T <sub>4</sub>	Cultivo de <i>T. suecica</i> con 50 % del efluente de hatchery de langostino

## 2.7 ACONDICIONAMIENTO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Se utilizaron 15 botellas plásticas de 1500 mL de volumen total, con 1000 mL de volumen efectivo de cultivo, iniciándose los cultivos microalgales con un promedio de  $1,08 \times 10^5$  cél/mL. Cada tratamiento con sus tres repeticiones contenía la misma cantidad de inóculo de *T. suecica*, a los cuales se les agregó diferentes concentraciones del efluente según el tratamiento (Tabla 4) y se aforaron hasta 1000 mL con agua de mar.

**Tabla 4.** Composición de los tratamientos del cultivo de *T. suecica* con el efluente de hatchery de langostino blanco.

Componentes	Tratamientos				
	Control	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
Inóculo (mL)	200	200	200	200	200
Efluente (mL)	0	200	300	400	500
Agua de mar (mL.)	800	600	500	400	300
Total (ml)	1000	1000	1000	1000	1000

## 2.8 REGISTRO DE pH Y TEMPERATURA

Durante los siete días de cultivo, se tomaron registros diarios del pH utilizando un pHmetro digital marca Oakton de  $\pm 0,01$  de sensibilidad, asimismo se tomó registros diarios de la temperatura empleando un termómetro digital marca Oakton de  $\pm 0,1$  °C de sensibilidad. Además, se suministró aireación constante provista por 4 bombas peristálticas con un flujo de aire de 500 mL/min medidos con un flujómetro Cole Parmer ( $\pm 10$  mL/min). La iluminación fue suministrada de manera permanente durante los 7 días de cultivo con un fluorescente de luz blanca de 40 w colocados a una distancia aproximada de 10 cm entre este y las botellas con los cultivos microalgales con una intensidad luminosa aproximada de 2000 lux registradas con un luxómetro marca Hanna de  $\pm 0,1$  lux.

## 2.9 DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *T. suecica*

El crecimiento poblacional en los cultivos de *T. suecica* se determinó por conteos diarios del número de células en alícuotas por triplicado. Para ello se colocó una muestra de la suspensión microalgal en una cámara Neubauer empleando una micropipeta pasteur los cuales fueron observados en un microscopio compuesto marca nikon a un aumento de 40 X.

Se graficaron las curvas de crecimiento poblacional, y se determinó la tasa de crecimiento poblacional por día ( $\mu$ ) y el tiempo de duplicación diaria (TD) al quinto día de cultivo, según Guillard (1975) mediante las fórmulas:

$$\mu = \frac{\ln(N_f/N_0)}{T_f - T_0} \qquad TD = \frac{\ln(2)}{\mu}$$

Dónde:

$N_0$  y  $N_f$ : Número de células por ml al inicio y al final del cultivo respectivamente.

$T_f$  y  $T_0$ : Tiempo final e inicial de los días de cultivo respectivamente.

## 2.10 DETERMINACIÓN DE LOS NUTRIENTES

La concentración de N y P se determinaron en el laboratorio de Biología y Ecología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa, al inicio (sólo del efluente) y al final del experimento (cada tratamiento con su repetición), en muestras de 10 ml por cada unidad experimental y centrifugados a 6000 rpm por 10 minutos; Las concentraciones fueron determinadas con los métodos y fórmulas propuestos por APHA (2005) para N en forma de nitratos (colorimétrico, reducción por cadmio), nitritos (colorimétrico) y amoníaco (nitrógeno amoniacal; colorimétrico) y el P en forma de fosfatos (colorimétrico).

## 2.11 TASA DE REMOCIÓN DE NUTRIENTES

Para determinar la tasa de remoción (TR) de los nutrientes N ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_3$  y P ( $\text{PO}_4$ ), se tomaron los valores al inicio y final del experimento (al séptimo día de cultivo) de cada unidad experimental, y expresados en porcentajes según propuesta modificada de Valdez & Vázquez (2003) mediante la siguiente fórmula:



$$TR (\%) = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

Dónde:

$C_i$ : Concentración inicial del nutriente (mg/L)

$C_f$ : Concentración final del nutriente (mg/L)

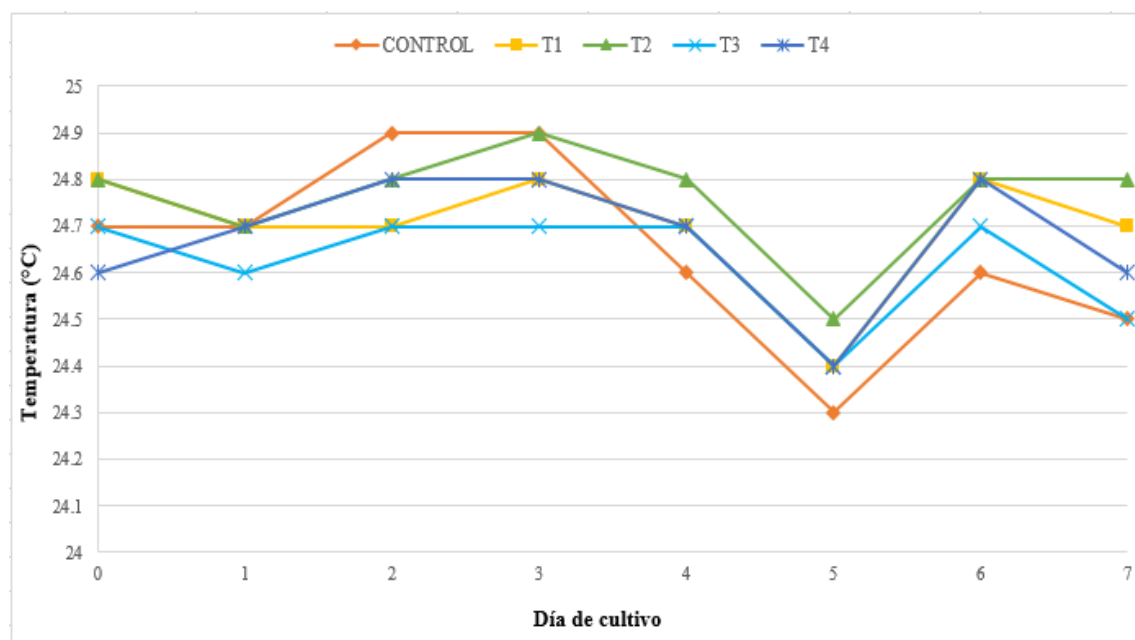
## 2.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos de la tasa de remoción de N y P, tasa de crecimiento y tiempo de duplicación diaria; fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) para establecer diferencias entre sus promedios y se utilizó la prueba de Tukey HSD para establecer el mejor promedio. En todos los casos se aplicó un nivel de significancia de 0,05. Además, se determinó el coeficiente de correlación de Pearson para establecer la relación lineal entre la tasa de remoción de N y P, y la concentración del efluente. El tratamiento estadístico se desarrolló utilizando los programas, Microsoft Office Excel 2013 y SPSS 21.0 para Microsoft Windows 10.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 TEMPERATURA

