



**Pontificia Universidad
Católica del Ecuador**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
SEDE MANABÍ
CARRERA DE BIOLOGÍA**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Crecimiento de la microalga marina *Thalassiosira fluviatilis* cultivada
en medios fertilizados con un producto comercial y uno experimental

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
MANEJO SOSTENIBLE DE RECURSOS**

**SUBLÍNEA DE INVESTIGACIÓN
ACUICULTURA**

**PREVIO AL TÍTULO DE
BIÓLOGO**

**AUTOR:
ANDRÉ SEBASTIAN PATIÑO FERRIN**

**TUTOR:
GABRIEL MODESTO DURÁN COBO, M. SC.**

MANTA – MANABÍ - ECUADOR

DICIEMBRE, 2024

Certificación

En mi calidad de tutor del trabajo de integración curricular, certifico haber revisado el presente manuscrito de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí, cumpliendo los requisitos establecidos por la Dirección de Investigación; en consecuencia, es apto para su presentación y sustentación.

Gabriel Modesto Durán Cobo, *M. Sc*

Director del trabajo de titulación

CI: 0928838143

Aprobación del tribunal

El jurado examinador, aprueba el presente manuscrito de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí.

Kruger Iván Loor Santana, *M. Sc.*

Primer Lector

Francisco Pozo Miranda, *M. Sc.*

Segundo Lector

Gabriel Modesto Durán Cobo, *M. Sc.*

Tercer Lector

Manta, diciembre 2024

Declaración de originalidad

Este manuscrito no contiene ningún tipo de material que ha sido aceptado para la obtención de un título universitario en otra institución, excepto en forma de información de soporte que ha sido debidamente citada en mi trabajo. Este trabajo es de total responsabilidad de autor, quien declara bajo juramento que ninguna sección de este trabajo de integración curricular infringe los derechos de autor de nadie.

André Sebastian Patiño Ferrín

CI: 0803023407

Teléfono: 0984494581

sebastian-patino@hotmail.com

Declaración de derechos de autor

Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a distribuir este manuscrito de investigación en medios físicos y electrónicos con el fin de promover la divulgación de mis resultados a la comunidad científica y a la sociedad en general. Adicionalmente autorizo el uso de los contenidos de esta investigación como bibliografía para fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, citando como fuente de información al autor de este trabajo.

André Sebastian Patiño Ferrín

CI: 0803023407

Dedicatoria

Primeramente, gracias a Dios por brindarme salud y sabiduría, permitiéndome alcanzar esta meta. Este logro también me lo dedico a mí mismo, reconociendo el esfuerzo y la determinación que puse en alcanzar mi objetivo de convertirme en Biólogo. Dedico este triunfo a mis padres, hermanos, abuelos, tíos, demás familiares y amigos, cuyo apoyo incondicional fue fundamental para la culminación de esta etapa.

Agradecimiento

Agradezco primeramente a Dios por haberme dado la fortaleza para terminar mi carrera universitaria, agradezco a mis padres, abuelos, tíos y demás familiares por brindarme su apoyo incondicional en cada etapa para lograr esta meta.

Gracias a mis padres Ángel Patiño y Karina Ferrín, a mis abuelos, Hilario Patiño, Colombia Gonzales y Rita Guagua por su incondicional apoyo, cariño y consejos. Ustedes han sido mi inspiración de esfuerzo, perseverancia y dedicación de luchar por nuestras metas.

Gracias a mi tutor M. Sc Gabriel Durán Cobo quien me ayudo a culminar mi trabajo de titulación, también agradezco a mis profesores M. Sc Francisco Pozo Miranda, M. Sc Iván Loor Santana y M. Sc Evelin Arias Cedeño quienes fueron parte de cada una de las etapas de aprendizaje a lo largo de mi carrera universitaria.

Resumen

El presente estudio experimental evaluó el crecimiento de *Thalassiosira fluviatilis* con un fertilizante comercial (AGP complex) y una formulación experimental con el objetivo de determinar la densidad celular, tasa específica de crecimiento (TEC) y la relación costo – beneficio. El cultivo se realizó en un periodo de 6 días en una sala adecuada con iluminación y aireación las 24 horas, las algas se inocularon en recipientes de 20.0 L y el medio fue fertilizado con el producto AGP COMPLEX (TC) como control y la formulación experimental con dosificaciones de 10.0 g/L (T1), 20.0 g/L (T2) y 30.0 g/L (T3) más una dilución stock (30.0g/L) de metasilicato, cada tratamiento consistió en tres replicas. Las densidades celulares de los cuatro tratamientos no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$), pero se encontró una densidad ($9.33E+05$ cels/ml) mayor en TC, seguido por T2 ($6.21E+05$ cels/ml) que mostro una curva de crecimiento mayor a T1 y T3 ($4.99E+05$ cels/ml y $4.46E+05$ cels/ml). Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la tasa específica, el medio AGP COMPLEX tiene una mejor velocidad de crecimiento, T2 de la formulación experimental mostro una tasa específica significativamente mayor a los tratamientos T1 y T3 que no mostraron diferencias significativas entre sí. Finalmente, la relación costo – benéfico demostró que T2 logra producir una alta densidad a un costo relativamente bajo demostrando que es una alternativa económicamente viable para una producción masiva de *Thalassiosira fluviatili*.

Palabras clave: Thalassiosira fluviatilis, densidad celular, tasa específica de crecimiento, cultivo estático, metasilicato.

ABSTRACT:

This experimental study evaluated the growth of the marine microalga *Thalassiosira fluviatilis* under a commercial fertilizer and an experimental formulation by comparing cell density, specific growth rate (SGR), and cost-benefit ratio. The culture was conducted over a 6-day period in a controlled environment with 24-hour lighting and aeration, using 20.0 L cylindrical plastic containers. The AGP COMPLEX (TC) was used as a control treatment following the manufacturer's instructions, and the experimental formulation was applied at rates of 10.0 g/L (T1), 20.0 g/L (T2), and 30.0 g/L (T3), along with a 30.0 g/L stock solution of metasilicate, each treatment with three replicates. Although the densities reached were 9.33×10^5 cells/mL in TC, 6.21×10^5 cells/mL in T2, 4.99×10^5 cells/mL in T1, and 4.46×10^5 cells/mL in T3, there were no significant differences ($p > 0.05$). In contrast, the SGR showed significant differences ($p \leq 0.05$), with TC being different from all others, and T2 being different from T1 and T3. The latter were not significantly different ($p > 0.05$) from each other. The cost-benefit analysis indicated that T2 produced a high density at a lower cost than TC, proving to be a viable economic alternative for the mass production of *Thalassiosira fluviatilis*.

