

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



Crecimiento de *Tetraselmis suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas

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

**Autores**

Bach. Rojas Egusquiza Jhonny Enrique

Bach. Rojas Egusquiza Mirla Arumi

**Asesora**

MSc. Mendoza Espinoza Sorayda

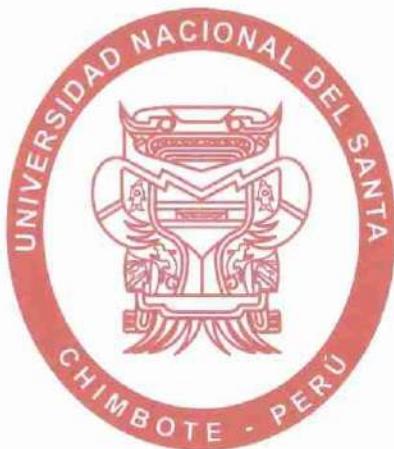
ORCID: 0000-0002-9212-8030

DNI: 32924785

**Nuevo Chimbote – Perú**

**2025**

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



Crecimiento de *Tetraselmis suecica* en condiciones fotoautotróficas,  
fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO ACUICULTOR

Autores

Bach. Rojas Egusquiza Jhonny Enrique  
Bach. Rojas Egusquiza Mirla Arumi

Asesora

  
MSc. Mendoza Espinoza Sorayda

ORCID: 0000-0002-9212-8030

DNI: 32924785

Nuevo Chimbote – Perú

2025

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



Crecimiento de *Tetraselmis suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas

**Sustentado por:**

Bach. Rojas Egusquiza Jhonny Enrique

Bach. Rojas Egusquiza Mirla Arumi

**Jurado Evaluador**

---

  
Dr. Merino Moya Juan  
Presidente  
DNI: 17909299  
RCID: 0000-0002-4848-3190

---

  
Dr. Reyes Avalos Walter  
Secretario  
DNI: 17878579  
ORCID: 0000-0002-4277-9521

---

  
MSc. Mendoza Espinoza Sorayda  
Integrante  
DNI: 32924785  
ORCID: 0000-0002-9212-8030

**Nuevo Chimbote – Perú**

**2025**

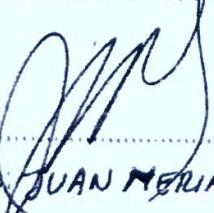
# ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el LABORATORIO DE RECURSOS ACUATICOS Y CULTIVO DE ESPECIES AUXILIARES siendo las 19:30 horas del dia 16 - 06 - 2025 dando cumplimiento a la Resolución N° 146 - 2025 - UNS - PC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por DR. JUAN MERINO MOYA, teniendo como miembros a DR. WALTER REYES AVALOS (secretario) (a), y MSC. SORAYDA MENDOZA ESPINOZA (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de BIOLOGO ACUICULTOR realizado por el, (la), (los) tesista (as) JHONNY ENRIQUE ROJAS EGUSQUIZA (cod.0201377022) y MIRIA ARIUMI ROJAS EGUSQUIZA (cod.0200622016), quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: CRECIMIENTO DE TETRASELMIS SUECA EN CONDICIONES FOTOAUTOTROFICAS, FOTOTEROTROFICAS, HETEROTROFICAS Y MIXOTROFICAS.

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 EXCELENTE, asignándole un calificativo de 19 puntos, según artículo 112º del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 337-2024-CU - R-UNS).

Siendo las 20:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

  
Nombre: JUAN MERINO MOYA  
Presidente

  
Nombre: WALTER REYES AVALOS  
Secretario

  
Nombre: SORAYDA MENDOZA ESPINOZA  
Integrante

Distribución: Integrantes (8) ( ), tesistas ( ) y archivo (02).



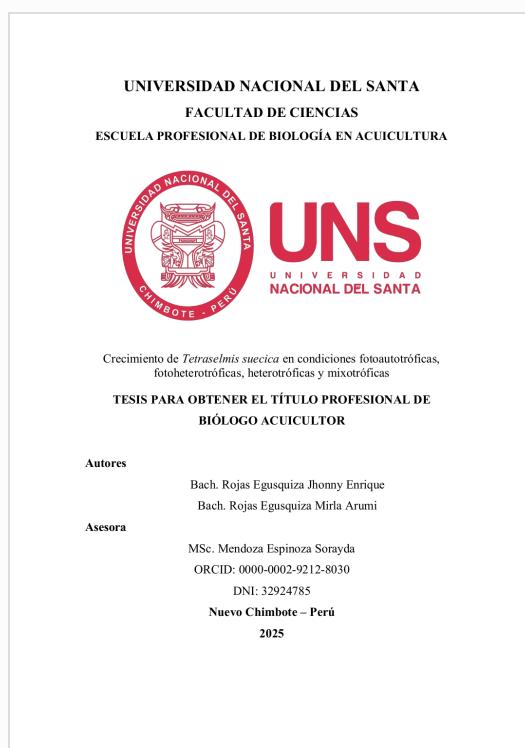


## Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: JHONNY ENRIQUE ROJAS EGUSQUIZA  
Título del ejercicio: TESIS // pregrado  
Título de la entrega: Crecimiento de *Tetraselmis suecica* en condiciones fotoautotróficas  
Nombre del archivo: Crecimiento\_de\_Tetraselmis\_suecica\_en\_condiciones\_fotoautotróficas.pdf  
Tamaño del archivo: 911.44K  
Total páginas: 44  
Total de palabras: 10,327  
Total de caracteres: 56,986  
Fecha de entrega: 21-sept-2025 11:38a.m. (UTC-0500)  
Identificador de la entrega: 2757301170



# Crecimiento de Tetraselmis suecica en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.pdf

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://repositorio.uns.edu.pe">repositorio.uns.edu.pe</a>	2%
2	<a href="http://revistas.unal.edu.co">revistas.unal.edu.co</a>	1%
3	<a href="http://cicese.repositorioinstitucional.mx">cicese.repositorioinstitucional.mx</a>	1%
4	<a href="http://Submitted to Universidad Nacional del Santa">Submitted to Universidad Nacional del Santa</a>	1%
5	<a href="http://repositoriodigital.uns.edu.ar">repositoriodigital.uns.edu.ar</a>	1%
6	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a>	<1%
7	<a href="http://ouci.dntb.gov.ua">ouci.dntb.gov.ua</a>	<1%
8	<a href="http://es.scribd.com">es.scribd.com</a>	<1%
9	<a href="http://rabida.uhu.es">rabida.uhu.es</a>	<1%
10	<a href="http://repository.javeriana.edu.co">repository.javeriana.edu.co</a>	<1%
11	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a>	<1%

## DEDICATORIA

A mi madre, la persona más importante de mi vida y a mi familia. Estoy eternamente agradecido con ustedes por su amor y apoyo incondicional.

*Jhonny Enrique Rojas Egusquiza*

Quiero dedicar este trabajo a mi yo de 12 años, a esa niña que, una mañana durante la hora de recreo, se sentó a soñar despierta, mirando más allá de su colegio Atusparia. Esa niña que imaginaba atravesar cada pared que se interponía entre su escuela y la que un día sería su universidad. Dos instituciones que, por ironías de la vida, estaban frente a frente, pero separadas por pistas, un orfanato y un amplio arenal que simbolizaban todos los obstáculos que habría que superar para alcanzar la meta

Valió la pena cada paso dado, cada camino recorrido. Fueron muchísimos las personas que formaron parte de este proceso: quienes creyeron en ti, a los que te alentaron, a quienes te hicieron bromas, a los que te aconsejaron, a los que te apoyaron con palabras o materiales, a quienes te escucharon, a los que te dieron de comer y te ofrecieron un techo, a los que te regañaron y, si, también a aquellos que se burlaron y no creyeron en ti.

Todos ellos contribuyeron de alguna manera en este camino, siente regocijo y alegría de lo que lograste porque fuiste tú quien lo recorrió. Ahora caminas junto a otra niña, que tendrá sus propias metas y tú eres su inspiración. Tu camino se está ramificado con ella, como un árbol que crece y da nuevas ramas.

*Mirla Arumi Rojas Egusquiza*

## AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más profundo agradecimiento a la Dra. Eliana Zelada Mazmela por abrirnos las puertas del laboratorio LGFyR. Valoramos enormemente su confianza, sus consejos brindados tanto en el ámbito académico como a nivel personal. Por su excelencia profesional y su invaluable labor en impulsar la producción científica, inspirando a quienes trabajan a su lado y por sobre todo por la calidad humana que la caracteriza.

Agradecer a nuestra asesora Msc. Sorayda Mendoza Espinoza, quien nos ayudó y dirigió desde un inicio para el desarrollo y término de nuestro proyecto de tesis, además también por la amistad que se pudo forjar en el trascurso.

Agradecer a Luis, Cleila, Karen, Lalo, Anaid, Edgar, Ángel, Mariesther, Daniela, Leonardo y Ángela quienes forman parte del laboratorio LGFyR, por su amabilidad, consejos, apoyo brindado y por hacernos sentir parte de la familia del laboratorio.

Agradecer a los todos los profesores que contribuyeron en nuestra formación académica a lo largo de nuestro paso por la universidad, brindándonos sus conocimientos y experiencia, así como por abrirnos las puertas y apoyarnos. También agradecer a los técnicos de la Escuela de Biología en Acuicultura y Facultad de Ciencias.

Agradecer a cada miembro de nuestra familia por ser parte de este proceso, ellos nos ayudaron siendo ese motor que nos motiva todos los días a ser mejores y compartir un logro más con ellos. Gracias por existir y estar con nosotros familia.

Agradecemos a la Universidad Nacional del Santa por el financiamiento recibido, indispensable para el desarrollo de este proyecto.

## ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN .....	8
II. MARCO TEÓRICO .....	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	15
3.1. Procedencia de la microalga, aislamiento y adaptación de los cultivos .....	15
3.2. Fuente de carbono orgánico e inorgánico .....	16
3.3. Obtención y tratamiento del agua de mar .....	16
3.4. Condiciones de los cultivos experimentales .....	17
3.5. Diseño experimental .....	18
3.6. Determinación de la densidad celular .....	18
3.7. Determinación de la biomasa .....	19
3.9. Medición de pH y temperatura .....	20
3.10. Análisis estadístico .....	20
IV. RESULTADOS .....	21
4.1. Densidad celular .....	21
4.3. Biomasa .....	23
4.4. pH .....	24
4.5. Temperatura .....	25
4.6. Correlación entre los parámetros .....	26
V. DISCUSIÓN .....	27
VI. CONCLUSIONES .....	32
VII. RECOMENDACIONES .....	33
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34
IX. ANEXOS .....	39

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones nutricionales de los cultivos experimentales. ....	18
Tabla 2. Tasa de crecimiento específico ( $\mu$ ), tasa de división celular ( $k$ ) y productividad ( $P$ ) de <i>T. suecica</i> cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas. ....	22
Tabla 3. pH de los cultivos de <i>T. suecica</i> cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.....	24

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de categorías nutricionales para microalgas (adaptado de Dragone, 2022).....	11
Figura 2. Matraces de los tratamientos experimentales en el séptimo día de cultivo.....	17
Figura 3. Muestras de 50 mL de los cultivos experimentales para la determinación de la biomasa.....	19
Figura 4. Densidad celular de <i>T. suecica</i> en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.....	21
Figura 5. Biomasa final de <i>T. suecica</i> cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.....	23
Figura 6. Dinámica de la temperatura de los cultivos de <i>T. suecica</i> cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas .....	25
Figura 7. Relaciones entre el crecimiento celular, biomasa, pH y temperatura de los cultivos de <i>T. suecica</i> en diferentes condiciones tróficas (**p<0.001).....	26

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el crecimiento de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas. Se utilizó glucosa (5 g/L) como fuente de carbono orgánico en los cultivos fotoheterotróficos, heterotróficos y mixotróficos y se utilizó bicarbonato de sodio (0.6 g/L) como fuente de carbono inorgánico en los cultivos fotoautotróficos y mixotróficos. Respecto a la fuente de energía, todos los cultivos fueron expuestos a iluminación (2000 lux) con fotoperiodo de 12:12 h de luz:oscuridad, a excepción del cultivo heterotrófico que se desarrolló en completa oscuridad cubierto con papel aluminio. Los resultados de todos los parámetros medidos demostraron que el tratamiento mixotrófico promueve mayor densidad celular ( $3.63 \times 10^6$  cél/mL), biomasa (2.38 g/L), mayor tasa de crecimiento específica (0.198), mayor tasa de duplicación celular (0.286) y mayor productividad (0.313) respecto a todos los demás tratamientos evaluados. El análisis estadístico (Anova y Tukey) indicó que el cultivo mixotrófico y fotoheterotrófico fueron significativamente superiores, seguido del cultivo fotoautotrófico, control y heterotrófico. En conclusión, el crecimiento de *T. suecica* es mayor cuando se cultiva en condiciones mixotróficas.

**Palabras clave:** modos tróficos, crecimiento microalgal, mixotrofia, heterotrofia, autotrofia.

## ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the growth of *T. suecica* under photoautotrophic, photoheterotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. Glucose (5 g/L) was used as organic carbon source in the photoheterotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures and sodium bicarbonate (0.6 g/L) was used as inorganic carbon source in the photoautotrophic and mixotrophic cultures. Regarding the energy source, all cultures were exposed to illumination (2000 lux) with 12:12 h light:dark photoperiod, except for the heterotrophic culture which was grown in complete darkness covered with aluminum foil. The results of all measured parameters showed that the mixotrophic treatment promoted higher cell density ( $3.63 \times 10^6$  cells/mL), biomass (2.38 g/L), higher specific growth rate (0.198), higher cell doubling rate (0.286) and higher productivity (0.313) with respect to all other treatments evaluated. Statistical analysis (Anova and Tukey) indicated that the mixotrophic and photoheterotrophic cultures were significantly superior, followed by the photoautotrophic, control and heterotrophic cultures. In conclusion, the growth of *T. suecica* is higher when grown under mixotrophic conditions.

**Keywords:** trophic modes, microalgal growth, mixotrophy, heterotrophy, autotrophy.

## I. INTRODUCCIÓN

El sector de cultivo de microalgas enfrenta desafíos en la producción de biomasa (Ismail & Zokm, 2025), al tiempo que surge una creciente demanda de materias primas sostenibles para reemplazar a las no renovables. La problemática vinculada a la demanda de alimentos, energía y agua podría encontrar una solución prometedora y sostenible en la biomasa microalgal debido a que es una materia prima energética capaz de satisfacer las necesidades presentes y futuras de biorecursos (Wibisono et al., 2019).

A partir de las microalgas se obtienen productos farmacéuticos, cosméticos, pigmentos, ácidos grasos, biofertilizantes, biocombustibles, alimento para animales, agentes antimicrobianos y antivirales. Además, se emplean en el tratamiento de aguas residuales, la eliminación de contaminantes, la biomitigación de CO<sub>2</sub> y para producir compuestos con aplicaciones en medicina humana (Abreu et al., 2022; Huang et al., 2024).

Los nutrientes orgánicos e inorgánicos provenientes de desechos o subproductos industriales son clave para cumplir los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030, centrados en prevenir y reducir la contaminación por nutrientes (Naciones Unidas, 2018). Aprovechar desechos y subproductos industriales no solo contribuye a prevenir la potencial contaminación ambiental, sino que aporta recursos nutricionales de bajo costo para la producción de microalgas generando además beneficios económicos (Sarma et al., 2021). Por ello, diversos estudios han evaluado fuentes orgánicas como la glucosa, acetato, fructuosa, glicerol, sacarosa, lactosa, suero de leche y vinasa comparando su efecto en el crecimiento autotrófico, heterotrófico y mixotrófico de distintas especies de microalgas (Abreu et al., 2022).

La identificación de fuentes rentables de nutrientes aprovechables en la producción de biomasa microalgal resulta crucial para la sostenibilidad de esta actividad.

Por ello, es fundamental comprender cómo el crecimiento de las microalgas se ve afectado por diferentes fuentes de energía y nutrientes orgánicos e inorgánicos (Nicodemou et al., 2022). La presente investigación busca determinar la condición nutricional que aumente el crecimiento de *T. suecica*. A partir de ello, se pueden aplicar diferentes fuentes alternativas de nutrientes de bajo costo para lograr una mayor productividad.

Las microalgas destacan como fuente prometedora de materia prima para el abastecimiento sostenible de productos comestibles (Ijaola et al., 2024) y no comestibles, como los biocombustibles (Rengarajan et al., 2024). *Tetraselmis suecica* es una microalga marina principalmente cultivada como alimento en la acuicultura para especies como tilapia debido a que mejora el crecimiento y por su apreciable actividad antimicrobiana, ha demostrado ser una valiosa fuente de bioactivos con importancia farmacéutica (Abdel-Tawwab et al., 2024; Guzmán et al., 2019). Además, también es utilizada como alimento para larvas de bivalvos y como suplemento alimenticio para crustáceos, ya que ha demostrado tener efectos positivos en el crecimiento, supervivencia y utilización de nutrientes (Rizwan et al., 2018; Sharawy et al., 2020). En Perú, el IMARPE (2022) utiliza esta especie como alimento para *Brachionus plicatilis*, *Artemia franciscana* y *Apocyclops spartinus*.

En el ámbito de la biorremediación el cultivo de *Tetraselmis suecica* crece eficazmente en aguas residuales municipales, bioacumula plomo y produce abundantes carbohidratos aprovechables para bioetanol (Al-Jaryan et al., 2024; Reyimu & Özçimen, 2017). En resumen, *T. suecica* es una especie importante por su amplia utilización en la acuicultura, la industria alimentaria y la biorremediación, convirtiéndose en un recurso renovable de gran interés.

## **Problema de investigación**

¿Cuál es el crecimiento de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas?

## **Hipótesis de investigación**

El cultivo mixotrófico de *T. suecica* tiene mayor crecimiento que los cultivos fotoautotrófico, fotoheterotrófico y heterotrófico.

## **Objetivo general**

Evaluar el crecimiento de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

## **Objetivos específicos**

Determinar la densidad celular de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

Determinar la biomasa de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

Determinar la tasa de crecimiento específica ( $\mu$ ), la tasa de duplicación celular ( $k$ ) y la productividad ( $P$ ) de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

## II. MARCO TEÓRICO

Los modos tróficos son las diferentes estrategias nutricionales que las microalgas son capaces de utilizar para su crecimiento. Estas estrategias se diferencian por el tipo de fuente de energía y de carbono que utilizan. Las dos principales son la autotrofia y la heterotrofia, de las cuales se derivan la fotoautotrofia, fotoheterotrofia, quimioautotrofia, quimioheterotrofia y mixotrofia (Dragone, 2022).

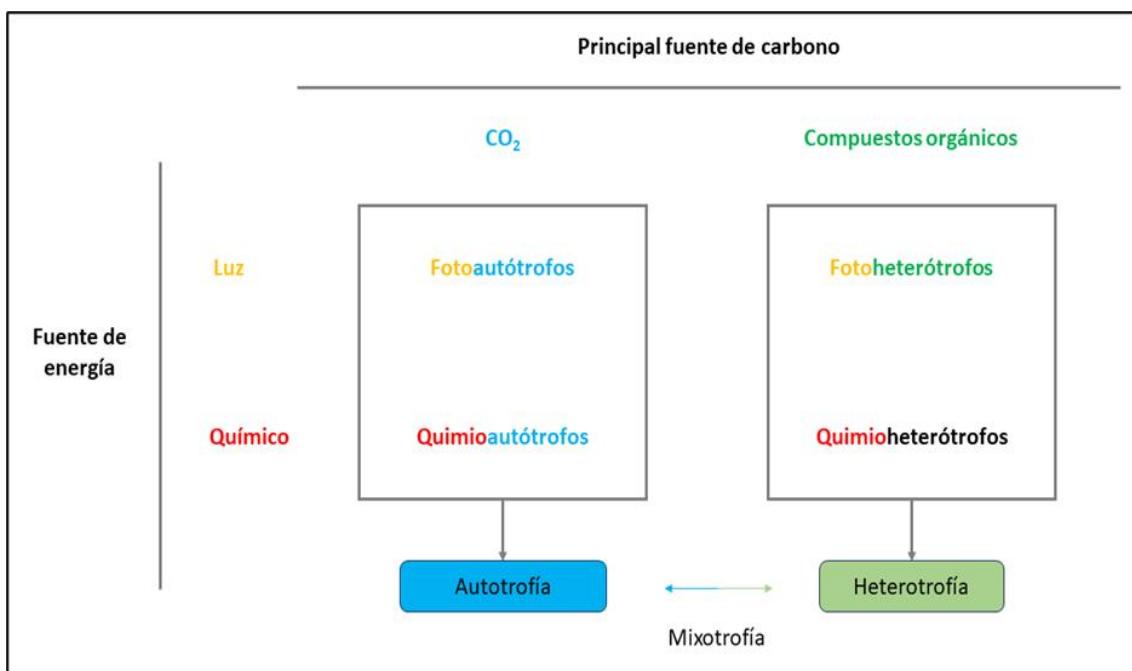


Figura 1. Clasificación de categorías nutricionales para microalgas (adaptado de Dragone, 2022)

Las estrategias nutricionales más estudiadas de las microalgas son la fotoautotrofia, heterotrofia y mixotrofia. De las cuales, la fotoautotrofia es la más utilizada en la producción mundial de microalgas a escala industrial (Ruiz et al., 2022). La producción comercial de microalgas autotróficas se sitúa alrededor de las 20 000 toneladas anuales en peso seco (Benemann et al., 2018). El cultivo fotoautotrófico consiste en utilizar luz como fuente de energía y CO<sub>2</sub> como fuente de carbono (Ijaola et

al., 2024). La producción autotrófica es el método más sencillo y económico para generar biomasa microalgal, pues prescinde de fuentes de carbono orgánico, reduce el riesgo de contaminación biológica y tiene bajos costos operativos. (Ruiz et al., 2022).