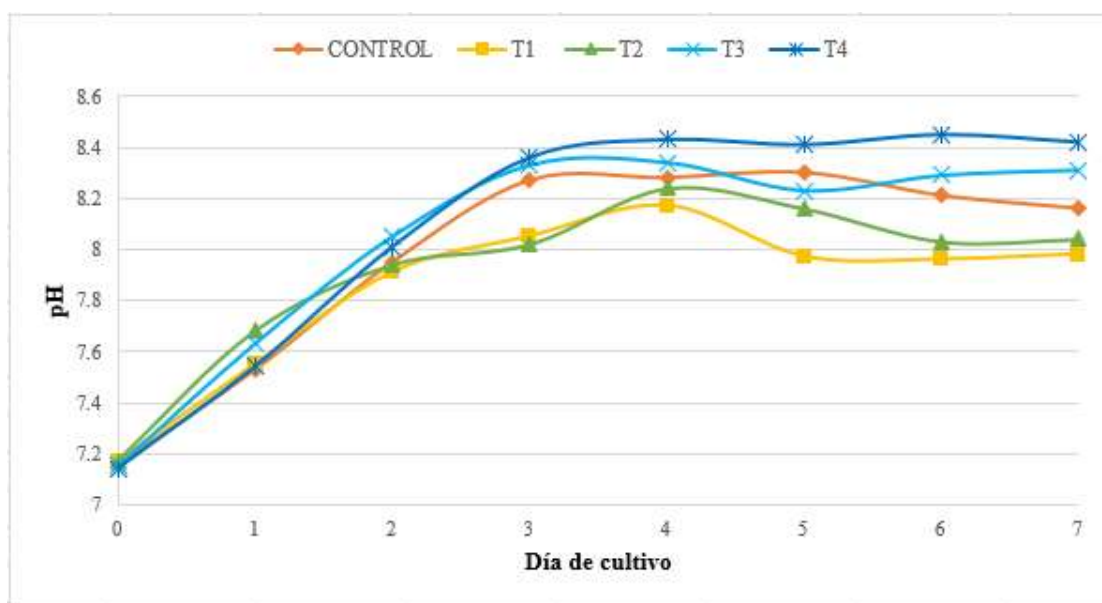
Durante la experiencia realizada, la temperatura del agua de cultivo de las microalgas en los diferentes tratamientos se mantuvo entre los rangos de 24.3 °C a 24.9 °C (anexo 1 y 2)., dentro de este rango el tratamiento 3 registró temperaturas ligeramente bajas en comparación con los demás tratamientos, salvo el control que en algunos casos registró temperaturas por debajo de este. Por el contrario, la temperatura del tratamiento 2 se mantuvo por arriba de la temperatura de los demás tratamientos; sin embargo, como se puede apreciar en la figura 2 el rango de estas fluctuaciones fue menor a 1°C, además que mostraron similares variaciones durante los siete días de cultivo. Al respecto Reyes (2014) reportó que el rango de temperatura para el cultivo de las microalgas es de 23°C a 25.3 °C, mientras que Merino et al., (2014) mencionan que estos rangos van desde 24.0°C hasta 24.6°C y ambos concluyen que estos rangos no afectan la dinámica del crecimiento algal.



**Figura 2.** Variación de la temperatura de los cultivos de *T. suecica* dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco *L. vannamei*.

### 3.2 pH

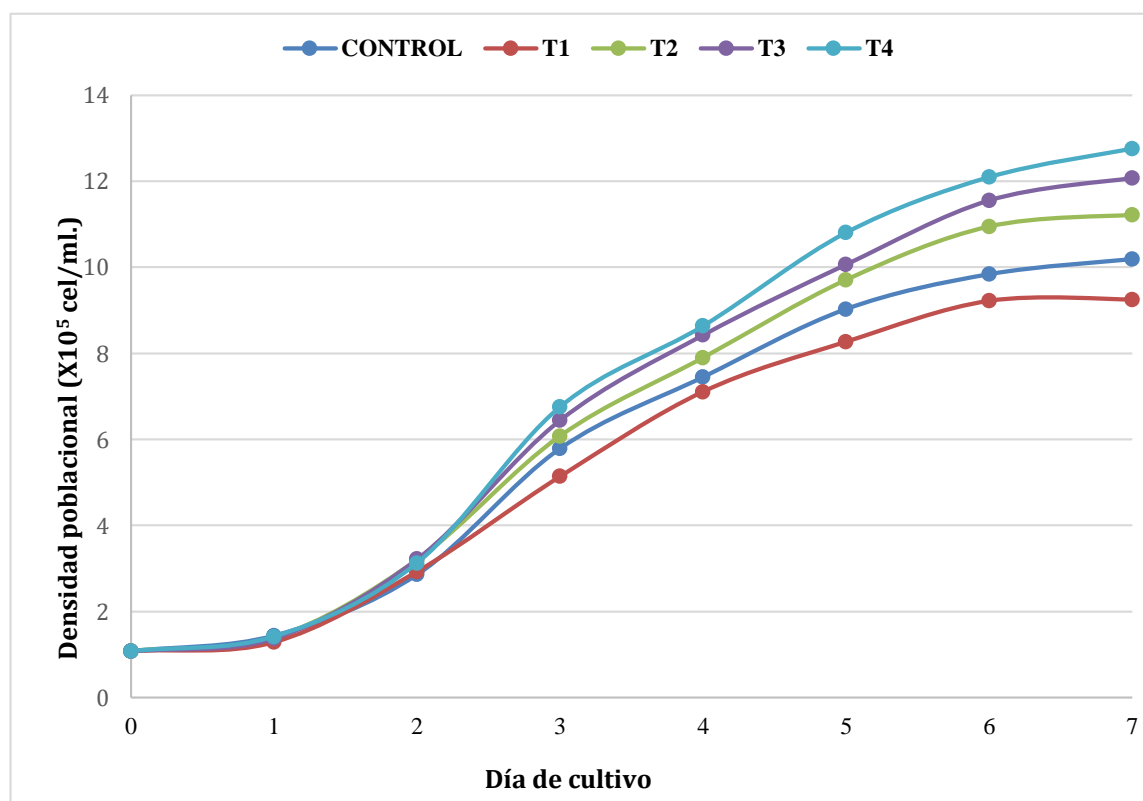
Al inicio del cultivo todos los tratamientos incluyendo al tratamiento control se encontraron con un pH aproximado de 7.2 (anexo 3 y 4), este valor se fue incrementando de manera exponencial hasta el segundo día de cultivo, y para el caso de los tratamiento 3, 4 y el control este evento continuó hasta el tercer día, este incremento del pH se debió en gran parte a la asimilación del nitrato por parte de las microalgas, causando un consumo excesivo de  $H^+$  al reducir el  $NO_3$  hasta su estado de oxidación del grupo amino ( $NH_2$ ) que es como se encuentra en las proteínas (Fernández, 2014). A partir del cuarto hasta el último día de cultivo los niveles de pH se mantuvieron estables en todos los tratamientos (fig. 3) lo que hace suponer que el consumo del nitrógeno disminuyó; No obstante, cabe indicar que todos los tratamientos se encontraron con valores de pH ligeramente alcalinos (7.16 – 8.45), en ese sentido, Ruiz (2011) menciona que el pH en la mayoría de los cultivos microalgales se encuentran en un rango de 7–9, siendo el rango óptimo 8.2–8.7; asimismo, un estudio realizado por Silva et al. (2011) demostraron que *T. suecica* obtiene una mejor densidad poblacional con valores de 8–8.71; por lo cual, la remoción de los nutrientes en todos nuestros tratamientos, sobre todo en los tratamientos 3 y 4 se vio favorecida al encontrarse en los rangos óptimos de pH.



**Figura 3.** Comportamiento del pH durante los días de cultivo

### 3.3 DENSIDAD POBLACIONAL

El cultivo en todos los tratamientos y el grupo control se inició con una densidad poblacional de  $1,08 \times 10^5$  cel/mL (anexo 5 y 6), presentándose la fase lag o de adaptación sólo hasta el primer día de cultivo, a partir del día 2 inició la fase exponencial con un lento incremento en todos los tratamientos y el grupo control. Al aplicar el análisis estadístico nos muestra que sólo los tratamientos 3 y 4 son los que presentaron una diferencia significativa, mismos que produjeron densidades de  $12,08 \times 10^5$  cel/mL y  $12,76 \times 10^5$  cel/mL respectivamente, siguiéndole de cerca el T2 con una densidad poblacional de  $11,22 \times 10^5$  cel/mL (figura 4); sin embargo, cabe destacar que fue el T4 el que obtuvo una mejor densidad poblacional, este comportamiento se mantuvo a partir del tercer hasta el último día de cultivo (día 7). En contraste, el tratamiento 1 obtuvo la menor densidad poblacional llegando a producir sólo  $9,25 \times 10^5$  cel/mL.



**Figura 4.** Curva de densidad poblacional de la microalga *Tetraselmis suecica* dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco *L. vannamei*.