Keywords: AGP COMPLEX, experimental formulation, cell density, Thalassiosira fluviatilis, specific growth rate.

TABLA DE CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN.....	14
2 METODOLOGÍA.....	17
2.1 Área de experimentación.....	17
2.2 Diseño experimental.....	17
2.3 Formulación de los fertilizantes	18
2.3.1 Experimental	18
2.3.2 Comercial Epicore AGP Complex.....	19
2.4 Variables físico - químicos.....	19
2.4.1 Iluminación.....	19
2.4.2 Temperatura.....	19
2.4.3 Salinidad.....	20
2.4.4 pH.....	20
2.5 Parámetros de crecimiento.....	20
2.5.1 Densidad celular.....	20
2.5.3 Tasa específica de crecimiento.....	20
2.6 Análisis estadístico.....	21
2.7 Análisis costo – beneficio.....	21
2.7.1 Costo del fertilizante.....	21
2.7.2 Relación costo - beneficio.....	21
3 RESULTADOS.....	23
3.1 Parámetros físicos - químicos.....	23
3.2 Densidad celular.....	23
3.3 Tasa específica de crecimiento	26
3.4 Análisis costo - beneficio	27

3.4.1 Costo de la dosificación ml para cada tratamiento.....	27
3.4.2 Relación costo – beneficio	28
4 DISCUSIÓN	30
5 CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN.....	34
BIBLIOGRAFIA.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Tabla 1:

Dosificación para desinfección del agua.....17

Tabla 2:

Dosificación para fertilizar y cantidad de inóculo para el cultivo de *Thalassiosira fluviatilis*.....18

Tabla 3:

Composición del fertilizante experimental.....19

Tabla 4:

Valores promedio de los registros diarios de temperatura (°C) y pH de las unidades de experimentación del estudio23

Tabla 5:

Densidad celular (cels/mL) de *Thalassiosira fluviatilis* en T1, T2, T3 y TC24

Figura 1:

Curvas de crecimiento celular presentada por *Thalassiosira fluviatilis* en los tratamientos de experimentación (T1, T2, T3) y control (TC).....25

Tabla 6:

Análisis ANOVA para las densidades celulares de T1, T2, T3 y TC, los valores indican que no existe diferencias significativas ($\alpha > 0.05$) entre los tratamientos25

Tabla 7:

Tasa específica de crecimiento en los tratamientos T1, T2, T3 y TC.....26

Tabla 8:

Análisis ANOVA para tasa específica de crecimiento de T1, T2, T3 y TC.....26

Tabla 9:

Test de Tukey para tasa específica de crecimiento de T1, T2, T3 y TC.....27

Tabla 10:

Costo y presentación de los insumos empleados.....27

Tabla 11:

Costo de las soluciones de trabajo28

Tabla 12:

Análisis de Costos, beneficios y proyección a 300 L29

1. INTRODUCCIÓN

Las microalgas marinas cumplen un rol esencial en los ecosistemas acuáticos, contribuyendo significativamente a la producción de oxígeno y formando la base de la cadena alimentaria. Su capacidad para efectuar fotosíntesis y su adaptabilidad a diversos ambientes las tornan en organismos de interés para la indagación biológica y aplicaciones industriales (González et al., 2021).

Thalassiosira fluviatilis es una alga diatomea cuya pared celular delgada está compuesta principalmente de sílice, presenta una lámina perforada por orificios de aproximadamente 250 Å de diámetro, dispuestos de manera ortogonal. En los extremos de su célula, de forma similar a un barril, se localizan poros marginales y centrales formados por un cilindro externo de 0.25 µm de diámetro y 1 µm de longitud, dispuesto coaxialmente con un cilindro interno más pequeño y corto. La válvula que conecta estos poros es una lámina perforada reforzada por nervaduras radiales o transversales, lo que proporciona resistencia estructural (Ross, 1968). Ha emergido como una de las microalgas de interés en la acuicultura debido a sus particularidades morfológicas distintivas y capacidad para prosperar en diversos entornos marinos, es la especie preferida por los larvicultores debido a su destacada composición de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), que no pueden ser sintetizadas por las larvas de peces y crustáceos explotados por la acuicultura (Aznay, 2006). En la actualidad se ha optado por sustituir por otras dietas a las microalgas, pero la producción acuícola sigue dependiente de su uso en sus fases de cultivo larval (Rendón Castrillón et al., 2015)

La producción abarca desde estrategias para enriquecer el agua de mar natural hasta la aplicación de medios artificiales. La elección adecuada de un medio químico representa el primer paso y más crucial para un cultivo exitoso, de lo cual dependen de una variedad de factores físicos químicos y nutritivos para su desarrollo, entre los que destacan la luz, temperatura, salinidad, pH y CO². Es fundamental considerar los macronutrientes utilizados

en la síntesis de compuestos orgánicos, así como los micronutrientes, que actúan como catalizadores contribuyendo a su crecimiento, el número de células se limitara cuando la cantidad de células se encuentren cercanas al nivel crítico de crecimiento (López-Elías et al., 2009). Estos medios de cultivos cumplen un papel esencial en la optimización de condiciones de cultivo, afectando directamente el crecimiento, reproducción y calidad de microalgas producidas (McGahan et al., 2022), siendo elementos como la temperatura y la salinidad reguladores clave en estos procesos (FAO Fisheries & Aquaculture, s. f.)