En el cultivo heterotrófico las microalgas pueden crecer en la oscuridad utilizando compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía (Mehariya et al., 2024). Principalmente este modo de cultivo se emplea para obtener altas concentraciones de lípidos para la producción de biocombustible (Gong et al., 2024). Comúnmente este tipo de cultivo se desarrolla en fermentadores con un suministro periódico o continuo de fuentes de carbono (por ejemplo, glucosa, ácidos grasos volátiles) para generar biomasa con alto contenido de lípidos para la posterior producción de biocombustibles (Nguyen et al., 2022).

El cultivo mixotrófico consiste en la combinación de la autotrofia y heterotrofia, es decir, es la utilización de la fotosíntesis y formas alternativas de adquisición de carbono a partir de compuestos orgánicos (Muñoz-Marín et al., 2024). Villanova & Spetea (2021) describen a la mixotrofia como el modo trófico que se desarrolla en presencia tanto de luz como de carbono orgánico, gracias a la activación simultánea tanto de la respiración como de la fotosíntesis. Además, mencionan que la mixotrofia es un modo sinérgico debido a permite el intercambio de energía (ATP) entre el cloroplaso y la mitocondria, lo cual, estimula el crecimiento, la producción de carbohidratos y lípidos.

En términos de productividad, los cultivos mixotróficos son los más productivos, seguidos por los heterotróficos y los autotróficos, presentando ventajas y desventajas en cada tipo de cultivo. Además, no todas las microalgas están habilitadas para asimilar compuestos orgánicos, sin embargo, el género *Tetraselmis* ha demostrado poder asimilar estos compuestos (Penhaul Smith et al., 2021). Por ejemplo, se han obtenido mayores tasas de crecimiento, mayor biomasa y acumulación de lípidos en cultivos mixotróficos

comparados con cultivos fotoautotróficos y heterotróficos en diferentes especies de microalgas, incluido el género *Tetraselmis* (Chan et al., 2025; Proietti Tocca et al., 2024). Cao et al. (2023) investigaron a *C. vulgaris* en diferentes condiciones de cultivo y encontraron que producción de biomasa fue de 3.1, 2.5 y 0.5 g/L en su cultivo mixotrófico, heterotrófico y fotoautotrófico, respectivamente. Maroneze et al. (2025) han informado concentraciones de biomasa de *Galdieria sulphuraria* de 5.96 y 7.99 g/L en su cultivo heterotrófico y mixotrófico, respectivamente. Mientras que los cultivos fotoautotrófico y mixotrófico de *Tetraselmis* sp. han alcanzado concentraciones de biomasa de 1.73 y 2.03 g/L, respectivamente (Lari et al., 2019). Dang et al. (2022) obtuvieron concentraciones de biomasa de 1.88 y 2.55 g/L en cultivos fotoautotróficos y mixotróficos de *Tetraselmis* sp con suplementación de nitrato, respectivamente. Stegemüller et al. (2024) investigaron el crecimiento de *Haematococcus lacustris* en condiciones fotoautotróficas, mixotróficas y heterotróficas, evaluando cuatro fuentes de carbono (acetato, metanol, glucosa y glicerol) y distintas intensidades lumínicas. Hallaron que la mixotrofia con acetato alcanzó la mayor tasa de crecimiento (0.91) y toleró hasta un 30% más de intensidad lumínica que la fotoautotrofia, además de presentar un crecimiento 1.8 veces mayor que la suma de la heterotrofia y fotoautotrofia.

Silkina et al. (2025) investigaron las combinaciones de modos nutricionales (autotrófico, mixotrófico y heterotrófico) en un cultivo de *S. obliquus* y hallaron que el modo mixotrófico y heterotrófico alcanzó mayores concentraciones de biomasa (7.2–10.5 g/L) y un contenido proteico del 44%, superando así al modo autótrofo (32% de proteína). Además, se removió el 100% del azúcar residual en 72 h y se duplicaron las tasas de eliminación de amonio y fosfato respecto al cultivo autótrofo.

Los cultivos autotróficos y heterotróficos comparten algunas rutas metabólicas y activan diferentes rutas propias de cada metabolismo, ya que, la energía y el carbono

proviene de fuentes orgánicas e inorgánicas. En el caso del metabolismo mixotrófico, este está compuesto por la suma de todas las rutas metabólicas autotróficas y heterotróficas (Abreu et al., 2022). Pero además la principal razón por la cual la mixotrofia es el modo nutricional que mayor crecimiento promueve para la gran mayoría de microalgas es que permite una interacción sinérgica entre el metabolismo autotrófico y heterotrófico (Shan et al., 2023). Por ejemplo, Vidotti et al. (2020) evidenciaron que aumentar el contenido de carbono inorgánico en cultivos fotoautotróficos mejora la eficiencia de fijación de carbono y la respiración aeróbica. Según estos autores, esta mejora se atribuye al incremento de CO<sub>2</sub> en el medio, que acelera el metabolismo del ciclo de Calvin y, por tanto, potencia la síntesis de sustancias bioactivas en el cloroplasto. Por otro lado, se ha descubierto que aumentar el contenido de carbono orgánico en el medio tiene un efecto positivo en ciclo de Krebs, lo que probablemente contribuye al aumento de la producción de biomasa en cultivos mixotróficos (Gao et al., 2021).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Procedencia de la microalga, aislamiento y adaptación de los cultivos

*Tetraselmis suecica* fue obtenida a partir de un cultivo líquido proporcionado por el Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa. Se realizó un doble aislamiento consecutivo en placas Petri, utilizando agar bacteriológico (1 %) y agua de mar estéril enriquecida con medio Guillard (1 mL/L). El cultivo en agar del segundo aislamiento fue escalado progresivamente a cultivo líquido (10, 100 y 250 mL).

El cultivo escalado a 250 mL fue dividido en cinco subcultivos: control, fotoautotrófico, fotoheterotrófico, heterotrófico y mixotrófico, con el objetivo de adaptar a las microalgas a las condiciones específicas de cada tratamiento. El proceso de adaptación consistió en exponer a cada cultivo de microalgas a las condiciones descritas en la tabla 1. Esta adaptación se llevó a cabo durante cuatro semanas de cultivo, realizando un desdoble semanal.

Para iniciar la fase de experimentación, las microalgas adaptadas, en fase de crecimiento exponencial fueron cosechadas mediante centrifugación a 3500 rpm durante 5 min. La biomasa cosechada fue inmediatamente resuspendida en agua de mar estéril, obteniéndose cinco cultivos iniciales, cada uno correspondiente a un tratamiento específico.

### **3.2. Fuente de carbono orgánico e inorgánico**

El carbono orgánico utilizado en los cultivos fotoheterotróficos, heterotróficos y mixotróficos fue D-glucosa (99 %) (Sigma-Aldrich) en una concentración de 5 g/L, dosis óptima para *Tetraselmis*, según lo recomendado por Lari et al, (2019).

El carbono inorgánico utilizado en los cultivos fotoautotróficos y mixotróficos fue bicarbonato de sodio (Sigma-Aldrich) en una concentración de 0.6 g/L, dosis determinada a partir de preensayos (Anexo 3).

### **3.3. Obtención y tratamiento del agua de mar**

El agua de mar utilizada fue recolectada de la playa "El Dorado", ubicada en el distrito de Nuevo Chimbote (9° 11' 15" S; 78° 33' 55" O). Se sometió a un doble filtrado mediante una bomba de vacío manual (ROCKER) utilizando papel filtro de 20  $\mu\text{m}$  y 8  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, el agua fue desinfectada con hipoclorito de sodio al 4 % en una proporción de 0.5 mL/L, dejando actuar durante 30 min. El cloro residual se neutralizó con tiosulfato de sodio al 28% en una proporción de 0.5 mL/L. A continuación, el agua fue esterilizada en autoclave a 121 °C y 1 atmósfera durante 30 min. Finalmente, el agua autoclavada se sometió a radiación UV durante 20 min en una cámara de flujo laminar (BIOBASE).

### 3.4. Condiciones de los cultivos experimentales

Los cultivos experimentales se llevaron a cabo en matraces de 500 mL de capacidad con 200 mL de volumen de trabajo y una densidad celular inicial de  $0.5 \times 10^6$  cél/mL. Todos los tratamientos se mantuvieron en un fotoperiodo de luz:oscuridad de 12:12 con luz fluorescente de 2000 lux de intensidad, a excepción del tratamiento heterotrófico que se desarrolló en completa oscuridad, para lo cual, los matraces fueron totalmente cubiertos con papel aluminio (Fig. 2). Se utilizó medio de cultivo Guillard (1 mL/L), la temperatura ambiente fue mantenida a 25° C mediante aire acondicionado y la agitación de los cultivos se realizó manualmente tres veces al día.



Figura 2. Matraces de los tratamientos experimentales en el séptimo día de cultivo.

### 3.5. Diseño experimental

El estudio consistió en la evaluación de cinco condiciones nutricionales de crecimiento. Para lo cual, cada cultivo experimental fue expuesto a diferentes combinaciones de fuentes de energía y carbono tal como se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones nutricionales de los cultivos experimentales.

Tratamiento	Fuente de energía	Fuente de carbono
Control	Lumínica	-
Fotoautotrófico	Lumínica	Inorgánico
Fotoheterotrófico	Lumínica + Orgánica	Orgánico
Mixotrófico	Lumínica + Orgánica	Orgánico + Inorgánico
Heterotrófico	Orgánica	Orgánico

Fuente de carbono inorgánico: Bicarbonato de sodio (0.6 g/L)

Fuente de carbono orgánico: Glucosa (5 g/L)

### 3.6. Densidad celular

La medición de la densidad celular de los cultivos (cél/mL) se realizó según el procedimiento descrito por Ynga & Niño (2019). Para ello, se utilizó una cámara Neubauer MARIENFELD de 0.1 mm y un microscopio óptico NIKON ECLIPSE 119c. Los conteos se realizaron diariamente a las 12:00 horas, tomando muestras de cada unidad experimental, las cuales fueron fijadas ácido acético (vinagre). El cálculo se llevó a cabo sumando las cifras obtenidas de los cuatro cuadrantes externos de la cámara Neubauer, estos datos fueron reemplazados en la siguiente fórmula:

$$N = (\sum Cél. C / 4) * 10000$$

Dónde:

N: Número de células por mililitro

$\sum Cél. C$ : Suma de células de los cuadrantes externos de la cámara de Neubauer

### 3.7. Biomasa

La biomasa de los cultivos se determinó mediante método gravimétrico. Se tomaron muestras de 50 mL de cada cultivo en tubos de centrifuga (Corning) previamente pesados (Figura 3). Se centrifugaron los tubos a 6500 rpm por 4 min desechando inmediatamente los sobrenadantes. Luego, los tubos con la biomasa húmeda fueron secados en estufa por 12 h a 60° C y se volvieron a pesar con la biomasa seca. La cantidad de biomasa (g/L) se determinó por la diferencia de peso entre los tubos con biomasa seca y los tubos sin biomasa.



Figura 3. Muestras de 50 mL de los cultivos experimentales para la determinación de la biomasa.