Se presume que las diferentes densidades poblacionales obtenidas en cada tratamiento pueden deberse a las diferentes concentraciones de nitrógeno (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>3</sub>) y fósforo (PO<sub>4</sub>) presentes en cada uno de ellos (tabla 5) dado que cada tratamiento contenía distintas concentraciones del efluente; por ende, se deduce que mientras más concentraciones de nitrógeno y fosforo exista en el medio de cultivo, mayor será la densidad poblacional de la microalga, ya que por un lado el nitrógeno es el nutriente más importante (después del carbono) para el buen crecimiento de las microalgas, mientras que el fosforo es fundamental en muchos procesos celulares, tales como la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía (Grobbelaar 2004 como se citó en Hernández y Labbé, 2014). Por otro lado, Lu et al. (2015) indica que uno de los mayores desafíos de usar los efluentes para el cultivo de microalgas es el bajo o desbalanceado perfil de nutrientes de los efluentes, lo que conduce a bajas producciones de biomasa. No obstante, como hipotetizamos en este estudio, las altas concentraciones de nutrientes contenidas en los efluentes del hatchery de producción larval de langostino favorece el crecimiento de las microalgas; por esta razón, se considera que este tipo de efluente satisface los requerimientos mínimos para la producción de estas. Así también Freire et al (2013) demostró que los efluentes de una piscifactoría son adecuados para cultivar *T. suecica*.

**Tabla 5.** Concentraciones iniciales de nitrógeno (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>3</sub>) y fósforo (PO<sub>4</sub>) de cada tratamiento

Tratamiento	Efluente (ml)	Concentración inicial de nutrientes				
		Nitrógeno			Nitrógeno total	Fosforo PO <sub>4</sub>
		NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>3</sub>		
T1	200	0.64	3.92	1.58	6.14	1.16
T2	300	0.97	5.87	2.38	9.22	1.75
T3	400	1.29	7.83	3.17	12.29	2.33
T4	500	1.61	9.79	3.96	15.36	2.91

### 3.4 TASA DE CRECIMIENTO POBLACIONAL Y TIEMPO DE DUPLICACIÓN

La tasa de crecimiento poblacional ( $\mu$ ) y el tiempo de duplicación (TD) se realizó al quinto día de cultivo (anexo 7) ya que en este día todos los tratamientos alcanzaron la fase exponencial, donde ocurre una acelerada división celular (FAO,

2006). Según Rodríguez, 2006; Coll, 1991; Morales y De Velotti, 1990 citados por Zare (2018) indican que esta fase puede presentarse del segundo al tercer día de cultivo y prolongarse hasta cuatro días, debido quizá a la disponibilidad adecuada de los nutrientes los cuales son esenciales para la síntesis de los compuestos celulares ya que forman parte de su estructura (Ulloa, 2011); pasado los 5 días de cultivo (día 6), se presentó la fase de declinación relativa del crecimiento, esta fase es ocasionada entre otros factores por la disminución de nutrientes y cambios de pH (Zare, 2018), siendo el T1 y el grupo control en donde se vio más marcada esta fase, a partir del séptimo día de cultivo en el T1 se presentó la fase estacionaria debido a la limitada disponibilidad de los nutrientes (FAO, 2006), asimismo, en los tratamientos 2, 3, 4 y el grupo control se puede apreciar la tendencia de la curva a esta fase de crecimiento. Por lo cual, los resultados indican que la mayor tasa de crecimiento se obtuvo en el tratamiento 4 además de obtener el menor tiempo de duplicación, siguiéndole de cerca los tratamientos 2 y 3 con valores muy cercanos a este, (Tabla 6). este resultado se confirma al aplicar la prueba de Tukey donde se muestra que sólo el tratamiento 1 es el que presento una diferencia significativa con respecto al control y a los demás tratamientos. Esto se debe a que en los tratamientos 2, 3 y 4 hubo una mayor disponibilidad de nitrógeno y fosforo (tabla 5).

**Tabla 6.** Tasa de crecimiento poblacional y tiempo de duplicación al quinto día de cultivo de la microalga *Tetraselmis suecica* dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco *L. vannamei*.

Parámetro	Tratamientos				
	Control	T1	T2	T3	T4
<b>N<sub>0</sub></b>	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08
<b>N<sub>f</sub></b>	9,03	8,27	9,71	10,07	10,81
<b>D</b>	5	5	5	5	5
<b>U</b>	0,424	0,407	0,439	0,446	0,461
<b>TD</b>	1,634	1,703	1,579	1,553	1,505

U: Tasa de crecimiento poblacional por día.

TD: Tiempo de duplicación.

No: Número de cél.ml<sup>-1</sup> al iniciar el cultivo.

Nf: Número de cél.ml<sup>-1</sup> al quinto día de cultivo.

### 3.5 TASA DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO

Los resultados estadísticos determinaron que sólo existe diferencia significativa entre el tratamiento 1 y los demás tratamientos los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí; por lo que podemos indicar que el contenido de

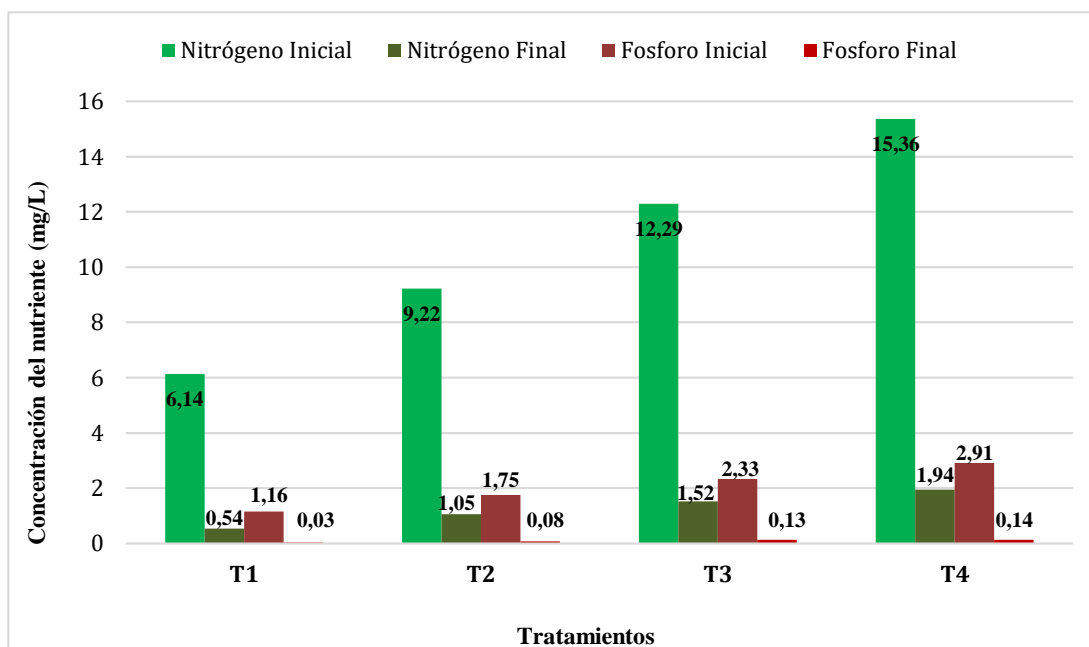
nitrógeno y fósforo presentes en los tratamientos 2, 3 y 4 (tabla 7 y 8) permitieron que *T. suecica* pueda remover la mayor cantidad de N y P (figura 5) y mantener el buen crecimiento de esta microalga, en tal sentido algunos investigadores concluyeron que *T. suecica* es una microalga resistente, por lo cual el uso de fertilizantes que solo contengan nitrógeno, fosforo y potasio promueven su crecimiento (Montoya y Acosta, 2021); por otro lado, Hernández y Labbé (2014) mencionan que aunque el contenido de fosforo en las microalgas es menor al 1%, su deficiencia en el medio de cultivo limita su crecimiento; asimismo, mencionan que cuando en un cultivo reducen las cantidades de nitrógeno la producción de la microalga también disminuye, esto se vio reflejado en el T1 (20% de efluente) el cual produjo la menor densidad poblacional al contener poca disponibilidad de N y P, contrario al T4 (50% de efluente) que fue donde hubo mayor remoción de estos nutrientes a la vez produjo la mayor densidad poblacional, de modo que se puede afirmar que, estos dos macronutrientes (más el carbono) son esenciales para el crecimiento de la microalga (Guerrón, 2015).

