

Relación entre las variables fisicoquímicas y la concentración de microalgas en la laguna de Monte Redondo.

Paola Vanessa Guerrón Navarrete

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA EN AMBIENTE Y DESARROLLO

Relación entre las variables fisicoquímicas y la concentración de microalgas en la laguna de Monte Redondo.

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Paola Vanessa Guerrón Navarrete

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2015

Relación entre las variables fisicoquímicas y la concentración de microalgas en la laguna de Monte Redondo.

Presentado por:

Paola Vanessa Guerrón Navarrete

Aprobado:

Victoria Cortés, M.Sc.
Asesora Principal

Laura Suazo, Ph.D.
Directora
Departamento de Ambiente y Desarrollo

Erika Tenorio, M.Sc.
Asesora

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Relación entre las variables fisicoquímicas y la concentración de microalgas en la laguna de Monte Redondo.

Paola Vanessa Guerrón Navarrete

Resumen. Las microalgas son microorganismos fotosintéticos con la habilidad de hacer disponibles los nutrientes o limitar el crecimiento de competidores. En el presente estudio se evaluó la concentración de microalgas presentes en la laguna de Monte Redondo y su relación con diferentes características fisicoquímicas del agua. Se analizó el perfil de calidad de agua en tres zonas a diferentes profundidades, identificando para cada sección las especies mayoritarias de microalgas. Así mismo se determinó la concentración de biomasa presente en términos de concentración de clorofila *a* y las alternativas de aprovechamiento de esta a partir de las especies identificadas en la laguna de Monte Redondo. Los resultados de calidad de agua están dentro de los límites recomendados para acuicultura y el sostenimiento de una población limitada de microalgas, manteniéndose la temperatura en 25-26,8 °C, valores promedio de pH 8,7 mostrando la alcalinidad del medio. Las variables con mayor influencia sobre la concentración de microalgas fueron la temperatura a diferentes profundidades y las zonas de muestreo como consecuencia de las actividades desarrolladas en cada una de ellas, obteniendo diferencias significativas en la concentración de clorofila *a*, con $p < 0,05$. Se encontró la presencia de 62 especies de microalgas, teniendo variación de 35 a 45 especies/géneros de microalgas por zona y siendo los mayoritarios *Chlorella* y *Scenedesmus*, de gran importancia económica en biorremediación, acuicultura, industria química y alimentación tanto humana como animal.

Palabras clave: *Chlorella*, cianobacterias, clorofila *a*, cultivo de tilapia, microorganismos, *Scenedesmus* y biomasa de algas

Abstract. Microalgae are photosynthetic microorganisms with the ability to make nutrients available or limit the growth of competitors. In this study, the concentration of microalgae in the lagoon of Monte Redondo and its relationship with different physicochemical characteristics of water were evaluated. The water quality of the lagoon was analyzed in three zones at different depths, identifying the major species of microalgae for each section. Likewise, the concentration of microalgae present was determined in terms of chlorophyll *a* and alternatives for biomass uses according to the species identified in the Monte Redondo lagoon. The results of water quality is within the recommended range for aquaculture and the maintenance of a limited population of microalgae. The temperature was 25 to 26.8 °C, the pH is mainly alkaline 8.7. The variables that showed greater influence on the concentration of microalgae were the temperature at various depths and the activities performed in each sampling zone, showing significant differences in the concentration of chlorophyll *a*, with $p < 0.05$. A total of 62 species of microalgae were found, with a variation of 35-45 species/genera of microalgae for each zone. *Chlorella* and *Scenedesmus* species were found greater proportion, and those types are considered a very important material for bioremediation, aquaculture, feedstock, nutrition and additional activities with economic revenue.

Key words enzymatic: Algal biomass, *Chlorella*, chlorophyll *a*, cyanobacteria, microorganisms, *Scenedesmus* and tilapia.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
4. CONCLUSIONES.....	25
5. RECOMENDACIONES.....	26
6. LITERATURA CITADA.....	27
7. ANEXOS	31

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Requerimientos principales de los cultivos de microalgas.....	3
2. Métodos de análisis en las muestras compuestas de la Laguna de Monte Redondo, Zamorano, Honduras, 2015.....	8
3. Promedio y desviación estándar para cada parámetro fisicoquímico medido en los tres zonas de la laguna de Monte Redondo de Zamorano, Honduras, 2015.....	11
4. Promedio para cada parámetro fisicoquímico medido en profundidades en tres puntos de la laguna de Monte Redondo de Zamorano, Honduras, 2015.	13
5. Resultado de la regresión múltiple de la concentración de clorofila en relación con variables como el pH, conductividad, temperatura y la zona.	19
6. Géneros mayoritarios de microalgas en las zonas de muestreo de la laguna de Monte Redondo, Zamorano, Honduras 2015.	20
7. Fotografías tomadas con microscopio electrónico de los géneros mayoritarios de microalgas en la laguna de Monte Redondo con su taxonomía y características respectivas.	21
8. Productos y aplicaciones microalgas mayoritarias presentes en la laguna de Monte Redondo, Zamorano.	24
Figuras	Página
1. Representación esquemática de la actividad de algas y bacterias en lagunas facultativas.....	2
2. Mapa del área de estudio en la laguna de Monte Redondo.	5
3. Esquema gráfico de la toma de muestras.	7
4. Relación clorofila (ug/L) con pH a diferentes profundidades en las tres zonas de estudio.....	14
5. Relación clorofila (ug/L) con conductividad eléctrica (us/cm) a diferentes profundidades en las tres zonas de estudio.....	15
6. Relación clorofila (ug/L) con temperatura (°C) a diferentes profundidades en las tres zonas de estudio.....	16

7. Relación de la radiación en KW-h/m ² y la turbidez (cm) con la concentración de clorofila a) a los 0 cm de profundidad y b) a los 50 cm de profundidad, en los días de muestreo en la laguna Monte Redondo, Zamorano.....	18
8. Regresión lineal simple para evaluar la relación entre la profundidad y la concentración de clorofila registrada.....	19

Anexos	Página
--------	--------

1. Presencia de géneros de microalgas en las zonas de muestreo de la laguna de Monte Redondo, Zamorano, Honduras 2015.	31
---	----

1. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son organismos microscópicos unicelulares de tamaño variable entre 1 μm y 200 μm . Existen especies que flotan y permanecen en forma suspendida y otras adheridas sobre una superficie sólida. En general son fotoautótrofos, pero también pueden adoptar un metabolismo fotoheterotrófico, mixotrófico y heterotrófico. Los fotoautótrofos obtienen la energía del sol y el carbono de compuestos inorgánicos. Los fotoheterótrofos obtienen la energía del sol y emplean compuestos orgánicos como fuente de carbono. Los mixotróficos son capaces de crecer bajo procesos tanto autótrofos como heterótrofos, de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica. Los heterótrofos obtienen la energía y la fuente de carbono de los compuestos orgánicos, por lo que pueden desarrollarse bajo ausencia de luz (Richmond 2004).