### 3.8. Indicadores de crecimiento

Adicionalmente, con los resultados de densidad celular se calculó la tasa de crecimiento específico ( $\mu$ ) según Tang et al. (2011), la tasa de división celular ( $k$ ) según Teo et al. (2014) y la productividad ( $P$ ) según Ogbonna et al. (2024) con las siguientes fórmulas:

$$\mu = \frac{\ln(\frac{X_1}{X_0})}{T_1 - T_0}$$

$$k = \frac{\mu}{\ln 2}$$

$$P = \frac{X_1 - X_0}{T_1 - T_0}$$

Dónde:

$X_0$  y  $X_1$  representan a la concentración inicial y final de la densidad celular (cél/mL), respectivamente.

$T_0$  y  $T_1$  representan al día inicial y final del cultivo, respectivamente.

### 3.9. Medición de pH y temperatura

Diariamente a las 12:00 h se midieron la temperatura y el pH con un multiparámetro digital EZODO 8200M (sensibilidad  $\pm 0.2$  °C y  $\pm 0.01$  pH).

### 3.10. Análisis estadístico

La normalidad de los datos se comprobó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Para evaluar las diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Para establecer diferencias significativas entre los tratamientos se realizó la prueba de Tukey. Todo el análisis estadístico y las figuras se realizaron con el software R Studio.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Densidad celular

La figura 4 muestra la densidad celular de los cultivos experimentales de *T. suecica* ( $\times 10^6$  cél/mL). En el día 10 de cultivo la mayor densidad celular se registró en la condición mixotrófica ( $3.63 \times 10^6$  cél/mL), seguida de la fotoheterotrófica ( $3.17 \times 10^6$  cél/mL), sin diferencias significativas entre ambas. La condición fotoautotrófica presentó un crecimiento intermedio ( $2.33 \times 10^6$  cél/mL), mientras que las condiciones control (1.58  $\times 10^6$  cél/mL) y heterotrófica ( $1.43 \times 10^6$  cél/mL) mostraron los valores más bajos, sin diferencias significativas entre ambas. Los resultados destacan el mayor crecimiento de la condición mixotrófica y fotoheterotrófica respecto a los demás tratamientos.

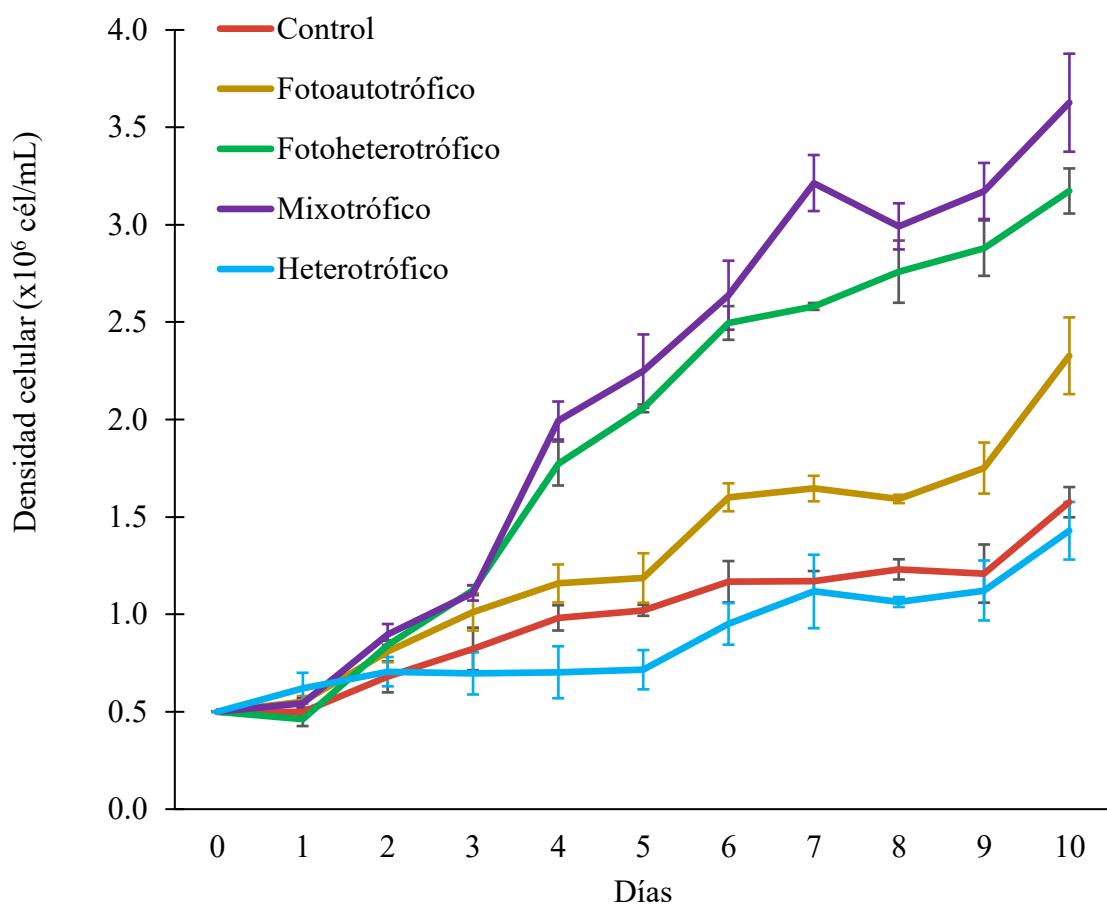


Figura 4. Densidad celular de *T. suecica* en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

#### 4.2.Indicadores de crecimiento

Los resultados de tasa de crecimiento específico ( $\mu$ ), tasa de división ( $k$ ) y productividad ( $P$ ) se presentan en la Tabla 2. Los valores presentan diferencias significativas entre las condiciones de cultivo para los tres indicadores evaluados ( $p \leq 0.05$ ).

Los resultados de los tres indicadores de crecimiento muestran que todos los tratamientos presentan diferencias significativas entre sí. La condición mixotrófica y fotoheterotrófica muestran los valores más altos en todos los indicadores. La condición fotoautotrófica presenta valores intermedios. Por último, la condición de control y heterotrófica presentan los valores más bajos.

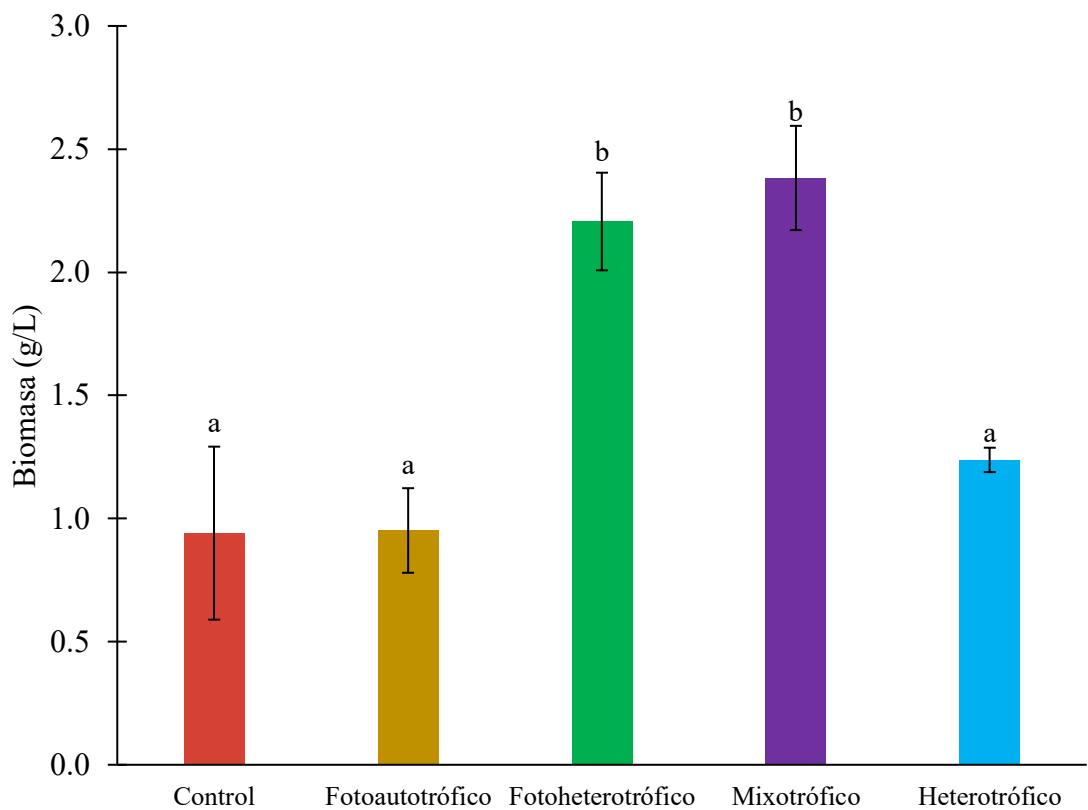
Tabla 2. Tasa de crecimiento específico ( $\mu$ ), tasa de división celular ( $k$ ) y productividad ( $P$ ) de *T. suecica* cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

Indicador	Control	Fotoautotrófico	Fotoheterotrófico	Mixotrófico	Heterotrófico
$\mu$	$0.115 \pm 0.005^a$	$0.154 \pm 0.008^b$	$0.185 \pm 0.004^c$	$0.198 \pm 0.007^c$	$0.105 \pm 0.006^a$
$k$	$0.165 \pm 0.007^a$	$0.222 \pm 0.012^b$	$0.267 \pm 0.005^c$	$0.286 \pm 0.010^c$	$0.151 \pm 0.015^a$
$P$	$0.108 \pm 0.008^a$	$0.183 \pm 0.020^b$	$0.267 \pm 0.012^c$	$0.313 \pm 0.025^c$	$0.093 \pm 0.015^a$

Los valores con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.3. Biomasa

La figura 5 muestra los resultados de biomasa final (g/L) de los cultivos experimentales de *T. suecica* (día 10). La condición mixotrófica obtuvo la mayor cantidad de biomasa con un valor 2.38 g/L, seguido por la fotoheterotrófica con 2.21 g/L, sin diferencias significativas entre ambas. Por otro lado, las condiciones heterotróficas, fotoautotróficas y de control fueron estadísticamente similares entre sí, con valores de 1.24 g/L, 0.95 g/L y 0.94 g/L, respectivamente.



Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Figura 5. Biomasa final de *T. suecica* cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas

#### 4.4. pH

La tabla 3 muestra los valores de pH de los cultivos experimentales de *T. suecica* en los diez días de cultivo. Se puede observar que los cultivos con bicarbonato y sin glucosa (control y fotoautotrófico) mantienen valores alcalinos que oscilan entre mínimo de 8.49 y un máximo de 9.20.

Por otro lado, los cultivos con glucosa, pero sin bicarbonato (heterotrófico y fotoheterotrófico) presentan valores ácidos y ligeramente alcalinos oscilando entre 6.96 y 8.45. Por último, el cultivo con glucosa y bicarbonato (mixotrófico) fue el tratamiento que mantuvo los valores de pH más estables con una ligera tendencia a la alcalinidad entre 7.84 y 8.68.