**Tabla 7.** Cantidades removidas (mg/L) y tasa de remoción de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_3$ ) de los tratamientos

Tratamientos	Concentración inicial	Concentración final	Cantidad removida (mg/L)	Porcentaje de remoción (%)
T1	6.14	0.54	5.6	91.21
T2	9.22	1.05	8.17	88.61
T3	12.29	1.52	10.77	87.63
T4	15.36	1.94	13.42	87.37

**Tabla 8.** Cantidades removidas (mg/L) y tasa de remoción de fosforo ( $\text{PO}_3$ ) de los tratamientos

Tratamientos	Concentración inicial	Concentración final	Cantidad removida (mg/L)	Porcentaje de remoción (%)
T1	1.16	0.03	1.13	97.41
T2	1.75	0.08	1.67	95.43
T3	2.33	0.13	2.2	94.42
T4	2.91	0.14	2.77	95.19



**Figura 5.** Concentraciones iniciales y finales de nitrógeno y fósforo de cada tratamiento

Sin embargo, al analizar la tasa de remoción nos muestra resultados inversos, donde se observa que los porcentajes más bajos lo obtuvieron el tratamiento 4 (tabla 7) para la remoción del nitrógeno y el tratamiento 3 para la remoción del fosforo (tabla 8), mientras que el tratamiento 1 presentó mayor tasa de remoción para ambos nutrientes a pesar de que en este tratamiento la cantidad removida fue mucho menor.

Estos resultados aparentemente contradictorios se atribuyen a las distintas concentraciones de nutrientes disponibles en cada tratamiento (tabla 5) y al aprovechamiento de ellos por las microalgas, este mismo evento fue reportado por Cerna y Rivera (2019) quienes cultivaron *S. acutus* en diferentes porcentajes de aguas residuales (25, 50, 75 y 100 %) para remover coliformes totales y fecales, ellos obtuvieron en el primer día de cultivo un mayor porcentaje de remoción con el 75% de agua residual, mientras que la menor tasa de remoción lo obtuvieron con el 100 % de estas aguas, indicando que estos resultados pueden estar relacionados a la disposición de nutrientes en el medio.

Asimismo, al aplicar el análisis de correlación de Pearson entre la cantidad de efluente y la tasa de remoción de los nutrientes, este determinó una relación inversamente proporcional “Alta” para el nitrógeno e inversamente proporcional “Medio-Alta” para el fosforo en donde a mayor cantidad del efluente (mayor concentración de nutrientes), la tasa de remoción disminuye. Del mismo modo, Mendoza et al (2021) cultivaron *T. suecica* en agua de mar con diferentes



concentraciones de fósforo para evaluar la tasa de remoción de este nutriente por parte de la microalga, concluyendo que la capacidad de remoción es inversamente proporcional a su concentración.

En tal sentido habría que considerar los resultados no sólo en tasa de remoción, sino también en la cantidad de nutrientes removidos para poder determinar con exactitud cuál de los tratamientos resulta ser el más adecuado en donde *T. suecica* tenga la capacidad de remover mayor concentración de nutrientes y que a su vez promueva su crecimiento.

No obstante, independientemente del tratamiento con el que se obtuvo la mayor remoción de nutrientes, en todos los tratamientos *T. suecica* logro remover el nitrógeno y el fósforo con porcentajes que van desde 87.37 % al 91.21 % para el nitrógeno y 94.42 % al 97.41 % para el fósforo, cercanos a los obtenidos por Guo et al. (2013) quienes cultivaron la microalga marina *Platymonas subcordiformis* en los efluentes de la acuicultura del lenguado, siendo capaz de remover el 87-95% de nitrógeno y 98-99% de fósforo, además, Michels et al., (2014) reportaron eficiencias de remoción de N y P de 49.4% y 99.0% respectivamente al cultivar *T. suecica* en los efluentes de una piscigranja de Rodaballo, mientras que, Andreotti et al (2017) demostraron que después de dos días de cultivo, *T. suecica* y *Dunaliella tertiolecta* fueron capaces de remover más del 90% del nitrógeno inorgánico disuelto y del fósforo inorgánico disuelto de los efluentes de una piscigranja de *Mugil Cephalus*, obteniendo además mayor rendimiento de biomasa con *T.suecica*.

El objetivo de la presente investigación, fue evaluar la capacidad de la microalga *T. suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo que existen en el efluente de un hatchery de larvas de langostino, y según nuestros resultados esta microalga fue capaz de remover hasta el 91.21% de nitrógeno y 97.41 % de fósforo, asimismo, este efluente contiene todos los nutrientes que permiten el crecimiento de esta microalga. En ese sentido, podemos afirmar que los efluentes de los hatcheries de larvas de langostino blanco cumplen con todas las premisas para la producción de *T. suecica*; así también Malibari et al., (2018) concluyó que los efluentes de la crianza de langostinos pueden ser valorizados en una vía sostenible para la producción de microalgas; del mismo modo, Sirakov y Velichkova (2014) concluyeron que el efluente de la acuicultura puede promover el buen crecimiento algal, de forma similar que el medio de cultivo f/2. Por su parte, Venkatesan et al (2006) y Helena et

al. (2016) destacan que las microalgas cultivadas en efluentes puede ser económicamente viable y ambientalmente amigable.

## V. CONCLUSIONES

- La microalga *Tetraselmis suecica* fue capaz de remover hasta el 91.21 % de nitrógeno y 97.41 % de fosforo presentes en el efluente del hatchery de larvas de langostino blanco *L. vannamei*.
- El tratamiento que contenía 50 % de efluente (500 ml) del hatchery de larvas de langostino blanco *L. vannamei* fue en donde se produjo mayor remoción de nitrógeno y fosforo y a la vez se obtuvo una mayor densidad poblacional.
- Las concentraciones del 30 al 50 % del efluente del hatchery de larvas de langostino blanco *L. vannamei* cumplen con los requerimientos nutricionales que se necesitan para el crecimiento de *T. suecica*; Por lo tanto, se puede emplear como medio de cultivo para esta microalga.

## VI. RECOMENDACIONES

- Es recomendable analizar la remoción de los nutrientes no solo mediante la tasa de remoción (%), sino también en la cantidad removida (mg/L) con el fin de determinar correctamente la eficiencia en los tratamientos.
- Reproducir la experiencia analizando los valores iniciales de nitrógeno y fosforo de cada tratamiento mediante el método colorimétrico para obtener datos más exactos, dado que en el presente estudio por razones financieras sólo se obtuvo las valores iníciales por cálculo, de acuerdo al análisis del efluente y las concentraciones correspondientes en cada tratamiento.
- Replicar la experiencia con cantidades superiores al 50% (500 ml) del efluente, inclusive al 100 % de este para determinar la eficiencia de la microalga en un cultivo netamente con aguas del efluente en estudio.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andreotti V., Anuta Chindris, Gianni Brundu, Dario Vallainc, Matteo Francavilla and Garcia, Joan. (2017) Bioremediation of aquaculture wastewater from *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) with different microalgae species, *Chemistry and Ecology*, 33 (8), 750-761. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02757540.2017.1378351>
- APHA. 2005. Métodos estándares para el análisis de agua potable y agua residuales. Standard Methods for the examination of wastewater. 21 edit. American Public Health Association (APHA) - American Water Works Association (AWWA) - Water Environment Federation (WEF). 1082p.
- Barraza Guardado, R., Arreola Lizárraga, José A., López Torres, Marco A. Casillas Hernández, R., Miranda Baeza, A., Magallón Barrajas, F., and Ibarra Gámez, Cuauhtemoc. (2013). Effluents of Shrimp Farms and Its Influence on the Coastal Ecosystems of Bahía de Kino, Mexico. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/306370>.
- Barraza Guardado R., Martínez, L., Enríquez, L., Martínez, M., Miranda, A., Porchas, M. (2014). Efecto de efluentes de granjas camaronícolas sobre parámetros de la calidad del agua y del sedimento frente a la costa de Sonora, México. *Ciencias Marinas*, 40(4), 221–235. <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v40i4.2424>
- Buike P. (10 de setiembre de 2018). Treatment of shrimp hatchery effluents. *Global Seafood Alliance*. <https://www.globalseafood.org/advocate/treatment-of-shrimp-hatchery-effluents/>
- Bull E. G., Cunha, C. de L. da N., y Scudelari, A. C. (01 enero de 2021) Water quality impact from shrimp farming effluents in a tropical estuary. *Water Sci Technol*, 83 (1): 123–136. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.559>
- Cerna, V. y Rivera, D. (2019). Tasa de remoción de coliformes totales y fecales de aguas residuales domésticas por *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio. Tesis para optar el título profesional de biólogo acuicultor. Universidad Nacional del Santa. Perú.