Zafra (2017) determinó que la mayor densidad de *Thalassiosira pseudonana* se logra en salinidades que alcanzan los 35 ppm, alcanzándose este resultado a los cinco días de iniciado el cultivo, además, señaló que el crecimiento de las microalgas tiene lugar durante el periodo de luz, mientras que la división celular ocurre en la fase de oscuridad.

Domínguez et al. (2020) destaca que los fotobiorreactores son una de las estrategias útiles para alcanzar una acelerada producción, a fin de maximizar su disponibilidad.

El uso de un medio de cultivo elaborado con fertilizantes líquidos resulta en velocidades de crecimiento celular muy satisfactorio, altas tasas de productividad y, además, se destaca por ser más fácil de preparar en comparación con otros medios disponibles (Montoya Vallejo & Acosta Cárdenas, 2021) Por su parte, Piña (2007) destaca que “el fitoplancton generado mediante el uso de fertilizantes agrícolas resulta adecuado para nutrir larvas de camarón. Es decir, son particularmente beneficiosos al trabajar con grandes volúmenes de biomasa en entornos externos, son económicamente viables y contienen, en su formulación, tanto macronutrientes como micronutrientes y vitaminas esenciales para el desarrollo de las microalgas (Silva-Benavides, 2016).

Diversos estudios sugieren que compuestos químicos como la urea y el sulfato de amonio pueden emplearse como alternativas efectivas en entornos de producción, logrando una notable reducción en los costos económicos en comparación con el medio Guillard f/2, es

el más común empleado en laboratorios, pero su costo varía en función de la calidad de los productos químicos utilizados lo que hace elevar los valores de producción (Piña, 2007).

Dicho esto, se ha visualizado un creciente interés en la aplicación de productos comerciales y experimentales como fertilizantes para optimizar la productividad de *Thalassiosira fluviatilis* en cultivos controlados. Por lo anterior, se llevó acabo el presente estudio con el propósito de evaluar que fertilizante está condicionando los parámetros de crecimiento en el cultivo de la microalga marina *T fluviatilis*.

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de experimentación

El experimento se realizó en la PUCEM Sede Manabí Campus Bahía en un periodo de 6 días. Se adecuo una sala con iluminación las 24h mediante lámpara fluorescentes de 1500 lux, los recipientes con capacidad de 20.0L estuvieron adaptados a un sistema de aireación constante alimentado por compresores de acuario.

El inóculo de *Thalassiosira fluviatilis* para este experimento fue adquirido en carboys del laboratorio JC Larvas ubicado en el sector Punta Blanca, Jaramijó (Manabí).

El agua de mar a 25 g/L procedía del laboratorio de larvas de camarón DUZALARV cercano al campus universitario. Previo al ensayo fue desinfectada por la adición de hipoclorito de sodio al 2.8% (1.0 ml/L) por 24h en la que se mantuvo con aireación constante, posterior a esto se agregó tiosulfato de sodio al 24,8% (0,5 ml/L) una hora antes de la siembra para eliminar cualquiera rastro de cloro (tabla 1).

Tabla 1.

Dosificación para desinfección del agua

Solución	Dosificación
Hipoclorito de sodio 2,8%	1.0 ml /L
Tiosulfato de sodio 24.8%	0.5 ml/L

2.2 Diseño experimental

Se llevó a cabo un experimento unifactorial de bloques al azar en recipientes plásticos de 20.0 L, que consistió en cuatro tratamientos con tres réplicas cada uno, tratamientos C (control, 0,25 ml/L con AGP Complete), T1 (10.0 g/L de fertilizante experimental), T2 (20.0 g/L de fertilizante experimental) y T3 (30.0 gr/L de fertilizante experimental), cada uno fue disuelto en 1.0 L de agua destilada de lo cual se aplicó 1ml/L por cada solución para nutrir el

agua. Adicionalmente, se añadió 1ml/L de una solución stock de metasilicato (30.0 g/L en 1.0 L de agua destilada) a cada medio experimental. Finalmente, se agregaron 250.0 ml/L de inóculo de la microalga *Thalassiosira fluviatilis* a los 12 recipientes, con una densidad celular inicial promedio de 245.784 cels/ml (tabla 2).

Tabla 2.

Dosificación para fertilizar y cantidad de inóculo para
el cultivo de *Thalassiosira fluviatilis*

Tratamiento	Dosis de fertilizante	Dosificación de Metasilicato	Inóculo	Capacidad	Réplicas
T1	Fertilizante experimental 10g	30 g	250 ml/L	20L	3
T2	Fertilizante experimental 20g	30 g	250 ml/L	20L	3
T3	Fertilizante experimental 30g	30 g	250 ml/L	20L	3
TC CONTROL	AGP <i>Complex</i> 0.25ml/L	--	250 ml/L	20L	3

Nota: Para T1, T2 y T3, se aplicó un total de 40 ml para fertilizar los 20 litros de agua (20 ml de Fertilizante experimental, y 20 ml solución *Stock* de metasilicato).

2.3 Formulación de los fertilizantes:

2.3.1 Fertilizante Experimental

El fertilizante experimental, de origen comercial (formulado para agricultura), se presenta en forma de polvo color naranja, con el perfil de nutrientes (tabla 3) mostrados a continuación:

Tabla 3.

Composición del fertilizante experimental

Nutriente	Porcentaje
Nitrógeno (como N total)	25.0%
Fosforo (como P ₂ O ₅)	16.0%
Potasio (como K ₂ O)	12.0%
Boro (como B)	0.044%
Cobalto (como Co)	0.010%
Cobre (como Cu)	0.085%
Hierro (como Fe)	0.180%
Manganeso (como Mn)	0.085%
Molibdeno (como Mo)	0.001%
Zinc (como Zn)	0.030%

2.3.2 Fertilizante *Epicore* AGP COMPLEX

Este es un fertilizante comercializado para la producción acuícola de algas marinas. Se presenta en forma líquida, compuesto por nitrato de amonio, EDTA, extractos microbianos, úrea, fosfato de potasio, cloruro de hierro, de magnesio, de manganeso, de zinc, de cobre, y de cobalto, tetraborato de sodio y vitaminas B12 y H, en proporciones no declaradas en la etiqueta de su envase, ni en su ficha técnica.