Tabla 3. pH de los cultivos de *T. suecica* cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

Día	pH				
	Control	Fotoautotrófico	Fotoheterotrófico	Mixotrófico	Heterotrófico
0	8.49 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.30 ± 0.02 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.02 <sup>b</sup>	8.00 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.29 ± 0.03 <sup>d</sup>
1	9.14 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.71 ± 0.05 <sup>a</sup>	7.20 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.84 ± 0.04 <sup>c</sup>	6.96 ± 0.01 <sup>d</sup>
2	9.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	8.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	7.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	8.06 ± 0.01 <sup>c</sup>	7.15 ± 0.18 <sup>d</sup>
3	9.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	9.20 ± 0.05 <sup>a</sup>	7.80 ± 0.04 <sup>b</sup>	8.11 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.13 ± 0.03 <sup>d</sup>
4	9.01 ± 0.04 <sup>a</sup>	9.01 ± 0.02 <sup>a</sup>	7.96 ± 0.04 <sup>b</sup>	8.18 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.35 ± 0.01 <sup>d</sup>
5	9.12 ± 0.03 <sup>a</sup>	9.18 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.14 ± 0.01 <sup>b</sup>	8.25 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.27 ± 0.04 <sup>d</sup>
6	8.92 ± 0.04 <sup>a</sup>	9.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	8.30 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.38 ± 0.12 <sup>c</sup>	7.45 ± 0.05 <sup>d</sup>
7	8.95 ± 0.01 <sup>a</sup>	9.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	8.28 ± 0.04 <sup>b</sup>	8.38 ± 0.04 <sup>c</sup>	7.06 ± 0.08 <sup>d</sup>
8	8.92 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.96 ± 0.02 <sup>a</sup>	8.27 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.51 ± 0.04 <sup>c</sup>	7.10 ± 0.05 <sup>d</sup>
9	9.14 ± 0.04 <sup>a</sup>	9.10 ± 0.02 <sup>a</sup>	8.45 ± 0.04 <sup>b</sup>	8.68 ± 0.10 <sup>c</sup>	7.03 ± 0.04 <sup>d</sup>
10	9.08 ± 0.02 <sup>a</sup>	9.10 ± 0.07 <sup>a</sup>	8.13 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.57 ± 0.06 <sup>c</sup>	6.98 ± 0.02 <sup>d</sup>

Los valores con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.5. Temperatura

La figura 6 muestra la dinámica de la temperatura en los cultivos experimentales de *T. suecica* durante diez días. Los valores de las curvas de temperatura de los tratamientos heterotrófico, fotoautotrófico, fotoheterotrófico y mixotrófico fueron similares, variando entre un mínimo de 22.3 °C y un máximo de 23.2 °C. El tratamiento control fue el único cultivo que mostró valores ligeramente menores de temperatura respecto a los demás, entre 22.2 y 22.5 °C. Pero en general todas las diferencias de temperatura entre todos los tratamientos fueron menores a 1°C.

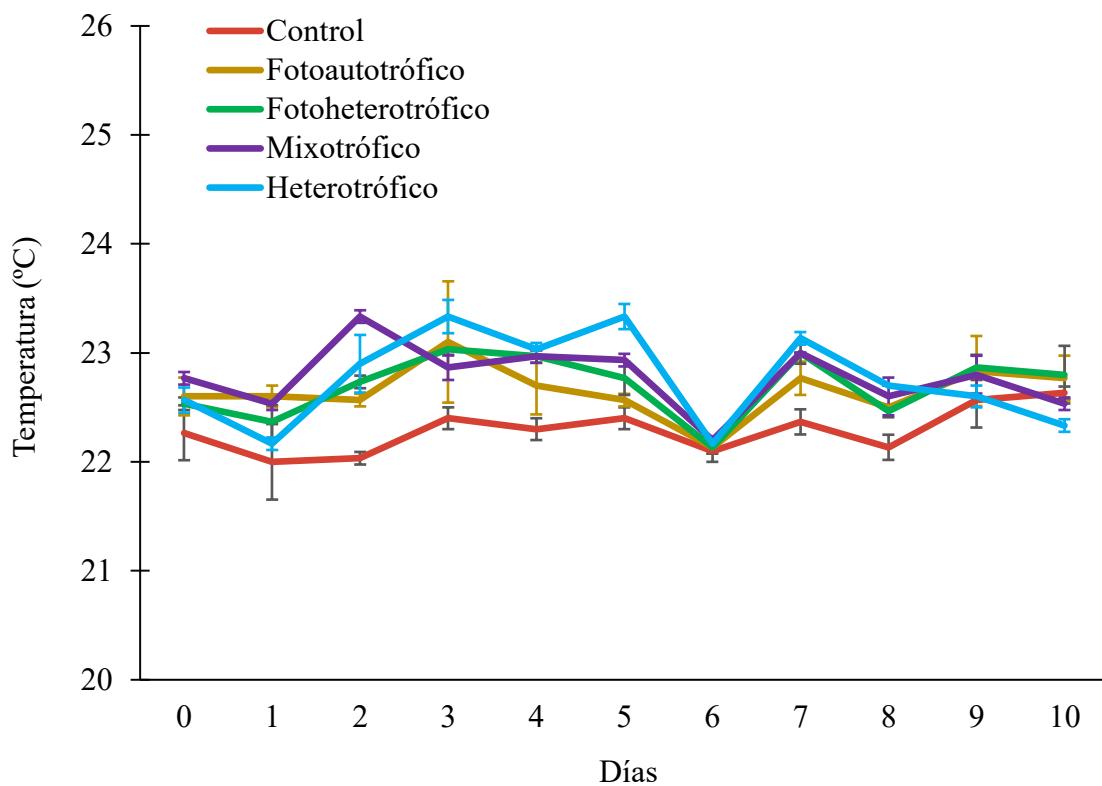


Figura 6. Dinámica de la temperatura de los cultivos de *T. suecica* cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

#### 4.6. Correlación entre los parámetros

La figura 7 muestra los coeficientes de correlación de Pearson entre la densidad celular, la biomasa, el pH y la temperatura. En resumen, el análisis muestra que todas las correlaciones entre los parámetros de crecimiento y los parámetros fisicoquímicos fueron débiles (-0.227 a 0.229), lo que indica que los parámetros fisicoquímicos no tuvieron influencia significativa sobre los parámetros de crecimiento.

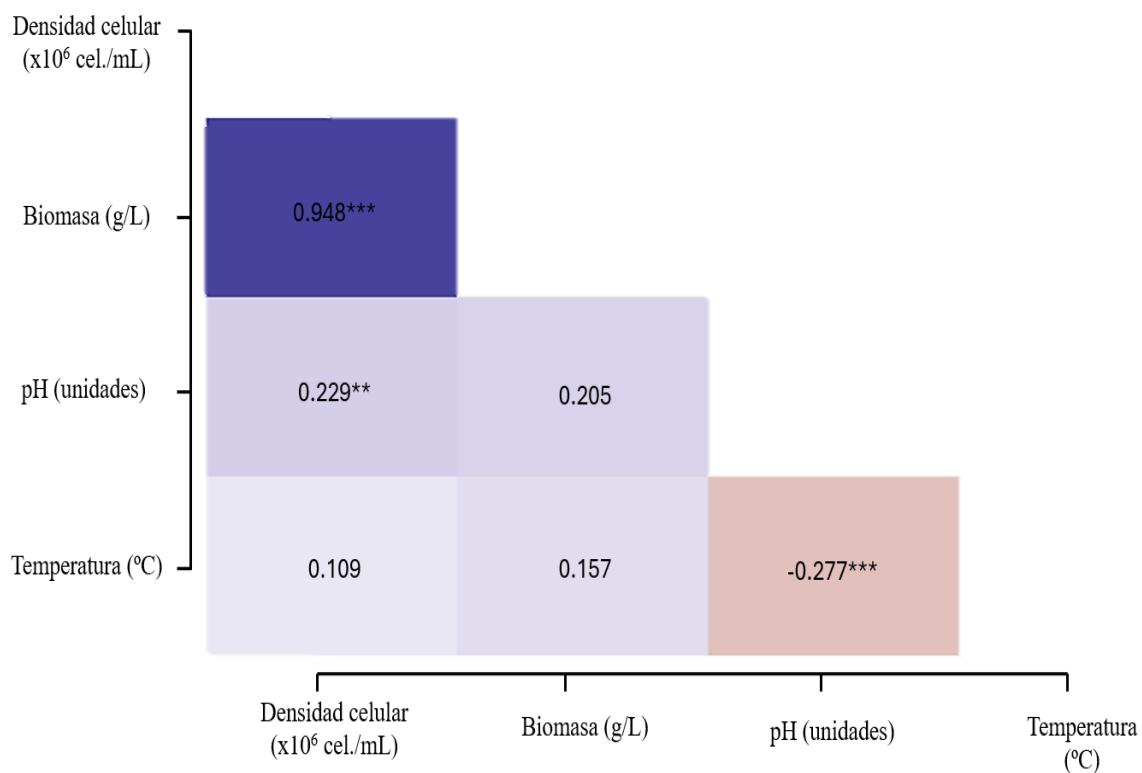


Figura 7. Relaciones entre la densidad celular, biomasa, pH y temperatura de los cultivos de *T. suecica* en diferentes condiciones tróficas (\*\*p<0.001).

## V. DISCUSIÓN

Los resultados de biomasa demuestran la superioridad del cultivo mixotrófico alcanzando 2.38 g/L, seguido por el fotoheterotrófico con 2.21 g/L, el heterotrófico con 1.24 g/L, el fotoautotrófico con 0.95 g/L y el control con 0.94 g/L (Figura 5). Esto probablemente se debió a que los tratamientos con carbono orgánico (glucosa) inducen en las microalgas efectos de gigantismo celular, el cual es un aumento del volumen celular que contribuye a que las células pesen más (Bhatnagar et al., 2010). Y también genera la producción de polisacáridos extracelulares (EPS) que son compuestos ricos en carbohidratos que contribuyen al aumento de biomasa (Babiak & Krzemińska, 2021).

Similares resultados han sido reportados por Yeesang & Cheirsilp (2014) quienes obtuvieron 2.46 g/L en mixotrofia, 1.75 g/L en heterotrofia y 1.14 g/L en autotrofia de *B. braunii*. Al igual Gim et al. (2014) informaron 2.33 g/L en mixotrofia, 2.20 g/L en heterotrofia y 1.10 g/L en autotrofia de *S. obliquus*. Por último, Sajadian et al. (2018) obtuvieron 3.91 g/L en mixotrofia, 2.47 g/L en heterotrofia y 1.52 g/L en autotrofia de *C. vulgaris*.

Los resultados de densidad celular obtenidos en este estudio demuestran que el cultivo mixotrófico ( $3.63 \times 10^6$  cél/mL) de *T. suecica* fue significativamente mayor que el cultivo fotoautotrófico ( $2.33 \times 10^6$  cél/mL), control ( $1.58 \times 10^6$  cél/mL), y heterotrófico ( $1.43 \times 10^6$  cél/mL), pero similar estadísticamente al cultivo fotoheterotrófico ( $3.17 \times 10^6$  cél/mL) (Figura 4 y anexo 1). Las posibles explicaciones del porque se obtiene mayor crecimiento con cultivos mixotróficos son muy variadas debido a la amplia investigación sobre los modos nutricionales de las microalgas (Proietti Tocca et al., 2024). En la práctica, se puede indicar que el crecimiento depende principalmente de la fuente de carbono orgánico utilizado y de la especie cultivada (Patel et al., 2021). En términos de metabolismo, Shan et al. (2023) explican que existen tres mecanismos sinérgicos que

ocurren durante la mixotrofia: la sinergia del metabolismo del carbono, la sinergia del metabolismo energético y la reutilización del dióxido de carbono, que en conjunto permiten que el cultivo mixotrófico sea más productivo en términos de crecimiento.