- COMEXPERU - Sociedad de Comercio Exterior del Perú. (09 de julio de 2021). Exportaciones del sector acuicultura crecieron un 34.7% en el periodo enero - mayo de 2021. Semanario 1081- Comercio Exterior <https://www.comexperu.org.pe/articulo/exportaciones-del-sector-acuicultura-crecieron-un-347-en-el-periodo-enero-mayo-de-2021>
- Del Río-Salas, M., Martínez Durazo, A y Jara Marini, Martín E. (2016). La acuicultura y su impacto en la zona costera del golfo de California. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud – Biotecnia*, 18 (3). <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v18i3.334>
- EPA - Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. (2021). Contaminación por nutrientes. <https://espanol.epa.gov/espanol/contaminacion-por-nutrientes>
- FAO. (2006). Cultivo de Bivalvos en criadero. Tercera parte – Funcionamiento del criadero: cultivo de algas. <https://www.fao.org/3/y5720s/y5720s00.htm#Contents>
- FAO. (2016). La Agenda 2030. Los Objetivos de Desarrollo Sostenible y La Pesca y La Acuicultura. <http://www.fao.org/3/mq652s/mq652s.pdf>
- FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- Fernández Sevilla, José María. (2014). Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas. Nutrientes y medios de cultivo de microalgas. Universidad de Almería. España
- Freire I., Serradeiro, R., Laranjeira, A., Peña, J., Seixas. P. (2013). Cultivo de las microalgas *Tetraselmis* e *Isochrysis T-ISO* con efluentes de una piscifactoría en RAS de Portugal. Congreso Nacional de Acuicultura 2013. [https://www.usc.gal/export9/sites/webinstitucional/en/investigacion/grupos/acuicultura\\_biotecnologia/descargas/Abstract\\_Aqua3113\\_2013.pdf](https://www.usc.gal/export9/sites/webinstitucional/en/investigacion/grupos/acuicultura_biotecnologia/descargas/Abstract_Aqua3113_2013.pdf)
- Gao F., Li, C., Yang, Z. H., Zeng, G. M., Feng, L. J., Liu, J. Z., Liu, M. and Cai, H. W. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal.

Guerrón Navarrete Paola. (2015). Relación entre las variables fisicoquímicas y la concentración de microalgas en la laguna de Monte Redondo. Proyecto especial de graduación. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano - Honduras.

Guimaraes Cardoso, L., Hartwig Duarte, J., Vieira Costa, J., A., De Jesús Assis, D., Franca Lemos, P. V., Izabel Druzian, J., Oliveira de Souza, C., Larroza Nuñez, y Alejandro Chinalia, F. (29 de junio de 2020). *Spirulina sp.* as a Bioremediation Agent for Aquaculture Wastewater: Production of High Added Value Compounds and Estimation of Theoretical Biodiesel. *Bioenerg*, 14, 254–264 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10153-4>

Guldhe, A., Ansari, F. A., Singh, P., y Bux, F. (2017). Heterotrophic cultivation of microalgae using aquaculture wastewater: A biorefinery concept for biomass production and nutrient remediation. *Ecological Engineering*, 99, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.013>

Guo, Z., Liu, Y., Guo, H., Yan, S., and Mu, J. (2013). Microalgae cultivation using an aquaculture wastewater as growth medium for biomass and biofuel production. *Journal of Environmental Sciences*, 25, 85–88. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(14\)60632-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(14)60632-X)

Helena Khatoon, Sanjoy Banerjee, Mohd Syakir Syahiran, Noordiyana Bt. Mat Noordin, Abol Munafi Ambok Bolong and Azizah Endut. (08 de marzo de 2016). Re-use of aquaculture wastewater in cultivating microalgae as live feed for aquaculture organisms. *Desalination and Water Treatment*, 57 (60), 29295-29302. DOI: 10.1080/19443994.2016.1156030  
[https://www.researchgate.net/publication/297678057\\_Re-use\\_of\\_aquaculture\\_wastewater\\_in\\_cultivating\\_microalgae\\_as\\_live\\_feed\\_for\\_aquaculture\\_organisms](https://www.researchgate.net/publication/297678057_Re-use_of_aquaculture_wastewater_in_cultivating_microalgae_as_live_feed_for_aquaculture_organisms).

Hernández Perez Alexis y Labbé Jose I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 49 (2), 157-173. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>

- Lu, Q., Zhou, W., Min, M., Ma, X., Chandra, C., T.T. Y. Doan, Ma, Y., Zheng, H., Cheng, S., Griffith, R., Chen, P., Chen, C., Urriola, P.E., Shurson, G.C., Gislerød, H.R. and Ruan, R. (2015). Growing *Chlorella sp.* on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production, *Bioresour. Technology*. 198, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.133>
- Malibari R., Sayegh, F., Elazzazy, A. M., Baeshen, M. N., Dourou, M. and Aggelis, G. (05 de julio de 2018). Reuse of shrimp farm wastewater as growth medium for marine microalgae isolated from Red Sea - Jeddah. *Journal of Cleaner Production*, 198 (2018), 160-169. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.037>
- Markou, G., Georgakakis, D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. *Applied Energy*, 88, (10), 3389-3401. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.042>
- Méndez Suaza, L., Albarracín, I., Cravero, M., Salomón, R. (2010). Crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia. <http://hdl.handle.net/1834/3639>
- Mendoza, S., Merino, J., Yzasiga, C., Velazquez, N. (2021). Tasa de remoción de fósforo de aguas marinas mediante el cultivo de *Tetraselmis suecica*. *Revista Punkuri* 1(1), 2021.
- Merino, J. F. (2000). Informe de año Sabático. Universidad Nacional del Santa.
- Merino J., F. Alva, A. Román, S. Mendoza (2014). Efecto de tres concentraciones de CO<sub>2</sub>, obtenido de valvas de *Argopecten purpuratus* "Concha de abanico", en el crecimiento poblacional de *Tetraselmis suecica* en condiciones de laboratorio. *Sagasteguiana* 2 (1), 37-46. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/1811>
- Michels M., Vaskoska, M., Vermuë, M. and Wijffels, R. (2014). Growth of *Tetraselmis suecica* in a tubular photobioreactor on wastewater from a fish farm. *Water Research*. 65, 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.017>



- Milhazes Cunha, H., Otero, A. (2017). Valorisation of aquaculture effluents with microalgae: The Integrated Multi-Trophic Aquaculture concept. *Algal Research*, 24, 416–424. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.011>
- Montoya Vallejo, C. y Acosta Cárdenas, A. (2021). Crecimiento de *Tetraselmis sp.* empleando fertilizante como medio de cultivo. *Revista ION*, 34(2), 53-64. <https://doi.org/10.18273/revion.v34n2-2021005>
- Navarrete, J., Noles, P., Delgado, C., Hernandez, N. y Guerrero, R. (2022). Biorremediación de efluentes del cultivo de camarón por medio de consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas en Manabí, Ecuador. *AquaTechnica* 4(1), 53-65. <https://doi.org/10.33936/at.v4i1.4635>
- Nogueira, Sara M., Souza, Junior, José, Maia, Hudson Damasceno, Saboya, Jefferson Pablo Sousa, y Farias, Wladimir Ronald Lobo. (2018). Use of *Spirulina platensis* in treatment of fish farming wastewater. *Revista Ciência Agronômica*, 49(4), 599-606. <https://www.redalyc.org/journal/1953/195358224008/html/>
- Ramirez, J., Sandoval, N. y Vicente, K. (2018) - Sistema Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura. (2018). Fundamentos y propuesta 2017-2022 - Serie: Estudios de Pre inversión 3. Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura – PNIPA. Ministerio de la Producción. Perú.
- Del Carpio, Omar (2020). Cadena de valor del langostino - Estudio de prospectiva del langostino. Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura – PNIPA. Ministerio de la Producción. Perú
- Ramos, R. y Pizarro, R. (2018). Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en aguas residuales generadas en el cultivo del pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae). *Revista de biología marina y oceanografía* 53(1). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572018000100075>
- Raouf N., Al-Homaidan, A. y Ibraheem, I. B.M. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19 (3), 257-275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>