Los cultivos fototróficos constituyen las modalidades nutricionales fotoautotróficas y mixotróficas, en los que se suministra luz como fuente de energía. Los cultivos de estas especies se realizan en sistemas abiertos o en fotobiorreactores (Lee 2001). Los cultivos heterotróficos incluyen a modalidades nutricionales como quimioheterotróficos y mixotróficos. Estos cultivos se realizan en sistemas cerrados como biorreactores o fermentadores. Este cultivo es económicamente viable a gran escala porque utilizan sustancias de carbono orgánico como su única fuente de energía (Chen y Chen 1996).

Los sistemas de producción de microalgas se clasifican según su configuración y funcionamiento en abiertos y cerrados. Los sistemas abiertos se configuran en aguas superficiales naturales como estanques, lagunas, lagos, y tanques artificiales. En sistemas abiertos es difícil mantener un monocultivo de microalgas ya que para lograrlo se tienen que modificar las condiciones ambientales (nutrientes, salinidad, alcalinidad y temperatura) a valores extremos, lo que es posible solo con cultivo de microalgas extremófilas y así evitar la contaminación biológica o infección por bacterias u otros microorganismos. Otros problemas son el deficiente mezclado, el paso de luz a capas inferiores y la falta de CO_2 . Para controlar estos factores se han creado los fotobiorreactores que son sistemas cerrados utilizados para el cultivo a gran escala de microalgas, debido a que incrementan la relación superficie/volumen, controlan las condiciones climáticas, maximiza la exposición de las microalgas a la luz para así tener la máxima productividad (Dalmas *et al.* 2014).

Los factores que afectan el crecimiento del cultivo de las microalgas son el medio acuoso, los nutrientes, pH, dióxido de carbono, minerales y la luz, presentando diferentes requerimientos dependiendo de la especie. En la fotosíntesis las microalgas producen oxígeno, el cual es utilizado por las bacterias para metabolizar en forma aeróbica los compuestos orgánicos. En este proceso se liberan nutrientes solubles como nitratos, fosfatos

y dióxido de carbono en grandes cantidades (Figura 1), estos productos son utilizados por las microalgas para su crecimiento (Mara 1977).

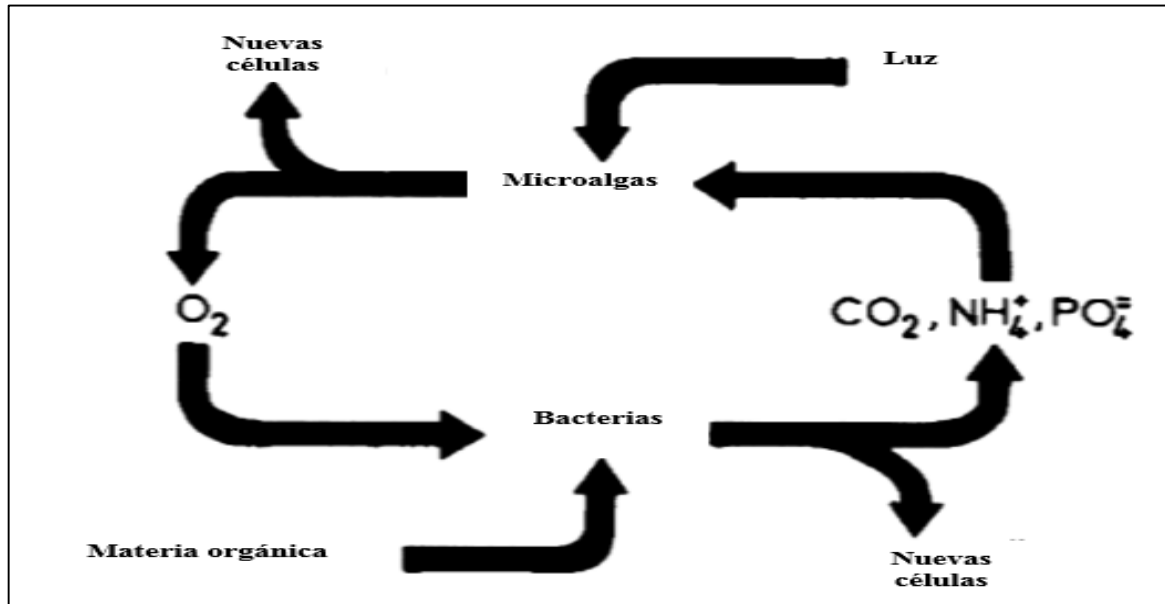


Figura 1. Representación esquemática de la actividad de algas y bacterias en lagunas facultativas.

Fuente: Mara (1977).

El agua es un factor determinante para el cultivo de microalgas ya que representa el medio de transporte para los nutrientes (Carbono, Nitrógeno y Fósforo) necesarios para su metabolismo y reproducción (Lau *et al.* 1995). La luz es el factor de vital influencia en el crecimiento de las microalgas en cultivos fotoautótrofos, se ha demostrado que tienen eficiencias de conversión luz-biomasa entre 1-4% en sistemas abiertos como estanques y aún mayores en fotobiorreactores cerrados (Malgas 2013). En sistemas abiertos en las primeras horas del día los cultivos de microalgas sufren fotoinhibición por la alta intensidad luminíca (Hernández y Labbé 2014).