2.4 Variables fisicoquímicas

2.4.1 Iluminación: Se midió al inicio del cultivo con un luxómetro digital (MT-30), tiene que estar dentro de un rango de 1000-3000 Lux.

2.4.2 Temperatura: Se midió introduciendo diariamente el termómetro digital (Hanna, HI9812, de -5.0 a 60.0°C ±0.5°C) en el agua de cada uno de los tratamientos.

2.4.3 Salinidad: Se tomó una muestra de agua con una pipeta y se midió con la ayuda de un refractómetro (SR0014-ATC, de 0-100%).

2.4.4 pH: Se midió diariamente introduciendo el potenciómetro (Hanna, Modelo HI98128, de 0.00 a 14.00 ± 0.05) en el agua de cada uno de los tratamientos.

2.5 Parámetros de crecimiento

2.5.1 Densidad celular

La densidad celular se determinó diariamente en los cuatro tratamientos mediante un microscopio óptico utilizando un hematocitómetro o cámara de Neubauer. Se tomaron muestras de 2 a 3 ml del cultivo y se fijó con una gota de lugol, se procedió a colocar la muestra en la cámara de Neubauer y fue revisada bajo el microscopio. Se procedió al conteo en los cuadrantes y los datos fueron aplicados en la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\sum \text{Cel. C}}{4} \times 10000, \text{ donde:}$$

N = Número de células

$\sum \text{Cel. C}$ = Suma de las células de los cuadrantes

4 = Número de cuadrantes contados

Los datos obtenidos permitieron evaluar los parámetros poblacionales como lo es la tasa específica de crecimiento.

2.5.3 Tasa específica de crecimiento

Al finalizar los días de cultivo, se determinó la tasa específica de crecimiento empleando la siguiente fórmula:

$$\mu = \frac{\ln(N2) - \ln(N1)}{t2 - t1}, \text{ donde:}$$

μ = Tasa específica de crecimiento

N1 = número de células al tiempo inicial

N2 = número de células al tiempo final

t1- t2 = días transcurridos desde el inicio hasta la finalización del estudio.

2.6 Análisis estadístico

La Densidad y la tasa específica de crecimiento fueron registrados en una hoja electrónica para realizar gráficos de seguimiento a lo largo de los días de cultivo. A estos datos se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para verificar si los datos presentaban distribución normal. Posteriormente, fueron evaluados mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía con nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y la prueba de contrastes de Tukey.

2.7 Análisis costo-beneficio

Se calcularon los costos de las dosificaciones aplicadas en cada tratamiento, determinando cuál presentó mejor relación costo – beneficio, aplicando los siguientes cálculos:

2.7.1 Costo del fertilizante por dosificación a cada tratamiento

Se calculó empleando la ecuación de Costo de dosificación del fertilizante (CD), expresado en dólares americanos:

$$CD = \frac{PF}{1L} \times DT, \text{ donde:}$$

CD = Costo de dosificación

PF = precio del fertilizante (en dólares americanos)

$1L$ = volumen del fertilizante (envasada en 1L)

DT = dosificación de tratamiento (en litros)

2.7.2 Relación costo – beneficio (CB)

Para el cálculo de células totales en las unidades de experimentación se empleó la siguiente ecuación:

$$CT = B1 \times 20L, \text{ donde:}$$

CT = Células totales en 20L

$B1$ = Densidad celular determinada en cada una de las unidades experimentales.

$$PC = B1 \times 300L$$

PC = Proyección celular a 300 L

Se calculó el rendimiento cels/\$ a partir de la división del número de células totales en cada tratamiento sobre el costo de su dosificación.

$$CB = \frac{CF}{CD}$$

CB = Relación costo beneficio

CF = densidad celular final cels/ml (de cada tratamiento)

CD = costo de dosificación

3. RESULTADOS

3.1 Parámetros fisicoquímicos

La tabla 4 presenta los valores promedio de las variables fisicoquímicas promediadas de los valores determinados en cada una de las réplicas de los tratamientos de estudio. El pH osciló entre 7.37 y 8.02; la salinidad permaneció constante (25.0 g/L), al igual que la iluminación (1556 lux); la temperatura presentó valores que oscilaron entre 28.30 y 31.50 °C.

Tabla 4.

Valores promedio de los registros diarios de temperatura (°C) y pH de las unidades de experimentación del estudio.

Día	T1		T2		T3		TC	
	pH	T °C	pH	T °C	pH	T °C	pH	T °C
0	7.61	28.3	7.53	28.5	7.54	28.4	7.58	28.5
1	7.50	30.4	7.58	30.6	7.52	30.5	7.53	30.5
2	7.37	30.5	7.61	30.6	7.34	30.4	7.67	30.5
3	7.45	30.0	7.64	30.3	7.41	30.0	7.76	30.1
4	7.74	30.3	7.88	30.4	7.68	30.2	7.80	30.4
5	7.86	31.7	7.94	31.8	7.90	31.5	7.91	31.7
6	7.91	31.4	7.95	31.3	7.93	31.3	8.02	31.4
Máximo	7.91	31.70	7.95	31.80	7.93	31.50	8.02	31.70
Mínimo	7.37	28.30	7.53	28.50	7.34	28.40	7.53	28.50
Promedio	7.63	30.37	7.73	30.50	7.62	30.33	7.75	30.44

3.2 Densidad celular

Los valores promedio de densidad celular (cels/mL) determinados en cada tratamiento son presentados en la tabla 5. Los cuatro tratamientos presentaron una fase de retardo en las primeras 48 horas debido al proceso de adaptación que sufren las células al ser inoculadas en un

cultivo nuevo, a partir del segundo día se observó la fase de crecimiento exponencial evidenciando el aumento progresivo de las densidades. A partir del cuarto día los tratamientos T1, T2 y T3 disminuyeron su crecimiento celular, T2 mantuvo una mayor densidad celular, al quinto día se observó que los tratamientos experimentales llegaron a su fase estacionaria. Sin embargo, el tratamiento TC obtuvo una densidad final de 933.000 cels/mL mayor a la densidad final de T1 498.750 cels/mL, T2 621.000 cels/mL y T3 446.250 cels/mL.