- Reyes L. J. (2014). Efecto de tres concentraciones de melaza (0.5, 1.0 y 2.0 g l<sup>-1</sup>) como fuente de carbono orgánico en el crecimiento y contenido de lípidos en *Tetraselmis suecica*, en condiciones de laboratorio. Informe de Tesis. Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa. 51 p. <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2753>
- Ruiz Martinez, A. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Tesis para optar el grado de Magister. Universidad Politecnica de Valencia, España. 96 p.
- Sansone, C., Galasso, C., Orefice, I. Nuzo, G., Luongo, E., Cutignano, A., Romano, J., Brunet, C., Fontana, A., Eposito, F., Ianora, A. (2017). La microalga verde *Tetraselmis suecica* reduce el estrés oxidativo e induce mecanismos de reparación en las células humanas. Informe científico **7**, 41215 (2017). <https://doi.org/10.1038/srep41215>
- Schuenhoff, A., Mata, L. y Santos, R. (2006). The tetrasporophyte of *Asparagopsis armata* as a novel seaweed biofilter. *Aquaculture*. 252(1), 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.044>
- Silva, B., Vásquez, V. y Merino, F. (2011). Producción de biomasa de *Tetraselmis suecica* empleando agua de mar con sanguaza. *Scientia Agropecuaria*. 2(1), pp 13-23.
- Sirakov I., Velichkova, K., Stoyanova, S. and Staykov, Y. (2015). The importance of microalgae for aquaculture industry. Review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 2015. 2(4), 81-84. <https://www.fisheriesjournal.com/archives/2015/vol2issue4/PartB/2-4-31.pdf>
- Sirakov, I., Velichkova, K. (2014). Bioremediation of wastewater originate from aquaculture and biomass production from microalgae species - *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 20 (1), 66-72. <https://www.agrojournal.org/20/01-12.pdf>
- SustainAqua - Integrated approach for a sustainable and healthy freshwater aquaculture. (2009). A handbook for sustainable aquaculture. Sixth Framework

Programme Integrated approach for a sustainable and healthy freshwater aquaculture. Project N°: COLL-CT-2006-030384. 110 p.  
[https://haki.naik.hu/sites/default/files/uploads/2018-9/sustainaqua\\_handbook\\_en.pdf](https://haki.naik.hu/sites/default/files/uploads/2018-9/sustainaqua_handbook_en.pdf)

Ulloa, R. (2011). Inducción de productos bioactivos en la microalga marina *Tetraselmis suecica*. Tesis para optar el grado de doctorado. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela - España. 2011. 220 p.

Valdez, E., Vázquez, A. (2003). Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales. Fundación ICA, A.C. México D.F., México. 341p.

Van, H., Maeda, M. (2015). Nutrient Mass Balances in Intensive Shrimp Ponds with a Sludge Removal Regime: A Case Study in the Tam Giang Lagoon, Central Vietnam. *Journal of Agricultural Science and Technology A and B & Hue University Journal of Science*. 5, 538-547. doi: 10.17265/2161-6256/2015.12.013.  
<http://www.davidpublisher.org/Public/uploads/Contribute/573548c09cf33.pdf>

Velichkova K., Sirakov, Ivaylo and Staykov, Yordan. (2018). Integrated use of two microalgal species for the treatment of aquaculture effluent and biomass production. *Environmental Engineering and Management Journal*. 7(7) pp 1575-1581.

Venkatesan R., Kumaraguru Vasagam, K.P. and Balasubramanian, T. (2006). Culture of Marine Microalgae in Shrimp Farm Discharge Water: A Sustainable Approach to Reduce the Cost Production and Recovery of Nutrients. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 1: 262-269. DOI: 10.3923/jfas.2006.262.269  
<https://scialert.net/fulltextmobile/?doi=jfas.2006.262.269>

Yaakob Z., Fakir, K., Ali, E., Abdullah, S. and Takriff, M. (2011). An Overview of Microalgae as a Wastewater Treatment. *Jordan International Energy Conference* 2011 - Amman.  
[https://www.academia.edu/5748134/An\\_Overview\\_of\\_Microalgae\\_as\\_a\\_Wastewater\\_Treatment](https://www.academia.edu/5748134/An_Overview_of_Microalgae_as_a_Wastewater_Treatment)

Yong, L., Yin, C., Mahmoudi, E., Boon, C. and Wahab, A. (2018). A review of the management of inflow water, wastewater and water reuse by membrane technology for a sustainable production in shrimp farming. *Journal of Water Process Engineering*, 23, 27-44.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714417304853>

Zare Vergara, Jairo L. (2018). Uso de ensilado a base de residuos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) como fertilizante orgánico para producción de microalga marina *Tetraselmis suecica*. Tesis para optar por el título de ingeniero pesquero. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima –Perú.

## VIII. ANEXOS

**Anexo 1: Registro de la temperatura durante los días de cultivo por cada tratamiento.**

Día de cultivo	Tratamientos														
	Control (HM)			T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	24,6	24,9	24,7	24,9	24,4	25,1	24,9	24,4	25,0	24,7	24,4	25,0	24,9	24,4	24,6
1	24,6	24,7	24,7	24,8	24,3	25,0	24,8	24,3	25,0	24,6	24,2	24,9	25,0	24,4	24,6
2	24,9	24,8	25,0	24,9	24,2	25,1	24,9	24,5	25,1	24,6	24,3	25,1	25,0	24,7	24,7
3	24,7	24,8	25,1	25,1	24,4	25,0	25,1	24,7	25,0	24,5	24,7	25,0	25,1	24,8	24,4
4	24,6	24,5	24,8	24,9	24,1	25,1	24,8	24,4	25,1	24,4	24,5	25,1	25,0	24,7	24,5
5	24,3	24,2	24,5	24,6	23,8	24,7	24,7	24,1	24,8	24,2	24,2	24,9	24,8	24,3	24,2
6	24,7	24,8	24,4	25,0	24,2	25,2	25,0	24,4	25,0	24,6	24,4	25,0	24,9	24,8	24,7
7	24,6	24,4	24,5	25,1	24,0	24,9	25,1	24,3	25,0	24,1	24,4	25,1	24,8	24,6	24,5

**Anexo 2: Registro de la temperatura promedio durante los días de cultivo de cada tratamiento.**

Día de cultivo	Tratamientos				
	Control (HM)	T1 (200 mL)	T2 (300 mL)	T3 (400 mL)	T4 (500 mL)
0	24,7 ±0,2 <sup>a</sup>	24,8 ±0,4 <sup>a</sup>	24,8 ±0,3 <sup>a</sup>	24,7 ±0,3 <sup>a</sup>	24,6 ±0,3 <sup>a</sup>
1	24,7 ±0,1 <sup>a</sup>	24,7 ±0,4 <sup>a</sup>	24,7 ±0,4 <sup>a</sup>	24,6 ±0,4 <sup>a</sup>	24,7 ±0,3 <sup>a</sup>
2	24,9 ±0,1 <sup>a</sup>	24,7 ±0,5 <sup>a</sup>	24,8 ±0,3 <sup>a</sup>	24,7 ±0,4 <sup>a</sup>	24,8 ±0,2 <sup>a</sup>
3	24,9 ±0,2 <sup>a</sup>	24,8 ±0,4 <sup>a</sup>	24,9 ±0,2 <sup>a</sup>	24,7 ±0,3 <sup>a</sup>	24,8 ±0,4 <sup>a</sup>
4	24,6 ±0,2 <sup>a</sup>	24,7 ±0,5 <sup>a</sup>	24,8 ±0,4 <sup>a</sup>	24,7 ±0,4 <sup>a</sup>	24,7 ±0,3 <sup>a</sup>
5	24,3 ±0,2 <sup>a</sup>	24,4 ±0,5 <sup>a</sup>	24,5 ±0,4 <sup>a</sup>	24,4 ±0,4 <sup>a</sup>	24,4 ±0,3 <sup>a</sup>
6	24,6 ±0,2 <sup>a</sup>	24,8 ±0,5 <sup>a</sup>	24,8 ±0,3 <sup>a</sup>	24,7 ±0,3 <sup>a</sup>	24,8 ±0,1 <sup>a</sup>
7	24,5 ±0,1 <sup>a</sup>	24,7 ±0,6 <sup>a</sup>	24,8 ±0,4 <sup>a</sup>	24,5 ±0,5 <sup>a</sup>	24,6 ±0,2 <sup>a</sup>