La temperatura influye en la disociación de las moléculas de carbono, haciéndolo disponible para la fotosíntesis y es proporcional a la producción de microalgas, alcanzando valores óptimos para cada especie, pero en general se estima que el rango apropiado para el desarrollo se encuentra entre 28 y 35 °C (Hernández y Labbé 2014). No obstante, la temperatura puede variar dependiendo del medio del cultivo, la especie y la cepa utilizada. Algunas especies son capaces de desarrollarse en un amplio rango de temperaturas como la *Chlorella* que vive entre 5-42 °C, pero fuera de este su crecimiento se inhibe o mueren (Ruiz 2011).

Con respecto al pH, cada especie necesita un rango determinado que permita un crecimiento óptimo. La mayoría de cultivos de microalgas es de 7-9, siendo 8.2-8.7 el valor óptimo (Ruiz 2011). Un ejemplo de esto es el resultado de estudios con cultivos intensivos de *Spirulina* utilizando en estanques abiertos, donde el pH óptimo para esta especie es de 9.5-10.5

y donde, el medio acuoso se mantiene obligatoriamente con un pH mayor a 9.5 para evitar la contaminación de otras microalgas (Jiménez *et al.* 2003), este factor se eleva al disminuir la concentración de CO₂ por ser asimilado por las microalgas.

Se requieren de macronutrientes (carbono, nitrógeno y el fósforo) y micronutrientes para el crecimiento de microalgas, ya que el déficit de éstos provoca la acumulación de lípidos en las microalgas, siempre que haya luz y CO₂. Las microalgas pueden tomar nitrógeno del medio en forma de urea, amonio (NH₄⁺), nitrato (NO₃⁻), nitrito, nitrógeno gas y óxidos de nitrógeno (NO_x). Y el fósforo en forma de HPO₄²⁻ o HPO₄ pero en menor cantidad que el nitrógeno (Hernández y Labbé 2014) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Requerimientos principales de los cultivos de microalgas.

Parámetros físicoquímicos	Acuicultura	Microalgas		Referencias
		General	Fotobiorreactor	
Temperatura (°C)	25-32	28-35		(Saavedra 2006), (Hernández y Labbé 2014)
		5-42		(Ruíz 2011)
pH	6-9	7-9		(Saavedra 2006), (Ruíz 2011)
		9.5-10.5		(Jiménez <i>et al.</i> 2003).
Conductividad (us/cm)	1968			(Saavedra 2006).
Turbidez (cm)	>20			(Saavedra 2006).
Nitrógeno total (mg/L)			412	(Yuan <i>et al.</i> 2011).
Amonio (mg/L)	0.01-0.1	20-250		(Sagarpa 2006), (Pérez 2009).
		<400		
		<200		
Nitrato (mg/L)	1.5-2			(Sagarpa 2006)
Fósforo total (mg/L)			90	(Yuan <i>et al.</i> 2011)
Fosfato (mg/L)	0.6-1.5	<100		(Sagarpa 2006), (Pérez 2009)

La biomasa de microalgas se puede determinar a partir de recuentos (células/mL), biovolumen (mm³/L), e indirectamente a través de la concentración de clorofila *a* (Vicente *et al.*

2005). La biomasa de microalgas según Pearson *et al.* (1987) debe medirse en términos de clorofila *a* y no en números o recuentos de microalgas. Dada la facilidad de la realización de este método en laboratorio y la precisión en comparación con el método de biovolumen que toma en cuenta el tamaño del microorganismo, siendo este parámetro variable incluso cuando se analizan muestras de la misma especie.

Todas las algas contienen esencialmente la misma proporción de clorofila-a. Sin embargo acorde Hernández y Labbé (2014) el contenido de clorofila puede cambiar conforme varía la luminosidad. Contrariamente, Pearson *et al.* (1987) señala que las posibles diferencias en el contenido de pigmento (clorofila) en una especie o entre ellas causadas por factores ambientales, no resta significancia a la exactitud del método de clorofila *a*, especialmente cuando se compara con las inexactitudes inherentes de métodos alternativos como el análisis de biomasa a través de recuentos celulares.

La Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano no cuenta con antecedentes de investigación sobre el potencial de las microalgas como un recurso. Especies existentes en sitios potenciales para su cultivo, pueden proporcionar información que conduzca a identificar aplicaciones comerciales para obtener productos con valor agregado en los campos de nutrición, salud humana, cosméticos, biofertilizantes, acuicultura, aplicaciones energéticas como para la obtención de biodiesel, biocombustibles como bioetanol, biometano y biohidrógeno entre otros.

Producir un cultivo de microalgas en escala suficiente para responder con las demandas de una piscicultura de pejerrey es posible, siempre que se aporte los nutrientes requeridos para la especie de microalga que se quiera cultivar (Chozo *et al.* 2014). Las tilapias pueden convivir con microalgas, ya que los peces le proporcionan nutrientes a través de sus excretas y las microalgas son una alternativa para mantener la calidad del agua y luego emplearlas en tratamientos de aguas residuales, producción de biocombustibles y producción de alimentos (Baltazar 2015). Se han realizado estudios en el que las microalgas representan una alternativa para la producción de triglicéridos y su conversión a biodiesel, siendo organismos fotosintéticos, que requieren solo de energía solar, agua, CO₂ y algunas sales para producir altos rendimientos de biomasa rica en lípidos. Según Culebro (2015) hay especies como la *Chlorella* que doblan su biomasa en 24 horas y el tiempo de duplicación de biomasa durante la fase exponencial puede ser solo de 3.5 horas (Li *et al.* 2008).

El objetivo del estudio fue determinar la relación entre las variables fisicoquímicas del agua y su influencia sobre la concentración de microalgas presentes en la laguna de Monte Redondo. Con este propósito, se analizó el perfil de calidad de agua de la laguna a diferentes profundidades determinando la concentración de biomasa presente expresada en términos de clorofila *a*. Así mismo se realizó la identificación de las especies mayoritarias de microalgas y las alternativas de aprovechamiento para estas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio. El estudio se realizó en la laguna de Monte Redondo ubicado en la sección de Acuacultura de la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, a 30 km de Tegucigalpa, Honduras. Se encuentra a 800 msnm, posee un clima seco tropical a una temperatura promedio de 24 °C y una precipitación media anual de 1,100 msnm.