Tabla 5.

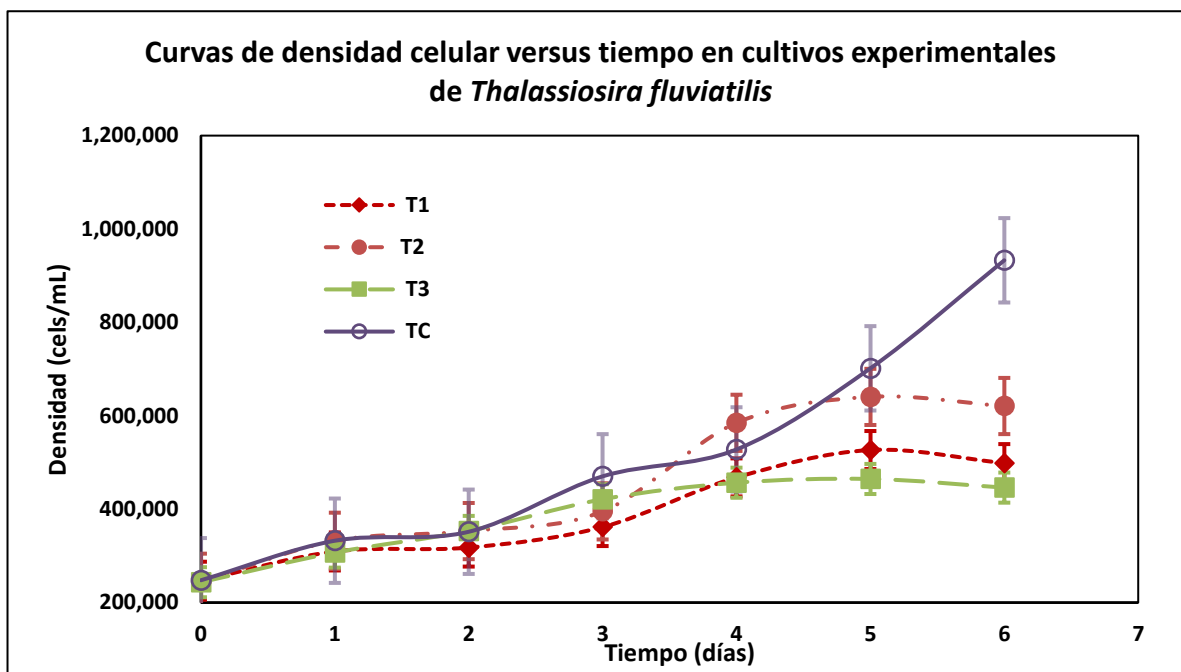
Densidad celular (cels/mL) de *Thalassiosira fluviatilis* en T1, T2, T3 y TC

Días	Tratamientos			
	T1	T2	T3	TC
0	246.900	244.667	243.667	247.900
1	309.533	332.367	307.167	332.567
2	317.900	353.167	353.500	351.733
3	361.833	395.400	421.333	470.400
4	468.100	585.000	456.750	528.000
5	526.750	640.500	464.750	701.700
6	498.750	621.000	446.250	933.000

Con estos datos se realizó un diagrama de dispersión con líneas suavizadas (figura 1) que mostró las diferencias en crecimiento entre los tratamientos y el grupo control al sexto día.

Figura 1.

Curvas de crecimiento celular presentada por *Thalassiosira fluviatilis* en los tratamientos de experimentación (T1, T2, T3) y control (TC).



La prueba de *Shapiro Wilks* aplicada a los datos de densidad celular de las réplicas de cada tratamiento determinaron que presentaban distribución normal ($p \geq 0,05$), procediendo entonces con el análisis de varianza (tabla 6), a través del que se determinó que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$).

Tabla 6.

Análisis ANOVA para las densidades celulares de T1, T2, T3 y TC, los valores indican que no existe diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos.

Densidad celular	Suma de cuadrados	g. l.	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7.29×10^{10}	3	2.43×10^{10}	0.96	0.428
Dentro de grupos	6.07×10^{11}	24	2.53×10^{10}		
Total	6.80×10^{11}	27			

3.3 Tasa específica de crecimiento

La tabla 7 presenta las Tasas específicas de crecimiento (TEC), calculadas a partir de las densidades celulares de las réplicas de cada tratamiento de cultivo de *Thalassiosira fluviatilis* al inicio y al final del bioensayo. Las TEC más bajas fueron observadas en los tratamientos T1 y T3 y la más altas en el tratamiento TC, y las TEC del tratamiento T2 intermedias.

Tabla 7.

Tasa específica de crecimiento en los tratamientos T1. T2. T3 y TC.

Réplicas	TRATAMIENTOS			
	T1	T2	T3	TC
1	0.117	0.155	0.110	0.226
2	0.106	0.145	0.101	0.225
3	0.104	0.136	0.093	0.221
Promedio	0.109	0.145	0.101	0.224
Desviación media	0.007	0.010	0.009	0.003

La prueba de *Shapiro Wilks* determinó que estos datos presentaban distribución normal ($p \geq 0.05$), comprobando con el ANOVA (tabla 8) que las diferencias observadas eran estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 8.

Análisis ANOVA para tasa específica de crecimiento de T1. T2. T3 y TC.

TEC	Suma de cuadrados	g. l.	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Entre grupos</i>	0.028	3	0.009	172.754	0,000
<i>Dentro de grupos</i>	0.000	8	0.000		
<i>Total</i>	0.029	11			

Tras la aplicación del ANOVA, la prueba de comparaciones múltiples Tukey (tabla 9) concluyó que las diferencias entre las TEC de TC frente a T1, T2 y T3, y entre las del grupo

T2 frente a los grupos T1 y T3 eran significativas; mas no entre los grupos T1 y T2.

Tabla 9.

Test de Tukey para tasa especifica de crecimiento de T1, T2, T3 y TC.