En ese sentido, el cultivo mixotrófico al contar con un suministro de carbono orgánico e inorgánico (glucosa y bicarbonato) probablemente pudo haberse beneficiado de la sinergia del metabolismo del carbono. Debido a que como explican Liu et al. (2009) suministrar carbono orgánico (glucosa) promueve la vía glucolítica y el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, lo que genera metabolitos como G3P y F6P que mejoran indirectamente la actividad del ciclo de Calvin. Además, el suministro de carbono inorgánico según Vidotti et al. (2020) favorece la eficiencia del ciclo de Calvin y la respiración aeróbica. Respecto a la energía, el mayor crecimiento del tratamiento mixotrófico también pudo deberse a la combinación de la energía lumínica y química que presenta esta condición (Tabla 1). Esta combinación de fuentes de energía según explica Bazdar et al. (2018) estabiliza la producción de ATP debido a que integra los metabolismos autotrófico y heterotrófico. Por último, nuestro cultivo mixotrófico probablemente también pudo haberse beneficiado del proceso de reutilización de CO<sub>2</sub>. Debido a que como explican Cecchin et al. (2018) las microalgas que son expuestas a compuestos orgánicos pueden activar una ruta metabólica heterotrófica que fija CO<sub>2</sub>, facilitando así su reutilización y reduciendo su pérdida. Además, Liu et al. (2022) también explican que el modo mixotrófico promueve altos niveles de expresión de anhidrasa carbónica y RuBisCO, lo cual produce la reutilización del CO<sub>2</sub> y en consecuencia se genera una mayor producción de biomasa. De igual forma es conveniente contrastar con un análisis de transcriptoma que mecanismos metabólicos se están llevando a cabo cuando las microalgas están en condiciones mixotróficas para poder comprender a que se debe específicamente el mayor crecimiento.

La similitud entre los resultados de densidad celular y biomasa entre el cultivo mixotrófico y el fotoheterotrófico podría explicarse por el hecho de que ambas condiciones son muy similares, diferenciándose únicamente por la adición de carbono inorgánico (tabla 1). Sin embargo, aunque el cultivo fotoheterotrófico no tuvo adición de carbono inorgánico (bicarbonato), las microalgas pudieron haber utilizado el carbono inorgánico ( $\text{CO}_2$ ) que se disuelve naturalmente en el medio, en dicho caso, ambas condiciones podrían considerarse mixotróficas debido a que cuentan con todas las fuentes de energía y carbono necesarias (figura 1) (Dragone, 2022). Debido a esta similitud, muchas investigaciones no suelen tratar la fotoheterotrofia como una condición adicional a evaluar, sino que se centran en las tres condiciones que más se diferencian entre sí: fotoautotrofia, heterotrofia y mixotrofia (Wang et al., 2014) .

En cuanto al cultivo fotoautotrófico, se observó un crecimiento medio ( $2.33 \times 10^6$  cél/mL), ya que los valores de densidad celular fueron inferiores que los cultivos mixotróficos y fotoheterotróficos, pero superiores a los del cultivo control y heterotrófico (Figura 4). Esto podría sugerir que *T. suecica* al ser una microalga principalmente autotrófica, su crecimiento dependería en mayor medida de fuentes inorgánicas de carbono y energía para realizar la fotosíntesis (Kurniawan et al., 2025).

El cultivo heterotrófico fue el tratamiento que obtuvo la menor densidad celular ( $1.43 \times 10^6$  cél/mL) esto podría indicar que *T. suecica* no crece de forma óptima en completa oscuridad. Sin embargo, el cultivo heterotrófico de *T. suecica* ya ha sido exitosamente desarrollado por Azma et al. (2010) quienes además establecieron un extenso protocolo para adaptar a esta especie a condiciones de completa oscuridad, dicho protocolo consiste en una reducción progresiva del fotoperiodo durante más de dos meses o 1650 h. Por su parte, Parra-Riofrío et al. (2020) mejoraron dicho protocolo reduciendo las horas necesarias para adaptar a esta especie a condiciones de completa oscuridad a

1080 h y demostraron que el cultivo heterotrófico de *T. suecica* es superior en crecimiento al cultivo fotoautotrófico. Por ende, la baja densidad celular de nuestro tratamiento heterotrófico podría deberse a que las células probablemente no se adaptaron óptimamente a las condiciones de oscuridad debido a la corta duración de nuestro periodo de adaptación (1 mes o 672 h).

En general, considerando todos los parámetros de crecimiento evaluados, atribuimos la superioridad del cultivo mixotrófico a su capacidad de suministrar simultáneamente carbono inorgánico y orgánico, así como a la combinación de energía lumínica y química que este modo de cultivo provee. Adicional a los objetivos de esta investigación, se pudo determinar la concentración óptima de bicarbonato de sodio para promover el crecimiento de *T. suecica*, mediante ensayos preliminares realizados antes del proceso experimental, cuya dosis se estableció en 0.6 g/L (Anexo 3).

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes en el cultivo de microalgas, ya que influye en la tasa de crecimiento, el tamaño celular, la composición bioquímica y en la demanda de nutrientes (Chowdury et al., 2020). *T. suecica* ha demostrado crecer de manera óptima en temperaturas ambientales de 25 y 30° C, por lo que se puede indicar que es una microalga de hábitat euritérmico (Sas et al., 2021). En esta investigación, el análisis estadístico indicó que el tratamiento control fue significativamente diferente a los demás tratamientos. Sin embargo, todos los tratamientos se mantuvieron en rangos estables de 22 y 23 °C con variaciones menores a 1°C durante todo el periodo de experimentación (Figura 6). Además, el análisis de Pearson demostró correlaciones muy bajas entre los parámetros fisicoquímicos (pH y temperatura) y los parámetros de crecimiento (figura 7). Lo que sugiere que las diferencias significativas de crecimiento no podrían ser atribuidas a las variaciones de temperatura o pH.

El pH es un parámetro físico de gran importancia en los cultivos de microalgas, ya que, determina la solubilidad de minerales y CO<sub>2</sub> (Qiu et al., 2017), altera la biomasa y el rendimiento lipídico (Brindhadevi et al., 2021) y afecta a la composición bioquímica de las microalgas (Jabir et al., 2021). Al igual que en este estudio, Zhang et al. (2020) utilizaron glucosa y bicarbonato en su cultivo mixotrófico de *C. vulgaris* e informaron que el pH del medio osciló entre 8.0 a 10.7 unidades. Nuestros resultados sobre la dinámica del pH demostraron que el cultivo con bicarbonato (fotoautotrófico) tuvo un medio alcalino. En contraste, los cultivos con glucosa (fotoheterotrófico y heterotrófico) se acidificaron ligeramente. El cultivo mixotrófico que combinó bicarbonato y glucosa tuvo un pH ligeramente alcalino y su dinámica fue muy estable durante todo el periodo de experimentación (Tabla 3). Este efecto tampón en el pH del medio mixotrófico puede atribuirse al uso de bicarbonato como fuente de carbono inorgánico que además presenta otras ventajas para el cultivo como aumentar la utilización del carbono y una alta solubilidad en el medio (Yang et al., 2024).

## VI. CONCLUSIONES

- La densidad celular de *T. suecica* fue mayor en el tratamiento mixotrófico ( $3.63 \times 10^6$  cél/mL) y fotoheterotrófico ( $3.17 \times 10^6$  cél/mL) ( $p<0.05$ ). Seguido de los tratamientos fotoautotrófico ( $2.33 \times 10^6$  cél/mL), control ( $1.58 \times 10^6$  cél/mL) y heterotrófico ( $1.43 \times 10^6$  cél/mL).
- La biomasa de *T. suecica* alcanzó su valor más alto en el tratamiento mixotrófico (2.38 g/L) y fotoheterotrófico (2.21 g/L) ( $p<0.05$ ). Seguido de los tratamientos heterotrófico (1.24 g/L), fotoautotrófico (0.95 g/L) y control (0.94 g/L).
- La tasa de crecimiento específica ( $\mu$ ) de *T. suecica* resultó mayor en el tratamiento mixotrófico (0.198) y fotoheterotrófico (0.185) ( $p<0.05$ ). Seguido de los tratamientos fotoautotrófico (0.154), control (0.115) y heterotrófico (0.105).
- La tasa de duplicación celular ( $k$ ) de *T. suecica* resultó mayor en el tratamiento mixotrófico (0.286) y fotoheterotrófico (0.267) ( $p<0.05$ ). Seguido de los tratamientos fotoautotrófico (0.222), control (0.165) y heterotrófico (0.151).
- La productividad ( $P$ ) de *T. suecica* resultó mayor en el tratamiento mixotrófico (0.313) y fotoheterotrófico (0.267) ( $p<0.05$ ). Seguido de los tratamientos fotoautotrófico (0.183), control (0.108) y heterotrófico (0.093).
- La mixotrofia fue el modo de cultivo que mayor crecimiento promovió para todos los parámetros medidos siendo superior a todos los demás tratamientos.

## VII. RECOMENDACIONES

- Prolongar y estandarizar la fase de adaptación heterotrófica según el protocolo recomendado para *T. suecica*.
- Investigar los mecanismos moleculares que permiten el mayor crecimiento de los cultivos mixotróficos (reutilización del CO<sub>2</sub>, sinergia del metabolismo energético y sinergia del metabolismo del carbono).

### VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Tawwab, M., Khalil, R. H., Abdel-Razek, N., Younis, N. A., Shady, S. H. H., Monier, M. N., & Abdel-Latif, H. M. R. (2024). Dietary effects of microalga *Tetraselmis suecica* on growth, antioxidant-immune activity, inflammation cytokines, and resistance of Nile tilapia fingerlings to *Aeromonas sobria* infection. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 108(2), 511–526. <https://doi.org/10.1111/jpn.13911>
- Abreu, A. P., Moraes, R. C., Teixeira, J. A., & Nunes, J. (2022). A comparison between microalgal autotrophic growth and metabolite accumulation with heterotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic cultivation modes. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 159). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112247>
- Al-Jaryan, S. K., Abd Al-Rezzaq, A. J., & Al-Amari, M. J. Y. (2024). Using algae and brine shrimp as food chain model for bioaccumulation and biomagnification of lead and cadmium. *Journal of Applied and Natural Science*, 16(2), 558–562. <https://doi.org/10.31018/jans.v16i2.5367>
- Azma, M., Mohamad, R., Rahim, R. A., & Ariff, A. B. (2010). Improved Protocol for the Preparation of *Tetraselmis suecica* Axenic Culture and Adaptation to Heterotrophic Cultivation. In *The Open Biotechnology Journal* (Vol. 4).
- Babiak, W., & Krzemińska, I. (2021). Extracellular polymeric substances (EPS) as microalgal bioproducts: A review of factors affecting EPS synthesis and application in flocculation processes. In *Energies* (Vol. 14, Issue 13). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/en14134007>
- Bazdar, E., Roshandel, R., Yaghmaei, S., & Mardanpour, M. M. (2018). The effect of different light intensities and light/dark regimes on the performance of photosynthetic microalgae microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 261, 350–360. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.026>
- Benemann, J. R., Woertz, I., & Lundquist, T. (2018). Autotrophic microalgae biomass production: From niche markets to commodities. In *Industrial Biotechnology* (Vol. 14, Issue 1, pp. 3–10). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ind.2018.29118.jrb>
- Bhatnagar, A., Bhatnagar, M., Chinnasamy, S., & Das, K. C. (2010). *Chlorella minutissima*—A Promising Fuel Alga for Cultivation in Municipal Wastewaters. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161(1–8), 523–536. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8771-0>
- Brindhadevi, K., Mathimani, T., Rene, E. R., Shanmugam, S., Chi, N. T. L., & Pugazhendhi, A. (2021). Impact of cultivation conditions on the biomass and lipid in microalgae with an emphasis on biodiesel. *Fuel*, 284, 119058. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119058>
- Cao, Y., Yang, S., Wang, J., Kong, W., Guo, B., Xi, Y., Zhang, A., & Yue, B. (2023). Metabolomic exploration of the physiological regulatory mechanism of the growth and metabolism characteristics of *Chlorella vulgaris* under photoautotrophic, mixotrophic, and heterotrophic cultivation conditions. *Biomass and Bioenergy*, 173. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2023.106775>
- Cecchin, M., Benfatto, S., Griggio, F., Mori, A., Cazzaniga, S., Vitulo, N., Delle Donne, M., & Ballottari, M. (2018). Molecular basis of autotrophic vs mixotrophic growth in *Chlorella sorokiniana*. *Scientific Reports*, 8(1), 6465. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24979-8>
- Chan, C. P., Ni, H. Z., Pannerchelvan, S., Halim, M., Tan, J. S., Kasan, N. A., & Mohamed, M. S. (2025). Optimization of trace metal composition utilizing Taguchi

- orthogonal array enhances biomass and superoxide dismutase production in *Tetraselmis chuii* under mixotrophic condition: implications for antioxidant formulations. *International Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s10123-025-00672-5>
- Chowdury, K. H., Nahar, N., & Deb, U. K. (2020). The Growth Factors Involved in Microalgae Cultivation for Biofuel Production: A Review. *Computational Water, Energy, and Environmental Engineering*, 09(04), 185–215. <https://doi.org/10.4236/cweee.2020.94012>
- Dang, N. M., Kim, G., & Lee, K. (2022). Mixotrophic Cultivation of Marine Alga *Tetraselmis* sp. Using Glycerol and Its Effects on the Characteristics of Produced Biodiesel. *Applied Chemistry for Engineering*, 33(2), 222–228. <https://doi.org/10.14478/ace.2022.1010>
- Dragone, G. (2022). Challenges and opportunities to increase economic feasibility and sustainability of mixotrophic cultivation of green microalgae of the genus *Chlorella*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 160. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112284>
- Gao, P., Guo, L., Zhao, Y., Jin, C., She, Z., & Gao, M. (2021). Enhancing microalgae growth and product accumulation with carbon source regulation: New perspective for the coordination between photosynthesis and aerobic respiration. *Chemosphere*, 278. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130435>
- Gim, G. H., Kim, J. K., Kim, H. S., Kathiravan, M. N., Yang, H., Jeong, S.-H., & Kim, S. W. (2014). Comparison of biomass production and total lipid content of freshwater green microalgae cultivated under various culture conditions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(2), 99–106. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-0920-8>
- Gong, G., Liu, L., Wu, B., Li, J., He, M., & Hu, G. (2024). Simultaneous production of algal biomass and lipid by heterotrophic cultivation of linoleic acid-rich oleaginous microalga *Chlorella sorokiniana* using high acetate dosage. *Bioresource Technology*, 399. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.130566>
- Guzmán, F., Wong, G., Román, T., Cárdenas, C., Alvárez, C., Schmitt, P., Albericio, F., & Rojas, V. (2019). Identification of Antimicrobial Peptides from the Microalgae *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher and Bactericidal Activity Improvement. *Marine Drugs*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/MD17080453>
- Huang, H., Lang, Y., & Zhou, M. (2024). A comprehensive review on medical applications of microalgae. In *Algal Research* (Vol. 80). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103504>
- Ijaola, A. O., Akamo, D. O., George, T. T., Sengul, A., Adediji, M. Y., & Asmatulu, E. (2024). Algae as a potential source of protein: A review on cultivation, harvesting, extraction, and applications. *Algal Research*, 77. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103329>
- IMARPE. (2022). *Anuario Científico Tecnológico IMARPE 2021*. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/6589>
- Ismail, M. M., & Zokm, G. M. E. (2025). Algae as keystone for blue economy: sustainability and challenges. In *Discover Sustainability* (Vol. 6, Issue 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/s43621-024-00746-w>
- Jabir, T. F., Noor Abbood, H. A., Salman, F. S., & Hafit, A. Y. (2021). Influence of pH, pesticide and radiation interactions on the chemical composition of *Chlorella vulgaris* algae. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 722(1), 012046. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/722/1/012046>

- Kurniawan, S. B., Čížková, M., Ahmad, A., Wibowo, Y. G., Said, N. S. M., Jusoh, H. H. W., Ismail, A., & Imron, M. F. (2025). Autotrophic vs. heterotrophic microalgae: Juxtaposition of performances in treating organic-rich effluent. *Desalination and Water Treatment*, 322, 101159. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2025.101159>
- Lari, Z., Abrishamchi, P., Ahmadzadeh, H., & Soltani, N. (2019). Differential carbon partitioning and fatty acid composition in mixotrophic and autotrophic cultures of a new marine isolate *Tetraselmis* sp. KY114885. *Journal of Applied Phycology*, 31(1), 201–210. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1549-4>
- Liu, X., Duan, S., Li, A., Xu, N., Cai, Z., & Hu, Z. (2009). Effects of organic carbon sources on growth, photosynthesis, and respiration of *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of Applied Phycology*, 21(2), 239–246. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9355-z>
- Liu, Y., Zhou, J., Liu, D., Zeng, Y., Tang, S., Han, Y., Jiang, Y., & Cai, Z. (2022). A growth-boosting synergistic mechanism of *Chromochloris zofingiensis* under mixotrophy. *Algal Research*, 66. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102812>
- Maroneze, M. M., Montenegro-Herrera, C. A., & Martinez, A. (2025). Enhancing cell growth and phycocyanin production in heterotrophic and mixotrophic cultures of *Galdieria sulphuraria* through modulation of the C/N ratio and organic carbon sources. *Algal Research*, 89, 104086. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104086>
- Mehariya, S., Annamalai, S. N., Thaher, M. I., Quadir, M. A., Khan, S., Rahmanpoor, A., Abdurahman kashem, Faisal, M., Sayadi, S., Al Hawari, A., Al-Jabri, H., & Das, P. (2024). A comprehensive review on versatile microalga *Tetraselmis*: Potentials applications in wastewater remediation and bulk chemical production. *Journal of Environmental Management*, 365. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121520>
- Muñoz-Marín, M. del C., López-Lozano, A., Moreno-Cabezuelo, J. Á., Díez, J., & García-Fernández, J. M. (2024). Mixotrophy in cyanobacteria. In *Current Opinion in Microbiology* (Vol. 78). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102432>
- Naciones Unidas. (2018). *La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe*. [www.issuu.com/publicacionescepal/stacks](http://www.issuu.com/publicacionescepal/stacks)
- Nguyen, L. N., Aditya, L., Vu, H. P., Johir, A. H., Bennar, L., Ralph, P., Hoang, N. B., Zdarta, J., & Nghiem, L. D. (2022). Nutrient Removal by Algae-Based Wastewater Treatment. *Current Pollution Reports*, 8(4), 369–383. <https://doi.org/10.1007/s40726-022-00230-x>
- Nicodemou, A., Kallis, M., Agapiou, A., Markidou, A., & Koutinas, M. (2022). The Effect of Trophic Modes on Biomass and Lipid Production of Five Microalgal Strains. *Water (Switzerland)*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/w14020240>
- Ogbonna, K. E., Ogbonna, J. C., Njoku, O. U., Yamada, K., & Suzuki, I. (2024). Effect of organic carbon sources on growth, lipid production and fatty acid profile in mixotrophic culture of *Scenedesmus dimorphus* (Turpin) Kützing. *The Microbe*, 3, 100064. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100064>
- Parra-Riofrío, G., García-Márquez, J., Casas-Arrojo, V., Uribe-Tapia, E., & Abdala-Díaz, R. T. (2020). Antioxidant and Cytotoxic Effects on Tumor Cells of Exopolysaccharides from *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher Grown Under Autotrophic and Heterotrophic Conditions. *Marine Drugs*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/MD18110534>
- Patel, A. K., Singhania, R. R., Dong, C. Di, Obulisami, P. K., & Sim, S. J. (2021). Mixotrophic biorefinery: A promising algal platform for sustainable biofuels and high value coproducts. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111669>