El Laguna de Monte Redondo cuenta con área superficial de 12,000 m² y profundidad variable e inferior a dos m en toda su extensión. Actualmente cuenta con tres jaulas grandes, cuatro medianas y siete pequeñas para el engorde de tilapia *Oreochromis mossambicus*.

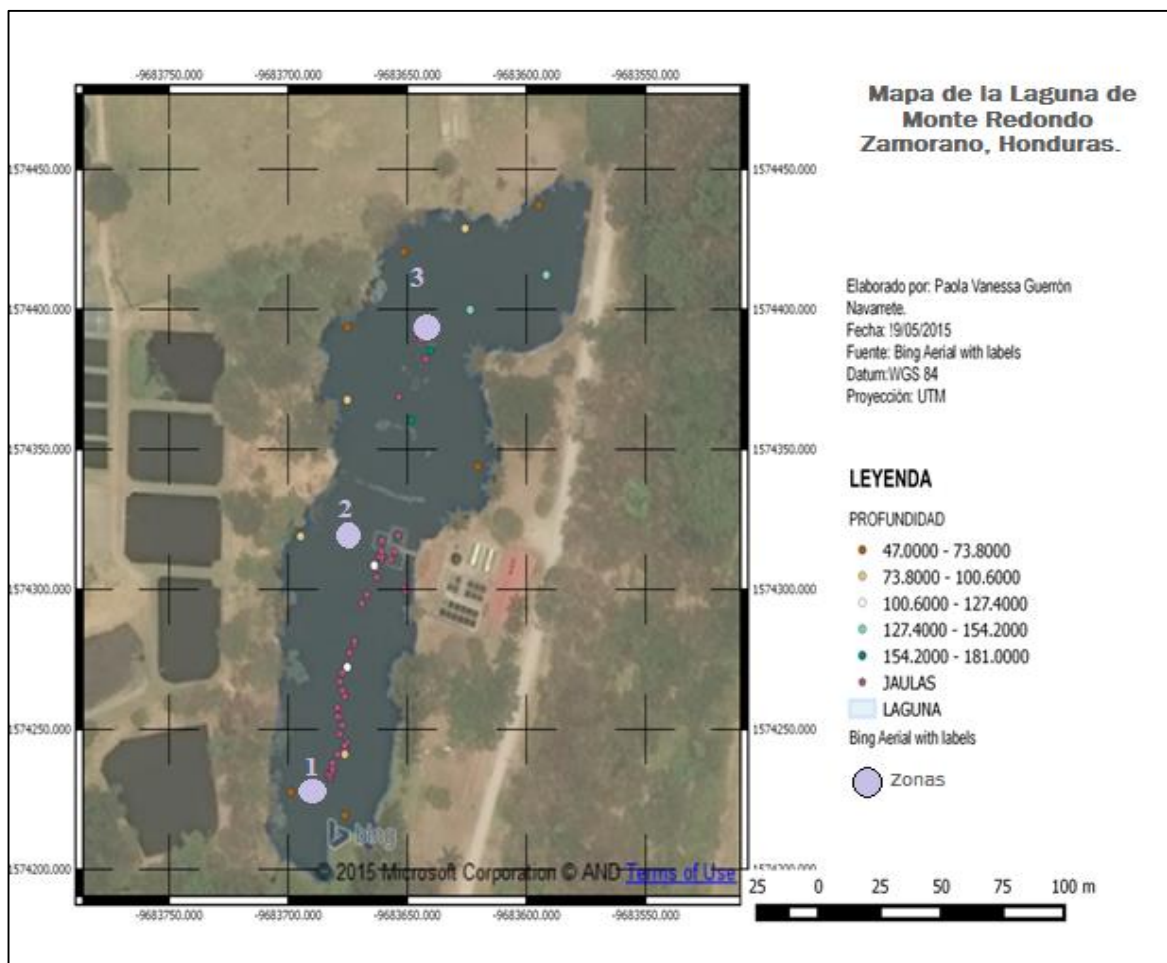


Figura 2. Mapa del área de estudio en la laguna de Monte Redondo.

Recolecta de las muestras. Para el desarrollo de la toma de muestras, la laguna de Monte Redondo fue delimitada en tres zonas seleccionadas conforme a la actividad desarrollada en cada una de ellas (Figura 2). Estas se identifican a continuación:

Zona 1: Entrada de agua a la laguna, sección compuesta mayormente de desechos orgánicos e inorgánicos provenientes de la granja de ordeño (vacas lecheras). La calidad de agua en esta zona será directamente influenciada por las características del influente, además de su poca profundidad (<1 m), en donde no hay movimiento del agua.

Zona 2: Sección central de la laguna en donde se cultiva la tilapia y se caracteriza por la adición de nutrientes en forma de fertilizantes, concentrado y la actividad metabólica propia de los peces.

Zona 3: Antes de la salida al río Yeguaré. Esta área de la laguna es la sección con mayor profundidad.

Se realizaron ocho muestreos entre los meses de junio y julio del 2015, seleccionando el horario de 11:00 am–1:00 pm para la toma de muestras ya que representa el horario con mayor incidencia de radiación solar (Jiménez 2003). En las zonas antes descritas se muestreo a cada 50 cm de profundidad, con el muestreador de profundidades Bomba Sampler. De cada punto se tomaron dos muestras de 500 mL cada una, colocando una muestra en botellas oscuras de plástico y la otra en botellas transparentes de plástico. Las muestras de botellas oscuras se utilizaron en la identificación de microalgas y análisis de clorofila *a*, mientras que las muestras de botellas transparentes, para realizar los análisis fisicoquímicos. Cada muestra fue codificada, incluyendo la fecha, zona y profundidad de la recolección, manteniéndolas en una hielera hasta su traslado al laboratorio.

Para relacionar las comunidades de microalgas con las características fisicoquímicas de las distintas profundidades de la laguna, se registraron los valores de pH, temperatura y conductividad eléctrica con ayuda del Multi-Parameter Test 35 Series y la turbidez con un Disco Secci para cada zona de estudio. Adicionalmente se registraron las coordenadas geográficas de cada sitio de muestreo mediante un GPS Garmin etrex 10. Los datos de radiación en los días de muestreo fueron proporcionados por la estación meteorológica de Zamorano.