Tratamientos	N	Subconjunto para $\alpha = 0.05$		
		1	2	3
TC	3			0.224
T1	3	0.109		
T2	3		0.145	
T3	3	0.101		

Nota: Los tratamientos de la misma columna no muestran diferencias significativas

3.4 Análisis costo - beneficio

3.4.1 Costo del fertilizante por dosificación a cada tratamiento

La tabla 10 y 11 representa el precio y el cálculo de los costos de cada tratamiento de acuerdo a las dosificaciones aplicada para la evaluación de las unidades de cultivo.

Tabla 10.

Costo y presentación de los insumos empleados

Insumos	Tipo de Presentación	Precios (\$)	Contenido (gr o ml)
Fertilizante experimental	Sólido	5.50	500
Metasilicato	Sólido	4.03	1.000
Agua destilada	Líquido	0.96	1.000
AGP-Complete	Líquido	24.00	1.000

Tabla 11.

Costo de las soluciones de trabajo

Insumos	Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Control	
	Cantidad	Costo	Cantidad	Costo	Cantidad	Costo	Cantidad	Costo
Fertilizante exper	10.0 g	0.11	20.0 g	0.22	30.0 g	0.33	--	--
Metasilicato	30.0 g	0.12	30.0 g	0.12	30.0 g	0.12	--	--
Agua destilada	2.000 ml	1.92	2.000 ml	1.92	2.000 ml	1.92	--	--
AGP-Complete	--	--	--	--	--	--	15.00	0.36
	Total	2.15	Total	2.26	Total	2.37	Total	0.36

3.4.2 Relación costo - beneficio

Al analizar los resultados, se encontró que T2 fue el tratamiento más eficiente, con un costo de \$ 0.14 y una densidad celular final de 1.24×10^{10} céls/ml, superando a T1 que, aunque su costo fue ligeramente más bajo (\$ 0.13), alcanzó una menor densidad celular de 9.98×10^9 céls/ml, de igual manera, T3 con un costo de \$0.14 y densidad celular de 8.9×10^9 cels/ml y TC que con un costo más elevado (\$0.36) alcanzó una densidad final de 1.87×10^{10} cels/ml.

El análisis de la proyección a 300 L (tabla 12) mostró que el T2 sería el tratamiento más eficiente con un rendimiento de 9.16×10^{10} cels/\$; seguido de T1 con 7.73×10^{10} cels/\$; T3 6.27×10^{10} cels/\$ y el menos eficiente TC control que mostró una menor producción celular por dólar invertido (5.18×10^{10} cels/\$).

Tabla 12.

Análisis de Costos, beneficios y proyección a 300 L.

Tratamiento	Alcanzado en 20 L		Fertilización		Proyección a 300 L		Rendimiento (céls/\$)
	Densidad	Población	Aplicada	Costo	Población	Costo	
	(céls/ml)	(céls)	(ml)	(\$)	(céls)	(\$)	
T1	498.750	9.98 x10 ⁹	120.0	0.13	1.50 x10 ¹¹	1.94	7.73x10 ¹⁰
T2	621.000	1.24x10 ¹⁰	120.0	0.14	1.86 x10 ¹¹	2.03	9.16 x10 ¹⁰
T3	446.250	8.93 x10 ⁹	120.0	0.14	1.34 x10 ¹¹	2.13	6.27 x10 ¹⁰
Control	933.000	1.87x10 ¹⁰	15.0	0.36	2.80 x10 ¹¹	5.40	5.18 x10 ¹⁰

4. DISCUSIÓN

Las principales variables que determinan el crecimiento celular en los cultivos de *Thalassiosira fluviatilis* son la temperatura, salinidad, pH, intensidad lumínica, cantidad y disponibilidad de nutrientes en el medio. Según Widianingsih et al. (2013), la temperatura óptima para el crecimiento de algas del género *Thalassiosira* se encuentra entre 27.0 °C y 31.0 °C. La luz desempeña un papel crucial, la intensidad puede llegar a afectar el crecimiento y producción del cultivo (López-Elías et al., 2009). Durante los 6 días de cultivo, la temperatura se mantuvo en un promedio de 30.8 °C y una intensidad lumínica de 1556 lux en todos los medios. Además, en el estudio de Schwenk et al. (2013) informaron que *T. weissflogii* puede desarrollarse en rangos de temperatura de 15.0 a 35.0 °C. Medina (2010) observó que las salinidades entre 25.0 y 35.0 g/L favorecen la tasa de crecimiento alcanzando altas densidades celulares. Además, señaló que un aumento en el rango de salinidad puede afectar la absorción de ciertos nutrientes en especies de este género. En nuestro estudio, la salinidad se mantuvo constante a 25.0 g/L y con el pH entre 7.3 y 8.2, fluctuando dentro de los intervalos óptimo para el crecimiento de *T. fluviatilis* (Tam et al., 2021).

Las algas diatomeas del género *Thalassiosira* tienen un alto nivel nutricional, por sus elevadas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, proteínas y vitaminas, por ello es aplicada como alimento natural para las larvas y postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, contribuyendo a su desarrollo y crecimiento (Jasso et al., 2012).

De acuerdo con Marella & Tiwari (2020), cuando es menor la concentración de nitratos se obtienen menores densidades celulares en *Thalassiosira weissflogii*. Encinas (2023) *T. weissflogii* alcanzó una densidad de 8.00×10^6 cels/ml en seis días en cultivo con diferentes niveles de escalamiento. En el presente estudio, los cultivos fertilizados con AGP COMPLEX (TC) presentaron la mayor densidad en el día sexto, mientras los cultivos con fertilización experimental al quinto día. Pese a esto, las densidades observadas al sexto y último día del

estudio no fueron estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$). De la Rocha et al (2010) indica que las células continúan su crecimiento mientras los nutrientes estén disponibles en cantidades suficientes para permitir la generación de células descendientes, sin embargo, cuando las reservas de nitrógeno y silicio son limitadas, las células hijas reducen su tasa reproductiva, lo cual explicaría la reducción de la densidad poblacional determinada al sexto día en los tratamientos evaluados en este estudio.