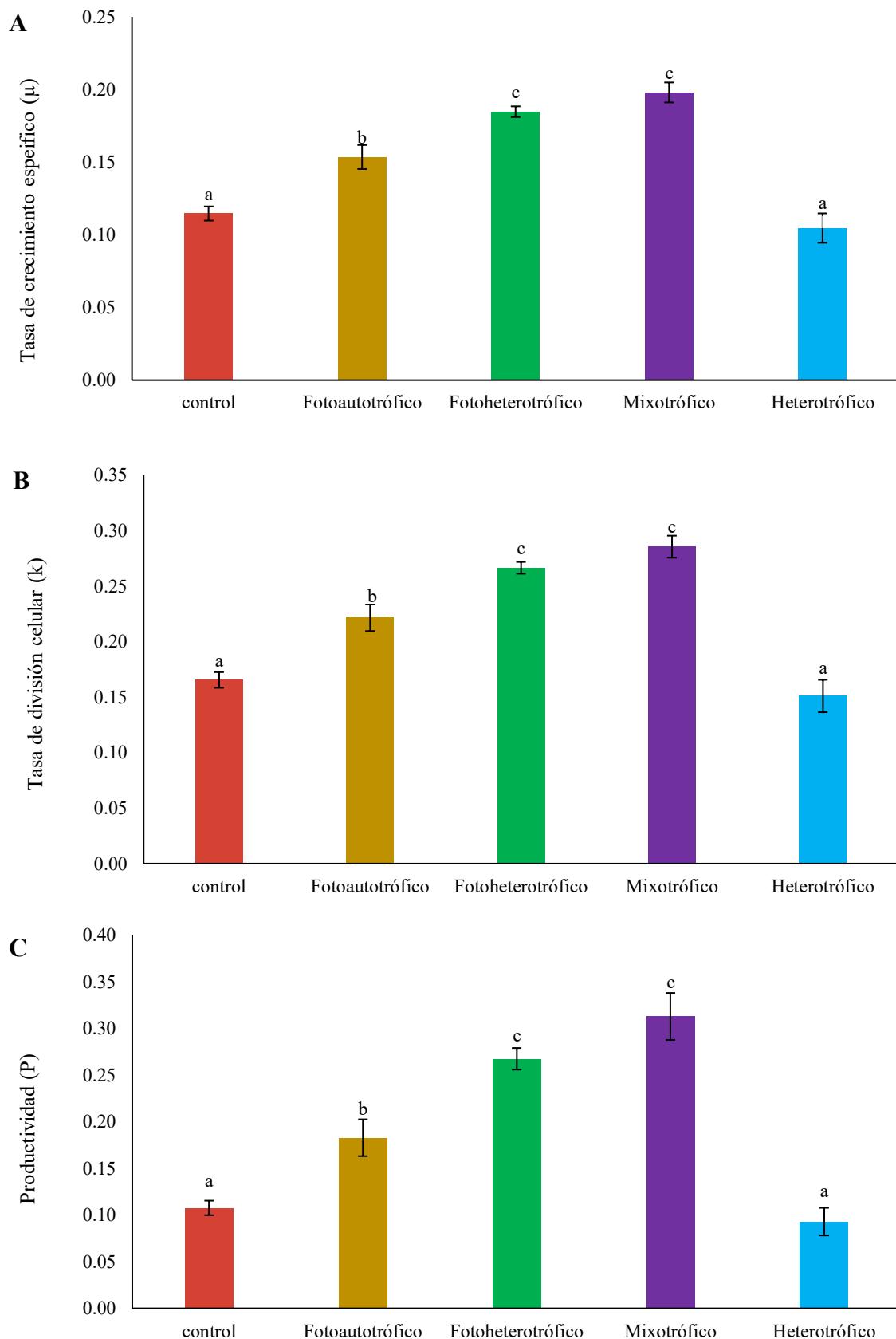
- Penhaul Smith, J. K., Hughes, A. D., McEvoy, L., Thornton, B., & Day, J. G. (2021). The carbon partitioning of glucose and DIC in mixotrophic, heterotrophic and photoautotrophic cultures of *Tetraselmis suecica*. *Biotechnology Letters*, 43(3), 729–743. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-03073-y>
- Proietti Tocca, G., Agostino, V., Menin, B., Tommasi, T., Fino, D., & Di Caprio, F. (2024). Mixotrophic and heterotrophic growth of microalgae using acetate from different production processes. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 23(1), 93–132. <https://doi.org/10.1007/s11157-024-09682-7>
- Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO<sub>2</sub> addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 28, 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>
- Rengarajan, S., Narayanan, M., & Ma, Y. (2024). A comprehensive review of current progress in biofuel production using marine algae biomass. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 60. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103311>
- Reyimu, Z., & Özçimen, D. (2017). Batch cultivation of marine microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica* in treated municipal wastewater toward bioethanol production. *Journal of Cleaner Production*, 150, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.189>
- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., & Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>
- Ruiz, J., Wijffels, R. H., Dominguez, M., & Barbosa, M. J. (2022). Heterotrophic vs autotrophic production of microalgae: Bringing some light into the everlasting cost controversy. *Algal Research*, 64. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102698>
- Sajadian, S., Morowvat, M., & Ghasemi, Y. (2018). Investigation of autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic modes of cultivation on lipid and biomass production in *Chlorella vulgaris*. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 8(5), 1. <https://doi.org/10.5455/njPPP.2018.8.0935625122017>
- Sarma, S., Sharma, S., Rudakiya, D., Upadhyay, J., Rathod, V., Patel, A., & Narra, M. (2021). Valorization of microalgae biomass into bioproducts promoting circular bioeconomy: a holistic approach of bioremediation and biorefinery. In *3 Biotech* (Vol. 11, Issue 8). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02911-8>
- Sas, A. A., Turki, A. J., Affan, A., Al-Taisan, W. A., Das, S. K., Su, S. N., & Cob, Z. C. (2021). The influence of temperature and nutrient concentrations on growth rate, biomass, Chlorophyll-a, and biochemical compositions of *Tetraselmis suecica* (Chlorophyta). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 880(1), 012014. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/880/1/012014>
- Shan, S., Manyakhin, A. Y., Wang, C., Ge, B., Han, J., Zhang, X., Zhou, C., Yan, X., Ruan, R., & Cheng, P. (2023). Mixotrophy, a more promising culture mode: Multi-faceted elaboration of carbon and energy metabolism mechanisms to optimize microalgae culture. In *Bioresource Technology* (Vol. 386). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129512>
- Sharawy, Z. Z., Ashour, M., Abbas, E., Ashry, O., Helal, M., Nazmi, H., Kelany, M., Kamel, A., Hassaan, M., Rossi, W., El-Haroun, E., & Goda, A. (2020). Effects of dietary marine microalgae, *Tetraselmis suecica*, on production, gene expression, protein markers and bacterial count of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 51(6), 2216–2228. <https://doi.org/10.1111/are.14566>

- Silkina, A., Gayo-Peláez, J. I., Fernandes, F., Fuentes-Grünewald, C., Kapoore, R. V., & Tang, K. W. (2025). From waste to wealth: coupling different nutritional modes of *Scenedesmus obliquus* for waste remediation and algal product development. *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03438-0>
- Stegemüller, L., Valverde-Pérez, B., Thygesen, A., & Angelidaki, I. (2024). Synergistic effects of heterotrophic and phototrophic metabolism for *Haematococcus lacustris* grown under mixotrophic conditions. *Journal of Applied Phycology*, 36(6), 3175–3186. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03322-x>
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X., & Zhong, J. (2011). CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels. *Bioresource Technology*, 102(3), 3071–3076. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.047>
- Teo, C. L., Atta, M., Bukhari, A., Taisir, M., Yusuf, A. M., & Idris, A. (2014). Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths. *Bioresource Technology*, 162, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.113>
- Vidotti, A. D. S., Riaño-Pachón, D. M., Mattiello, L., Giraldi, L. A., Winck, F. V., & Franco, T. T. (2020). Analysis of autotrophic, mixotrophic and heterotrophic phenotypes in the microalgae *Chlorella vulgaris* using time-resolved proteomics and transcriptomics approaches. *Algal Research*, 51. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102060>
- Villanova, V., & Spetea, C. (2021). Mixotrophy in diatoms: Molecular mechanism and industrial potential. *Physiologia Plantarum*, 173(2), 603–611. <https://doi.org/10.1111/ppl.13471>
- Wang, J., Yang, H., & Wang, F. (2014). Mixotrophic Cultivation of Microalgae for Biodiesel Production: Status and Prospects. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(7), 3307–3329. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0729-1>
- Wibisono, Y., Nugroho, W. A., Devianto, L. A., Sulianto, A. A., & Bilad, M. R. (2019). Microalgae in food-energy-water nexus: A review on progress of forward osmosis applications. In *Membranes* (Vol. 9, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/membranes9120166>
- Yang, Y., Tang, S., & Chen, J. P. (2024). Carbon capture and utilization by algae with high concentration CO<sub>2</sub> or bicarbonate as carbon source. *Science of The Total Environment*, 918, 170325. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170325>
- Yeesang, C., & Cheirsilp, B. (2014). Low-Cost Production of Green Microalga *Botryococcus braunii* Biomass with High Lipid Content Through Mixotrophic and Photoautotrophic Cultivation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174(1), 116–129. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1041-9>
- Ynga, G., & Niño, A. (2019). Manual para producción de microalgas marinas en el instituto del mar del Perú. *Imarpe*, 46(1), 13.
- Zhang, Z., Gao, P., Guo, L., Wang, Y., She, Z., Gao, M., Zhao, Y., Jin, C., & Wang, G. (2020). Elucidating temperature on mixotrophic cultivation of a *Chlorella vulgaris* strain: Different carbon source application and enzyme activity revelation. *Bioresource Technology*, 314, 123721. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123721>

## IX. ANEXOS

Anexo 1. Densidad celular de los cultivos de *T. suecica* cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

Día	Densidad celular (x10 <sup>6</sup> cél/mL)				
	Control	Fotoautotrófico	Fotoheterotrófico	Mixotrófico	Heterotrófico
0	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00
1	0.50 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.54 ± 0.02	0.62 ± 0.08
2	0.68 ± 0.08	0.81 ± 0.06	0.84 ± 0.02	0.90 ± 0.05	0.71 ± 0.08
3	0.82 ± 0.11	1.01 ± 0.10	1.12 ± 0.03	1.11 ± 0.04	0.70 ± 0.11
4	0.98 ± 0.06	1.16 ± 0.10	1.77 ± 0.11	2.00 ± 0.10	0.70 ± 0.13
5	1.02 ± 0.03	1.19 ± 0.13	2.06 ± 0.02	2.25 ± 0.19	0.72 ± 0.10
6	1.17 ± 0.11	1.60 ± 0.07	2.50 ± 0.09	2.64 ± 0.18	0.95 ± 0.11
7	1.17 ± 0.05	1.65 ± 0.07	2.58 ± 0.02	3.21 ± 0.14	1.12 ± 0.19
8	1.23 ± 0.05	1.59 ± 0.02	2.76 ± 0.16	2.99 ± 0.12	1.06 ± 0.03
9	1.21 ± 0.15	1.75 ± 0.13	2.88 ± 0.14	3.17 ± 0.14	1.12 ± 0.15
10	1.58 ± 0.08	2.33 ± 0.20	3.17 ± 0.12	3.63 ± 0.25	1.43 ± 0.15



Anexo 2. Media y desviación estándar de la tasa de crecimiento específico (A), tiempo de duplicación (B) y productividad (C) de *T. suecica* cultivada en condiciones fotoautotróficas, fotoheterotróficas, heterotróficas y mixotróficas.

Anexo 3. Densidad celular de *T. suecica* cultivada con diferentes concentraciones de bicarbonato de sodio.

Día	Densidad celular (x10 <sup>6</sup> cél/mL)			
	0.3 g/L	0.6 g/L	1.2 g/L	2.4 g/L
0	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00
1	0.52 ± 0.01	0.51 ± 0.05	0.57 ± 0.01	0.50 ± 0.01
2	0.55 ± 0.08	0.53 ± 0.10	0.60 ± 0.02	0.51 ± 0.05
3	0.60 ± 0.11	0.87 ± 0.04	0.88 ± 0.03	0.50 ± 0.04
4	0.84 ± 0.10	1.01 ± 0.12	1.19 ± 0.16	0.50 ± 0.03
5	1.01 ± 0.03	1.57 ± 0.04	1.46. ± 0.08	0.51 ± 0.10
6	1.27 ± 0.08	1.96 ± 0.08	1.63 ± 0.03	0.49 ± 0.11
7	1.54 ± 0.14	2.32 ± 0.10	1.87 ± 0.09	0.51 ± 0.07
8	1.98 ± 0.05	2.55 ± 0.07	2.00 ± 0.12	0.51 ± 0.06
9	2.14 ± 0.09	2.88 ± 0.16	2.11 ± 0.06	0.52 ± 0.08
10	2.15 ± 0.12	3.09 ± 0.05	2.23 ± 0.07	0.53 ± 0.02