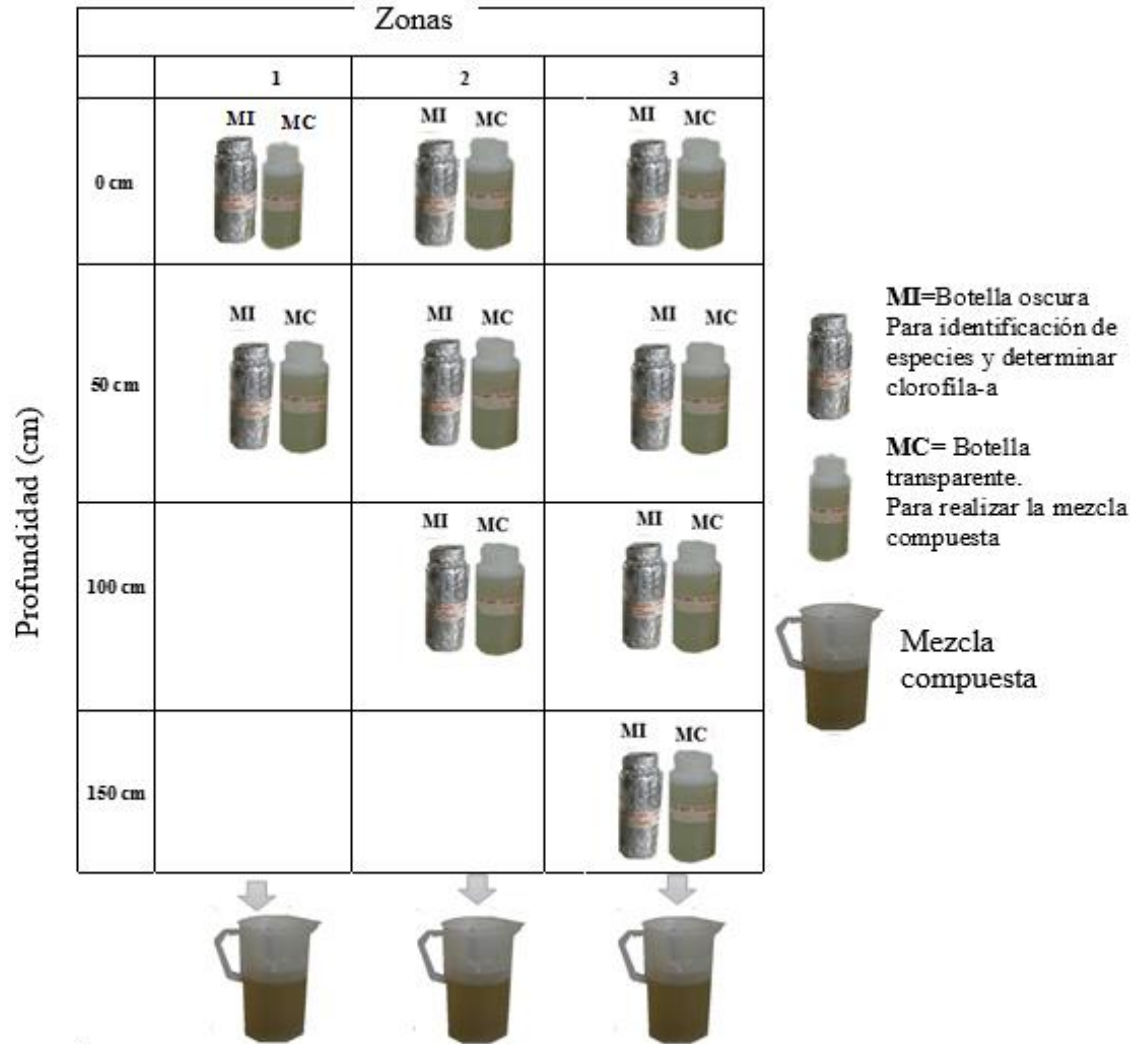


Figura 3. Esquema gráfico de la toma de muestras.

Las muestras en botellas oscuras, tomadas en diferentes profundidades se preservaron a condiciones de refrigeración (4°C) para el posterior ensayo de clorofila *a* e identificación de microalgas. Y las muestras compuestas que son la mezcla homogénea de las muestras de botellas transparentes, de cada zona por día, fue dividida en dos botellas al almacenarlas a 4 °C. Una sin preservación y otra preservada con ácido sulfúrico, según el método 1060-C propuesto por el Standard Methods (APHA, 2005).

Parámetros fisicoquímicos evaluados. Se midieron parámetros fisicoquímicos en las muestras compuestas, respectivamente preservadas (Cuadro2).

Cuadro 2. Métodos de análisis en las muestras compuestas de la Laguna de Monte Redondo, Zamorano, Honduras, 2015.

Parámetro	Método	Unidad	Equipo
Sólidos totales	2540-B -Secado a 103-105 °C	mg/L	Horno
Sólidos volátiles	2540-E- Incineración a 550 °C	mg/L	Mufla
DBO	5-Day DBO test 5210-B	mg/L	Frasco Winkler
DQO	8000 - Rango alto (0-1500 mg/L)	mg/L	Digestor y Espectrofotómetro
Nitrógeno Total	Kjedahl - Digestión de bloque y destilación al vapor	mg/L	Destilador
Nitrógeno amoniacal	4500-NH ₃ -(B y C) Ammonia	mg/L	Destilador
Nitratos	Espectrofotometría UV	mg/L	Espectrofotómetro UV
Fósforo Total	8190-Digestión de ácido persulfato	mg/L	Colorímetro HACH DR/889
Fosfatos (PO ₄₃ -)	8048 -Phosver 3 de ácido ascórbico	mg/L	Colorímetro HACH DR/890

Fuente: Manual de procedimiento HACH DR/890 (2004), Stándar Methods (2005) y FOSS (2003).

Identificación de especies de microalgas. Para la identificación de especies/género, fijando la muestra con lugol:

- Se tomó una alícuota de 10 mL de las muestras de botellas transparentes en un tubo volumétrico.
- Se centrifugó a 8,000 rpm.
- El tubo volumétrico se retira de la centrifuga y se procedió a descartar el sobrenadante.