El nitrógeno participa directamente en la formación de proteínas y ácidos nucleicos en las células. En medios donde es limitado, los procesos enzimáticos son más lentos, dado que existe una relación directa entre la cantidad de nitrógeno y el crecimiento específico de las células en el cultivo (Lizárraga et al., 2022), para Panta Vélez et al. (2016), el crecimiento de la diatomea *Chaetoceros gracilis* bajo dosificaciones de 10.0 g/L y 5.0 g/L de un fertilizante con 25% de nitrógeno, no mostró diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en las tasas específicas de crecimiento durante nueve días de cultivo. En el presente estudio, el tratamiento T2 mostró un crecimiento específico más alto (0.155 TEC), presentando diferencias significativas a la fertilización con T1 (0.117 TEC) y T3 (0.110 TEC), siendo la fertilización con T2 la mejor alternativa para la producción de *Thalassiosira fluviatilis*.

En T1 y T3, donde se observó menor tasa de crecimiento específico, probablemente porque de acuerdo a la dosificación aplicada existió un desequilibrio de nitrógeno, fósforo y silicio. El nitrógeno es esencial para la síntesis de proteína y ácidos nucleicos, el fósforo para la formación de ATP y el silicio es el nutriente clave para la estructuración de la frustula que protege contra el estrés ambiental y regula los procesos osmóticos del alga. Una fertilización excesiva puede inducir a un desequilibrio redox debido a la acumulación de amoníaco (NH_4) en el medio, generando un estrés osmótico y reduciendo la eficiencia fotosintética. Por lo tanto, los resultados confirman que la dosificación aplicada para T1 y T3 fueron excesiva o deficiente afectaron el metabolismo del alga, provocando una disminución de la tasa de crecimiento

específico (Conover, 1975; Ross, 1968).

En el cultivo de camarón, la alimentación constituye hasta el 60% del costo total de la operación de una granja acuícola (Villón Ibarra, 2019), igualmente en las salas de larvicultura donde se requiere el manejo de cultivos auxiliares de fitoplancton con la finalidad de proveer alimento vivo que contribuya a la estabilidad de la calidad del agua, siendo las microalgas insustituibles durante la larvicultura de *Litopenaeus vannamei* (Gabriel Durán, comunicación personal, 12 de enero de 2024) .

El uso de formulaciones alternativas para la producción celular de algas diatomeas es ampliamente aplicado en la acuicultura. Los medios de cultivo con fertilización basada en Guillar F2 producen densidades celulares superiores a las que se alcanzan con otros medios alternativos (Panta Vélez et al., 2016) sin embargo, el costo de los insumos empleados hace que su uso en cultivos de tanques masivos y de escala intermedia no sea económicamente viable. Ante ello la industria de insumos acuícolas presenta productos alternativos como AGP COMPLEX (TC) que en este estudio produjo una densidad media de 9.33×10^5 cels/ml, superando a los tratamientos experimentales. En el análisis costo – beneficio de los 4 tratamientos evaluados, T2 es el más eficiente económicamente, logrando una alta densidad celular de $1,24 \times 10^{10}$ células en 20.0 L a un costo de \$0.14, con un rendimiento a 300 L de 9.16×10^{10} cels/\$. En comparación, el tratamiento control TC aunque alcanza la mayor densidad celular de 1.87×10^{10} células en 20.0L a un costo de \$0.36, presenta un rendimiento a 300 L menor, con una producción de 5.18×10^{10} cels/\$ por cada dólar invertido. Los medios de cultivo con fertilización basada en Guillar F2 producen densidades celulares superiores a las que se alcanzan con otros medios alternativos (Panta Vélez et al., 2016) sin embargo, el costo de los insumos empleados hace que su uso en cultivos de masivos y de escala intermedia no sea económicamente viable. Esto significa que T2 ofrece una mejor relación costo-beneficio, al lograr producir una alta densidad celular a un costo relativamente bajo para el cultivo de

Thalassiosira fluviatilis.. Estos valores se convierten en ahorros significativos para los larvicultores que llegan a producir diariamente cultivos masivos que alcanzan los 75 metros cúbicos (75.000 litros) en volumen de cultivo de algas (Aquatropicalsa, 2016; Waycott, 2020).

5. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

- Aunque la densidad promedio de los cultivos de *Thalassiora fluviatilis* fertilizados con AGP COMPLEX (TC) fue mayor 9.33×10^5 cels/ml que la de T2 (6.21×10^5 cels/ml), del T1 (4.99×10^5 cels/ml) y del T3 (4.46×10^5 cels/ml), sin embargo no existieron diferencias estadísticamente significativas, por ende el tratamiento con AGP COMPLEX no tiene un efecto superior al de los tratamientos T1, T2 y T3 sobre el crecimiento celular de *T. fluviatilis*.
 - Las diferentes concentraciones de nitrógeno en la formulación de los fertilizantes para los cultivos de los grupos T1, T2, T3 y TC explican que las diferencias entre los valores de las tasas específicas de crecimiento determinados para el grupo TC y los grupos T1, T2 y T3 fueran estadísticamente significativas ($p < 0.05$) al igual que las diferencias entre la tasa específica de crecimiento del grupo T2 y las tasas de los grupos T1 y T3.
 - Pese a que las algas fertilizadas con AGP COMPLEX (TC) alcanzaron la mayor tasa específica de crecimiento, su uso en cultivos intermedios (de 20 a 300 litros) no es recomendable debido a la alta relación costo beneficio presentada.
 - El análisis de la relación costo – beneficio sugiere al tratamiento T2 como el más apropiado para la producción de microalgas en cultivos de escala intermedia (20 – 300 litros), provocando rendimientos hasta 9.16×10^{10} células de microalgas por dólar de fertilización aplicada.
 - Se sugieren estudios adicionales, que corroboren el empleo de la formulación de fertilizantes aplicada al grupo T2 en cultivos masivos incluyendo, análisis del contenido de proteína e impacto en la calidad de agua de los cultivos.
-