Letras diferentes indican diferencia significativa con un valor de  $p < 0.05$

**Anexo 3: Registro del pH durante los días de cultivo de cada tratamiento.**

Día de cultivo	Tratamientos														
	Control (HM)			T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	7,16	7,14	7,17	7,18	7,19	7,14	7,17	7,16	7,18	7,13	7,19	7,12	7,14	7,11	7,16
1	7,66	7,41	7,52	7,67	7,63	7,36	7,69	7,59	7,76	7,72	7,72	7,44	7,49	7,53	7,61
2	7,82	8,10	7,92	7,79	7,93	8,00	7,87	7,99	7,96	8,06	8,03	8,07	8,07	8,07	7,90
3	8,36	8,27	8,19	7,97	8,09	8,09	8,05	7,98	8,04	8,25	8,38	8,36	8,33	8,36	8,40
4	8,24	8,16	8,44	8,20	8,21	8,11	8,27	8,31	8,13	8,42	8,36	8,24	8,35	8,55	8,38
5	8,33	8,22	8,34	7,79	8,08	8,03	8,06	8,25	8,16	8,04	8,39	8,26	8,49	8,38	8,37
6	8,24	8,19	8,21	8,02	7,87	7,99	8,16	7,93	8,01	8,16	8,43	8,29	8,32	8,52	8,51
7	8,26	8,20	8,03	8,04	7,98	7,93	7,92	7,97	8,23	8,44	8,34	8,14	8,34	8,36	8,56

**Anexo 4: Registro del pH promedio durante los días de cultivo de cada tratamiento.**

Día de cultivo	Tratamientos				
	Control (HM)	T1 (200 mL)	T2 (300 mL)	T3 (400 mL)	T4 (500 mL)
0	7,16 ±0,02 <sup>a</sup>	7,17 ±0,03 <sup>a</sup>	7,17 ±0,01 <sup>a</sup>	7,15 ±0,04 <sup>a</sup>	7,14 ±0,03 <sup>a</sup>
1	7,53 ±0,13 <sup>a</sup>	7,55 ±0,17 <sup>a</sup>	7,68 ±0,09 <sup>a</sup>	7,63 ±0,16 <sup>a</sup>	7,54 ±0,06 <sup>a</sup>
2	7,95 ±0,14 <sup>a</sup>	7,91 ±0,11 <sup>a</sup>	7,94 ±0,06 <sup>a</sup>	8,05 ±0,02 <sup>a</sup>	8,01 ±0,10 <sup>a</sup>
3	8,27 ±0,09 <sup>a</sup>	8,05 ±0,07 <sup>b</sup>	8,02 ±0,04 <sup>b</sup>	8,33 ±0,07 <sup>a</sup>	8,36 ±0,04 <sup>a</sup>
4	8,28 ±0,14 <sup>a</sup>	8,17 ±0,06 <sup>a</sup>	8,24 ±0,09 <sup>a</sup>	8,34 ±0,09 <sup>a</sup>	8,43 ±0,11 <sup>a</sup>
5	8,30 ±0,07 <sup>a</sup>	7,97 ±0,16 <sup>b</sup>	8,16 ±0,10 <sup>ab</sup>	8,23 ±0,18 <sup>ab</sup>	8,41 ±0,07 <sup>a</sup>
6	8,21 ±0,03 <sup>abc</sup>	7,96 ±0,08 <sup>c</sup>	8,03 ±0,12 <sup>bc</sup>	8,29 ±0,14 <sup>ab</sup>	8,45 ±0,11 <sup>a</sup>
7	8,16 ±0,12 <sup>ab</sup>	7,98 ±0,06 <sup>b</sup>	8,04 ±0,17 <sup>b</sup>	8,31 ±0,15 <sup>ab</sup>	8,42 ±0,12 <sup>a</sup>

Letras diferentes indican diferencia significativa con un valor de  $p < 0.05$



**Anexo 5: Densidad poblacional durante los días de cultivo de cada tratamiento.**

Día de cultivo	Tratamientos														
	Control (HM)			T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08
1	1,49	1,39	1,44	1,28	1,33	1,25	1,30	1,47	1,40	1,54	1,33	1,27	1,42	1,54	1,31
2	2,65	3,05	2,87	2,95	3,03	2,80	3,11	3,31	3,18	3,24	3,33	3,08	3,32	3,07	3,01
3	5,89	6,07	5,42	5,35	5,12	4,96	6,14	5,84	6,25	6,22	6,72	6,42	6,76	7,08	6,43
4	7,32	7,48	7,56	6,70	7,16	7,48	8,14	7,60	7,96	8,28	8,68	8,32	8,53	8,95	8,44
5	9,11	8,79	9,20	7,98	8,62	8,21	9,42	9,93	9,77	9,90	10,46	9,85	10,75	11,32	10,36
6	10,15	9,72	9,64	8,99	9,36	9,30	10,76	11,18	10,90	11,53	11,87	11,29	11,56	12,56	12,19
7	10,54	10,07	9,95	9,31	9,51	8,93	11,24	11,40	11,02	11,86	12,05	12,32	12,44	12,98	12,85

**Anexo 6: Densidad poblacional promedio por tratamiento durante los días de cultivo.**

Día de cultivo	Tratamientos									
	Control (HM)		T1 (200 mL)		T2 (300 mL)		T3 (400 mL)		T4 (500 mL)	
0	1,08	±0,00 <sup>a</sup>	1,08	±0,00 <sup>a</sup>	1,08	±0,00 <sup>a</sup>	1,08	±0,00 <sup>a</sup>	1,08	±0,00 <sup>a</sup>
1	1,44	±0,05 <sup>a</sup>	1,29	±0,04 <sup>a</sup>	1,39	±0,09 <sup>a</sup>	1,38	±0,14 <sup>a</sup>	1,42	±0,12 <sup>a</sup>
2	2,86	±0,20 <sup>a</sup>	2,93	±0,12 <sup>a</sup>	3,20	±0,10 <sup>a</sup>	3,22	±0,13 <sup>a</sup>	3,13	±0,16 <sup>a</sup>
3	5,79	±0,34 <sup>b</sup> c	5,14	±0,20 <sup>c</sup>	6,08	±0,21 <sup>ab</sup>	6,45	±0,25 <sup>ab</sup>	6,76	±0,33 <sup>a</sup>
4	7,45	±0,12 <sup>c</sup> d	7,11	±0,39 <sup>d</sup>	7,90	±0,27 <sup>bc</sup>	8,43	±0,22 <sup>ab</sup>	8,64	±0,27 <sup>a</sup>
5	9,03	±0,22 <sup>c</sup> d	8,27	±0,32 <sup>d</sup>	9,71	±0,26 <sup>bc</sup>	10,07	±0,34 <sup>ab</sup>	10,81	±0,48 <sup>a</sup>
6	9,84	±0,27 <sup>c</sup>	9,22	±0,20 <sup>c</sup>	10,95	±0,21 <sup>b</sup>	11,56	±0,29 <sup>ab</sup>	12,10	±0,51 <sup>a</sup>
7	10,19	±0,31 <sup>c</sup>	9,25	±0,29 <sup>d</sup>	11,22	±0,19 <sup>b</sup>	12,08	±0,23 <sup>a</sup>	12,76	±0,28 <sup>a</sup>

Letras diferentes indican diferencia significativa con un valor de  $p < 0.05$

**Anexo 7: Tasa de crecimiento poblacional y tiempo de duplicación diaria de la microalga *Tetraselmis suecica* dosificados con efluentes de un hatchery de langostino blanco *L. vannamei* de cada tratamiento.**

Parámetros	Tratamientos														
	Control (HM)			T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>N0</b>	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08
<b>Nf</b>	9,11	8,79	9,20	7,98	8,62	8,21	9,42	9,93	9,77	9,90	10,46	9,85	10,75	11,32	10,36
<b>D</b>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<b>U (d<sup>-1</sup>)</b>	0,426	0,419	0,428	0,400	0,415	0,406	0,433	0,444	0,440	0,443	0,454	0,442	0,460	0,470	0,452
<b>TD (d)</b>	1,627	1,654	1,620	1,733	1,670	1,707	1,601	1,561	1,575	1,565	1,527	1,568	1,507	1,475	1,534

**Anexo 8. Concentración inicial y final de NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub> de cada tratamiento**