- Se colocó una gota de la muestra centrifugada en el portaobjetos en forma de frotis.
- Las muestras inmediatamente, se conservaron con 0.7% de yodo de Lugol. Este compuesto actúa como un colorante, ayudando en la identificación de la especie. La preservación de las muestras con éste reactivo, también ayuda en el aumento de la densidad de las células, lo que permite la concentración y la sedimentación de células de las algas (Pearson *et al.* 1987).
- Se esperó un minuto y se botó el exceso.
- Se dejó secar la placa para posteriormente observarla en el microscopio a 100X, añadiéndole antes una gota de aceite de inmersión.

Para la identificación de especie/ género con placas en fresco se colocó una gota de las muestras en botellas oscuras en el portaobjetos y se cubrió cuidadosamente con el cubreobjetos, procediendo a identificar en el microscopio con el lente de 40X. Se tomó una fotografía y seguidamente las especies se identificaron con el atlas y características morfológicas descritas en la literatura.

Cuantificación de Biomasa. La biomasa se estimó determinando la concentración de pigmentos fotosintéticos en una muestra de agua, expresada en términos de concentración de clorofila *a*, componente presente en la mayor parte de microalgas distribuidas a diferentes profundidades. Este parámetro es proporcional a la concentración de biomasa presente en el cuerpo de agua.

Para el análisis de la clorofila *a* se utilizó la técnica de extracto de metanol que se describe en Pearson *et al.* (1987), en donde se requirió de 1% (w/v) suspensión acuosa de MgCO₃, 90% (v/v) de metanol, 25 mm de papel filtro de fibra de vidrio, sistema de filtración compatibles y fuente de vacío, un sencillo espectrofotómetro (663 y 750 nm) y una centrífuga de mesa (Pearson *et al.* 1987).

Se filtraron 2.5 mL de MgCO₃ con un papel filtro de fibra de vidrio de 25 mm. El carbonato de magnesio ayuda a la retención de las microalgas, para prevenir que se desnaturalice la clorofila durante la extracción. Luego se filtró 20 mL de las muestras de botellas transparentes. Éste filtro se colocó en tubos agregándole 10 mL de 90% de metanol. Estos se ponen a hervir a 65 °C por dos minutos, para extraer la clorofila, una vez que los filtros han quedado blancos, se recuperó el extracto a 10 mL de 90% de metanol en los tubos, ya que se evaporaba la muestra al hervirla y se procedió a colocarlos en la centrífuga a 8000 rpm por 10 minutos. Luego se realizó el análisis de clorofila con la muestra centrifugada a través del espectrofotómetro (663 y 750 nm).

Cálculo de concentración para la clorofila *a* se realizó con las siguiente fórmula [1]:

$$Chl a \left(\frac{\mu g}{L} \right) = \frac{OD_{663} - OD_{750}}{77} \times \frac{(Volumen del extracto del solvente, mL)}{(Volumen de muestra original, mL)} \times 10^6 \quad [1]$$

Los resultados son expresados en µg/L clorofila *a*, lo cual quiere decir que es la densidad de la biomasa que se encuentra en la laguna de microalgas, (Pearson *et al.* 1987). Para obtener la biomasa de toda la laguna se utilizó esta fórmula [2].

Biomasa (g): Clorofila a ($\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$) \times Volumen de la laguna (m^3) [2]

Análisis estadísticos. Se realizó mediante el programa Minitab una regresión lineal múltiple para analizar la influencia de variables físicoquímicas y una regresión lineal para analizar solo la influencia de la profundidad en la concentración de microalgas en términos de clorofila a . La variabilidad en los análisis de calidad de agua, se evaluaron mediante el cálculo de promedios y desviaciones estándar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Perfil de calidad de agua.

Análisis de muestras compuestas. Se realizó promedios y desviaciones estándar de los parámetros fisicoquímicos (Cuadro 3) de las muestras compuestas, de los ocho muestreos realizados para cada zona.

Cuadro 3. Promedio y desviación estándar para cada parámetro fisicoquímico medido en los tres zonas de la laguna de Monte Redondo de Zamorano, Honduras, 2015.

Parámetros	Zonas		
	1	2	3
Fósforo total (mg/L)	1.88 ± 0.95	1.96 ± 0.73	1.80 ± 0.60
Fosfatos (mg/L)	1.51 ± 0.42	1.19 ± 0.37	1.39 ± 0.78
Nitratos (mg/L)	0.50 ± 0.12	0.54 ± 0.25	0.55 ± 0.21
Nitrógeno total (mg/L)	0.49 ± 1.19	0.86 ± 1.93	0.68 ± 1.74
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	ND	ND	ND
Sólidos totales (mg/L)	224.86 ± 27.69	239.60 ± 33.81	234.50 ± 36.92
Sólidos volátiles (mg/L)	89.14 ± 21.32	108.86 ± 39.83	88.25 ± 18.63
Turbiedad con Secci (cm)	26.50 ± 5.62	24.36 ± 6.47	24.14 ± 5.19
DQO (mg/L)	42.83 ± 26.88	37.30 ± 8.39	44.20 ± 18.23
DBO 5 (mg/L)	38.96 ± 25.87	26.11 ± 5.87	30.94 ± 12.76

ND: No detectado

Los resultados de parámetros fisicoquímicos muestran que la laguna está dentro de los rangos permisibles para la producción de tilapia. Los fosfatos se encuentran entre 1.19-1.51, es decir dentro del rango óptimo que es 0.6-1.51mg/L (Sagarpa 2006). Estos valores también permiten el desarrollo de microalgas, ya que según Cerón (2015) sus rangos óptimos de fosfatos es de 0.02-2 mg/L, pero existen especies como *C. vulgaris* que soporta fósforo en concentraciones de hasta 100 mg/L de fosfato (Pérez 2009). Y Yuan *et al.* (2011) han alcanzado altas densidades de *Spirulina platensis* cultivada en un fotobiorreactor, con concentraciones 90 mg/L de fósforo en forma de fosfato.