BIBLIOGRAFÍA

- Aquatropicalsa. (2016). Algas. Aquatropicalsa. <https://aquatropicalsa.com/algas/>
- Aznay, M. G. (2006). Evaluación del crecimiento de *thalassiosira fluviatilis* frente a diferentes concentraciones de nutriline. Redalyc.org.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612653016>
- Conover, S. A. M. (1975). Partitioning of nitrogen and carbon in cultures of the marine diatom *Thalassiosira fluviatilis* supplied with nitrate, ammonium, or urea. *Marine Biology*, 32(3), 231–246. <https://doi.org/10.1007/BF00399203>
- De La Rocha, C. L., Terbrüggen, A., Völker, C., & Hohn, S. (2010). Response to and recovery from nitrogen and silicon starvation in *Thalassiosira weissflogii*: Growth rates, nutrient uptake and C, Si and N content per cell. *Marine Ecology Progress Series*, 412, 57–68.
<https://doi.org/10.3354/meps08701>
- Domínguez, M., Ruiz, J., & Garrido, C. (2020). Fitorremediación de aguas residuales urbanas de pequeños municipios con microalgas. *Revista Científica ECOCIENCIA*, 7(2), 1-27.
<https://revistas.ecotec.edu.ec/index.php/ecociencia/article/download/347/262/725>
- Encinas, Y. A. (2023). Composición bioquímica de las diatomeas *Phaeodactylum tricornutum* y *Thalassiosira weissflogii* en cultivo estático y semicontinuo.
- FAO Fisheries & Aquaculture. (s. f.).
https://www.fao.org/fishery/publications/query/Thoburnia%20rhothoeca,Torrent%20sucker*,Virginia%20virekarp*
- González, R., Vidal, M., & Pimienta, I. (2021). Microalgas: ecología, repercusión en la salud y nutrición. *Revista Universidad y Sociedad*, 13(3), 297-302.
<https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/download/2481/2436>
<https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/download/2481/2436/>
- Jasso, A. M., Valdez, P. P., Soto, M. N., González, J. F. A., & Ibarra, M. G. (2012). Las
-

microalgas. *Biodiversitas*, 103(La importanciaa de las microalgas), 1–5.

Lizárraga, B., Peraza, L., & Almaraz, M. (2022). Machine Translated by Google de principales nutrientes en cinco niveles de un medio f sobre el crecimiento y la composición proximal de *Thalassiosira weissflogii* y Machine Translated by Google.

López-Elías, J. A., García-Lagunas, N., Jiménez-Gutiérrez, L. R., & Huerta-Aldaz, N. (2009). Crecimiento de la diatomea *thalassiosira pseudonana* en cultivos estáticos con iluminación continua y fotoperiodo a diferentes salinidades. In *BIOtecnia* (Vol. 11, Issue 1, p. 11). <https://doi.org/10.18633/bt.v11i1.48>

López-Elías, J. A., García-Lagunas, N., Jiménez-Gutiérrez, L. R., & Huerta-Aldaz, N. (2009). Crecimiento de la diatomea *Thalassiosira pseudonana* en cultivos estáticos con iluminación continua y fotoperiodo a diferentes salinidades. *BIOtecnia*, 11(1), 11.

Marella, TK & Tiwari, A. (2020). Biorrefinería basada en diatomeas marinas *Thalassiosira weissflogii* para la coproducción de ácido eicosapentaenoico y fucoxantina. *Tecnología de recursos biológicos*, 307: 123245. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123245

McGahan, S., Prieto, R., & Álvarez, S. (2022). Extracción de biopigmentos derivados de un cultivo en fotobiorreactor tipo batch de *Arthrospira platensis*, Gomont 1892 del Paraguay. *South Florida Journal of Development*, 3(2), 2117-2119. <https://ojs.southfloridapublishing.com/ojs/index.php/jdev/article/download/1287/1049/3282>

Montoya Vallejo, C., & 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>

Panta Vélez, R. P., Macay García, A. G., Moncayo Zambrano, E. M., & Vélez Chica, J. C. (2016). Pesca Crecimiento de las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* con fertilizantes agrícolas , en laboratorio microalgae with agricultural fertilizers , in the

laboratory. *Revista La Técnica*, 16, 44–55.

Piña, P. (2007). Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. <https://revistas.uh.cu/rim/article/view/6828>

Rendón Castrillón, L. J., Ramírez Carmona, M. E., & Vélez Salazar, Y. (2015). Microalgas para la industria alimenticia. <https://repository.upb.edu.co/handle/20.500.11912/2306>

Silva-Benavides, A. M. (2016). Evaluación de fertilizantes agrícolas en la productividad de la microalga *Chlorella sorokiniana*. *Agronomía Mesoamericana*, 27(2), 265.

<https://doi.org/10.15517/am.v27i2.24361>

Tam, L. T., Van Cong, N., Thom, L. T., Ha, N. C., Hang, N. T. M., Van Minh, C., Vien, D. T. H., & Hong, D. D. (2021). Cultivation and biomass production of the diatom *Thalassiosira weissflogii* as a live feed for white-leg shrimp in hatcheries and commercial farms in Vietnam. *Journal of Applied Phycology*, 33(3), 1559–1577.

<https://doi.org/10.1007/s10811-021-02371-w>

Ross, J. (1968). *The structure of the diatom Thalassiosira Jltcviatilisl*.

Villón Ibarra, M. del C. (2019). Universidad De Guayaquil Facultad De Odontología. 7–31.

<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/44149>

Waycott, B. (2020). Producir algas puede ser costoso. Las innovaciones apuntan a reducir los costos. Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/advocate/producir-algas-puede-ser-costoso-las-innovaciones-apuntan-a-reducir-los-costos/>

Wikfors, G. H., & Ohno, M. (2001). Impact of algal research in aquaculture. *Journal of Phycology*, 37(6), 968-974. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.01136.x>

Zafra Trelles, A. M. (2017). Cultivo de microalgas marinas potenciales para la acuicultura del litoral entre Puerto Salaverry y Puerto Chicama, La Libertad, Perú. *Arnaldoa*, 24(2), 567–582. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24209>