Concentración	Nutrientes	Tratamientos											
		T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Inicial</b>	NO <sub>2</sub> (mg/L)	0,64	0,64	0,64	0,97	0,97	0,97	1,29	1,29	1,29	1,61	1,61	1,61
	NO <sub>3</sub> (mg/L)	3,92	3,92	3,92	5,87	5,87	5,87	7,83	7,83	7,83	9,79	9,79	9,79
	NH <sub>3</sub> (mg/L)	1,58	1,58	1,58	2,38	2,38	2,38	3,17	3,17	3,17	3,96	3,96	3,96
	PO <sub>4</sub> (mg/L)	1,16	1,16	1,16	1,75	1,75	1,75	2,33	2,33	2,33	2,91	2,91	2,91
<b>Final</b>	NO <sub>2</sub> (mg/L)	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01
	NO <sub>3</sub> (mg/L)	0,48	0,42	0,59	0,94	1,06	1,02	1,55	1,49	1,43	1,79	1,96	1,92
	NH <sub>3</sub> (mg/L)	0,04	0,02	0,02	0,02	0,06	0,02	0,01	0,02	0,02	0,04	0,04	0,02
	PO <sub>4</sub> (mg/L)	0,02	0,03	0,04	0,07	0,09	0,08	0,10	0,14	0,16	0,16	0,13	0,14

**Anexo 9. Concentración inicial y final del nitrógeno total y fosforo de cada tratamiento.**

Nutrientes		Tratamientos											
		T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>N (mg/L)</b>	inicial	6,14	6,14	6,14	9,22	9,22	9,22	12,29	12,29	12,29	15,36	15,36	15,36
	final	0,53	0,46	0,63	0,97	1,13	1,05	1,57	1,53	1,46	1,85	2,01	1,95
<b>P (mg/L)</b>	inicial	1,16	1,16	1,16	1,75	1,75	1,75	2,33	2,33	2,33	2,91	2,91	2,91
	final	0,02	0,03	0,04	0,07	0,09	0,08	0,10	0,14	0,16	0,16	0,13	0,14

**Anexo 10. Tasa de remoción de nitrógeno y fósforo por cada tratamiento**

Tasa de remoción		Tratamientos											
		T1 (200 mL)			T2 (300 mL)			T3 (400 mL)			T4 (500 mL)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>N (mg/L)</b>		91,37	92,51	89,74	89,48	87,74	88,61	87,23	87,55	88,12	87,96	86,91	87,30
<b>P (mg/L)</b>		98,28	97,41	96,55	96,00	94,86	95,43	95,71	93,99	93,13	94,50	95,53	95,19

### Anexo 11. Tasa de remoción promedio de nitrógeno y fósforo por cada tratamiento

Tasa de remoción	Tratamientos			
	T1 (200 mL)	T2 (300 mL)	T3 (400 mL)	T4 (500 mL)
N (mg/L)	91,21 ±1,39 <sup>a</sup>	88,61 ±0,87 <sup>b</sup>	87,63 ±0,45 <sup>b</sup>	87,39 ±0,53 <sup>b</sup>
P (mg/L)	97,41 ±0,87 <sup>a</sup>	95,43 ±0,57 <sup>ab</sup>	94,28 ±1,31 <sup>b</sup>	95,07 ±0,52 <sup>b</sup>

Letras diferentes indican diferencia significativa con un valor de  $p < 0.05$



## DECLARACION JURADA DE AUTORÍA

Yo, *Gabby Adela Carhuanina León*

Facultad:	Ciencias	<input checked="" type="checkbox"/>	Educación	<input type="checkbox"/>	Ingeniería	<input type="checkbox"/>
Escuela Profesional:	<i>Biología en Acuicultura</i>					
Departamento Académico:						
Escuela de Posgrado	Maestría	<input type="checkbox"/>	Doctorado	<input type="checkbox"/>		

Programa:

De la Universidad Nacional del Santa; Declaro que el trabajo de investigación intitulado:

*Capacidad de la microalga Tetraselmis suecica para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco Litopenaeus Vannamey*

presentado en ..... folios, para la obtención del Grado académico: ( )

Título profesional: (  ) Investigación anual: ( )

- He citado todas las fuentes empleadas, no he utilizado otra fuente distinta a las declaradas en el presente trabajo.
- Este trabajo de investigación no ha sido presentado con anterioridad ni completa ni parcialmente para la obtención de grado académico o título profesional.
- Comprendo que el trabajo de investigación será público y por lo tanto sujeto a ser revisado electrónicamente para la detección de plagio por el VRIN.
- De encontrarse uso de material intelectual sin el reconocimiento de su fuente o autor, me someto a las sanciones que determinan el proceso disciplinario.

Nuevo Chimbote, *31* de *marzo* de 20*23*

Firma:

Nombres y Apellidos: *GABBY ADELA CARHUANINA LEON*

DNI: *41719023*

**NOTA: Esta Declaración Jurada simple indicando que su investigación es un trabajo inédito, no exime a tesis y investigadores, que no bien se retome el servicio con el software antiplagio, ésta tendrá que ser aplicado antes que el informe final sea publicado en el Repositorio Institucional Digital UNS.**



## DECLARACION JURADA DE AUTORÍA

Yo, *Sandra Lissatta Fuentes Sara*

Facultad:	Ciencias	<input checked="" type="checkbox"/>	Educación	<input type="checkbox"/>	Ingeniería	<input type="checkbox"/>
Escuela Profesional:	<i>Biología en Acuicultura</i>					
Departamento Académico:	<i>—</i>					
Escuela de Posgrado	Maestría	<input type="checkbox"/>	Doctorado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Programa:						
De la Universidad Nacional del Santa; Declaro que el trabajo de investigación intitulado:						
<i>Capacidad de la microalga <i>Tetraselmis suecica</i> para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>.</i>						
presentado en ..... folios, para la obtención del Grado académico:					( )	
Título profesional:	( <input checked="" type="checkbox"/> )	Investigación anual:			( )	
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ He citado todas las fuentes empleadas, no he utilizado otra fuente distinta a las declaradas en el presente trabajo.</li><li>➤ Este trabajo de investigación no ha sido presentado con anterioridad ni completa ni parcialmente para la obtención de grado académico o título profesional.</li><li>➤ Comprendo que el trabajo de investigación será público y por lo tanto sujeto a ser revisado electrónicamente para la detección de plagio por el VRIN.</li><li>➤ De encontrarse uso de material intelectual sin el reconocimiento de su fuente o autor, me someto a las sanciones que determinan el proceso disciplinario.</li></ul>						
Nuevo Chimbote, <i>31</i> de <i>marzo</i> de 20 <i>23</i> .						
Firma:						
Nombres y Apellidos:	<i>Sandra Lissatta Fuentes Sara</i>					
DNI:	<i>40320785</i>					

NOTA: **Esta Declaración Jurada simple indicando que su investigación es un trabajo inédito, no exime a tesisistas e investigadores, que no bien se retome el servicio con el software antiplagio, ésta tendrá que ser aplicado antes que el informe final sea publicado en el Repositorio Institucional Digital UNS.**





## ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Juan Fernando Merino Moya con DNI N° 17909299 de la Facultad de Ciencias, de la Escuela Académica Profesional de Biología en acuicultura de la Universidad Nacional de Santa. Asesor/unidad de investigación revisora del trabajo de investigación intitulado: Capacidad de la microalga *Tetraselmis suecica* para remover las concentraciones de nitrógeno y fósforo de los efluentes de un hatchery de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*, de las egresadas: Carhuanina León, Gabby Adela y Fuentes Jara, Sandra Lissette de la escuela académico profesional de Biología de Acuicultura. Quién suscribe la presente, declaro haber analizado dicho reporte y concluyo que las coincidencias detectadas no se conforman como plagio. A mi claro saber y entender, la investigación cumple con las normas de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional del Santa.

Nuevo Chimbote, 01 de abril 2023

---

Dr. Juan Fernando Merino Moya  
DNI: 17909299

**NOTA:** Esta Declaración Jurada Simple indicando que su investigación es un trabajo inédito, no exime a tesis e investigadores, que no bien se retome el servicio con el software anti plagio, esta tendrá que ser aplicado antes que el informe final sea publicado en el Repositorio Institucional Digital UNS.