El nitrógeno se encuentra en el agua en forma de amonio o nitratos, el rango límite permitido para el crecimiento de la tilapia en nitratos es de 1.5-2 mg/L y el amonio entre 0.01-0.1mg/L. La laguna tienen valores de nitratos entre 0.50-0.55 mg/L y no tiene presencia de amonio por lo que el nitrógeno no limita la producción de tilapia que se da en la laguna, ni tampoco el crecimiento de las microalgas como *C. vulgaris* que soporta 20-250 mg/L de amonio en el medio y la *Chlorella sorokiniana* no presenta inhibición a 400 mg NH₄ a diferencia de la *Spirulina* que se inhibe en concentraciones de 200 mg NH₄⁺ (Ruíz 2011). Pero según un estudio de Yuan *et al.* (2011) se alcanzado altas densidades de *Spirulina platensis* cultivada en un fotobiorreactor, con concentraciones de 412 mg/L de amonio.

Los sólidos volátiles son proporcionales a la concentración de microalgas. Sin embargo éste valor también se relaciona con los valores de DQO y DBO por tratarse de parámetros indicadores de la materia orgánica presente en la muestra. Los resultados obtenidos para los tres parámetros muestran poca variabilidad en los sitios de muestreo a pesar de las características de cada zona y la profundidad de la laguna. Lo anterior denota la dinámica de mezcla apropiada en la laguna.

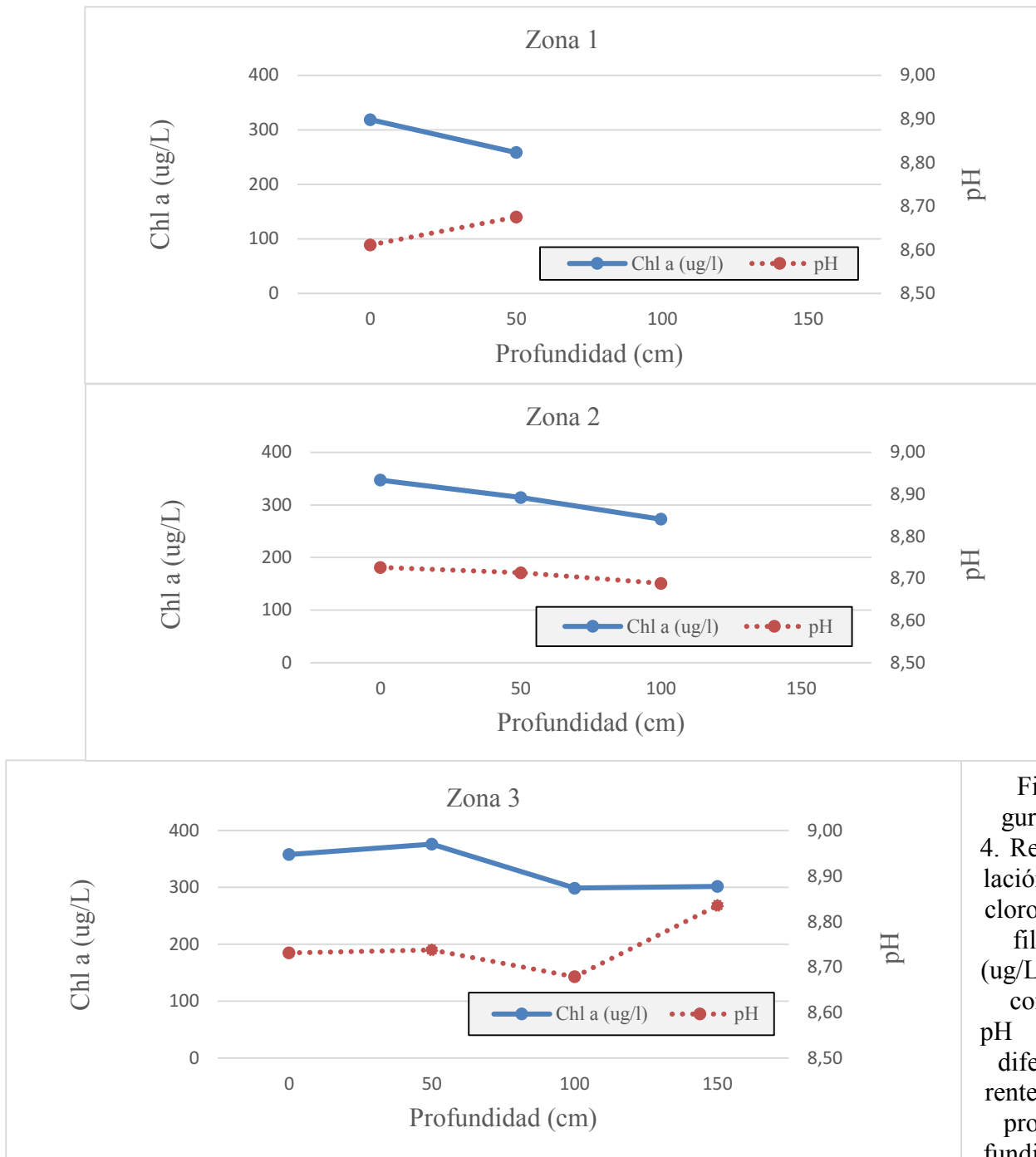
La turbidez dentro de la laguna se mantiene dentro del rango de 20-30 cm de visibilidad mínima, recomendado para la producción de tilapia. La turbiedad del agua es debido a partículas en suspensión, como arcilla, minerales, sedimentos materia orgánica e inorgánica, microalgas, bacterias y otros microorganismos (Ruiz 2011), esto explica que en la zona 1 haya mayor turbiedad debido a ser la entrada de efluentes de actividades pecuarias, su baja profundidad y poco movimiento.

Análisis del perfil de profundidades de la laguna. Los resultados promedio obtenidos de los muestreos puntuales realizados por espacio de ocho días se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Promedio para cada parámetro fisicoquímico medido en profundidades en tres puntos de la laguna de Monte Redondo de Zamorano, Honduras, 2015.

Parámetros y profundidades (cm)	Zonas		
	1	2	3
pH			
0	8.61	8.73	8.73
50	8.68	8.71	8.74
100		8.69	8.68
150			8.84
Conductividad eléctrica (us/cm)			
0	193.50	212.33	215.23
50	179.88	208.10	187.45
100		211.23	187.75
150			196.00
Temperatura °C			
0	26.66	26.78	26.49
50	25.80	26.16	26.26
100		25.83	25.70
150			25.65
Chl a (ug/L)			
0	318.58	347.16	357.90
50	258.35	313.99	376.20
100		272.89	298.83
150			301.97

Los resultados obtenidos en las tres zonas de la laguna, con sus respectivas profundidades indican que durante los días de muestreo, el ambiente fisicoquímico del agua del efluente es compatibles con el ambiente en el que las microalgas pueden desarrollarse a concentraciones limitadas y ser estable para el cultivo de tilapia (Cuadro 4). Los resultados se mantuvieron dentro de un rango estable de pH de 8.2-8.7. El rango favorable para las especies de microalgas presentes en la laguna es de 7-9 y para tilapia es de 6-9. Se registró una tendencia predominante donde la reducción en la concentración de clorofila se encuentra acompañada de un descenso en el pH (Figura 4)



Fi-
gura
4. Re-
laci3n
cloro-
fila
(ug/L)
con
pH a
dife-
rentes
pro-
fundi-

dades en las tres zonas de estudio.

La conductividad no represent3 una limitante para la actividad de acuicultura ya que se encuentra en concentraciones menores de 1,968 us/L que es lo normal en agua dulce seg3n Saavedra (2006) y en relaci3n con la clorofila no muestra ninguna tendencia ni entre zonas ni a profundidades (Figura 5).

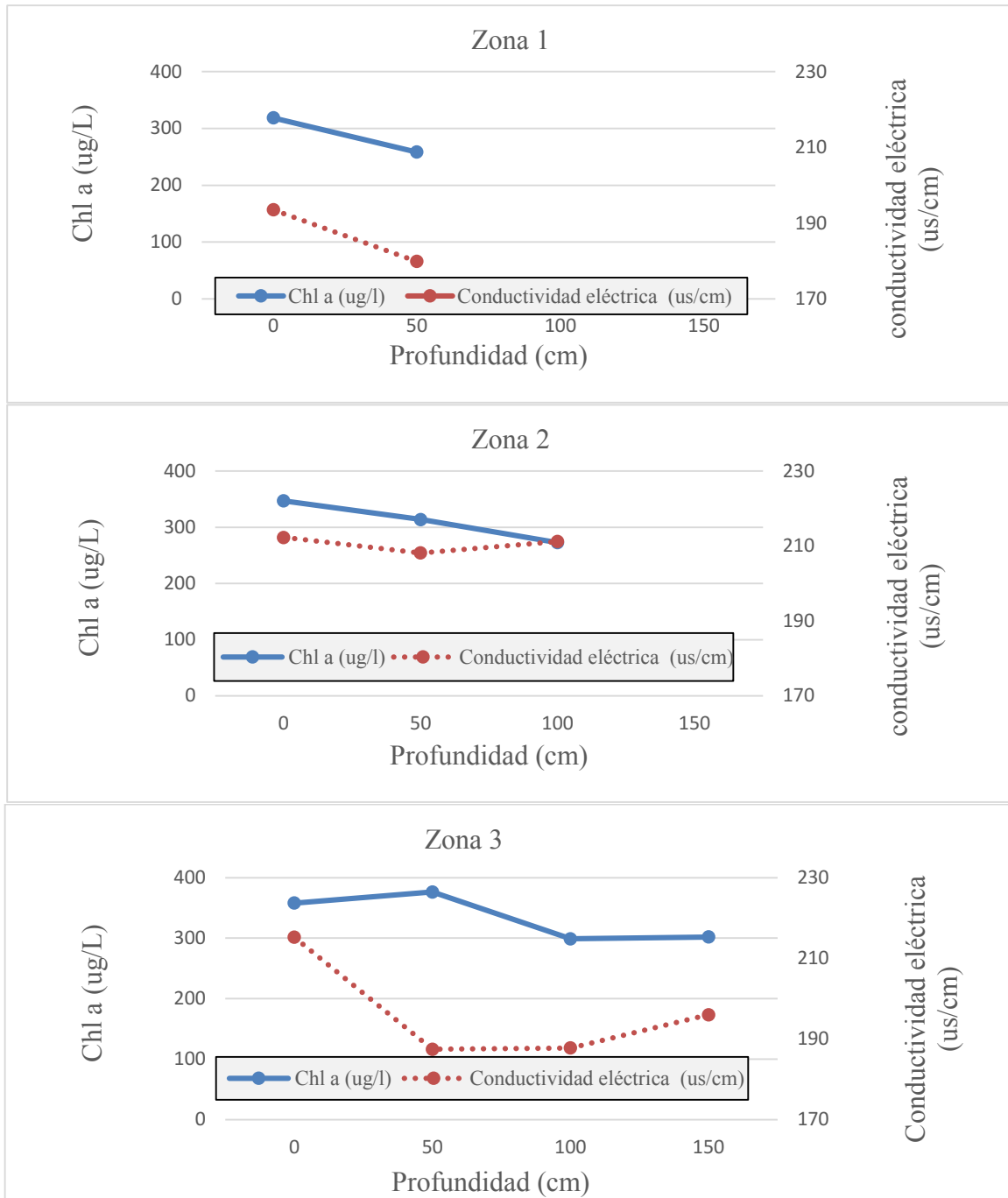


Figura 5. Relación clorofila ($\mu\text{g/L}$) con conductividad eléctrica ($\mu\text{s/cm}$) a diferentes profundidades en las tres zonas de estudio.

En cuanto a la temperatura se registraron valores entre 25 y 27 $^{\circ}\text{C}$, encontrándose este rango por debajo de los límites favorables para cultivo de microalgas en general que es de 28 - 35 $^{\circ}\text{C}$ (Hernández y Labbé 2014). Sin embargo, se encontraron especies de microalgas como

Chlorella que resisten temperaturas entre 15-40 °C; éste es el caso de otras especies encontradas en la laguna. Se observó una clara tendencia donde a mayor profundidad se registra una menor temperatura y concentración de clorofila (Figura 6).

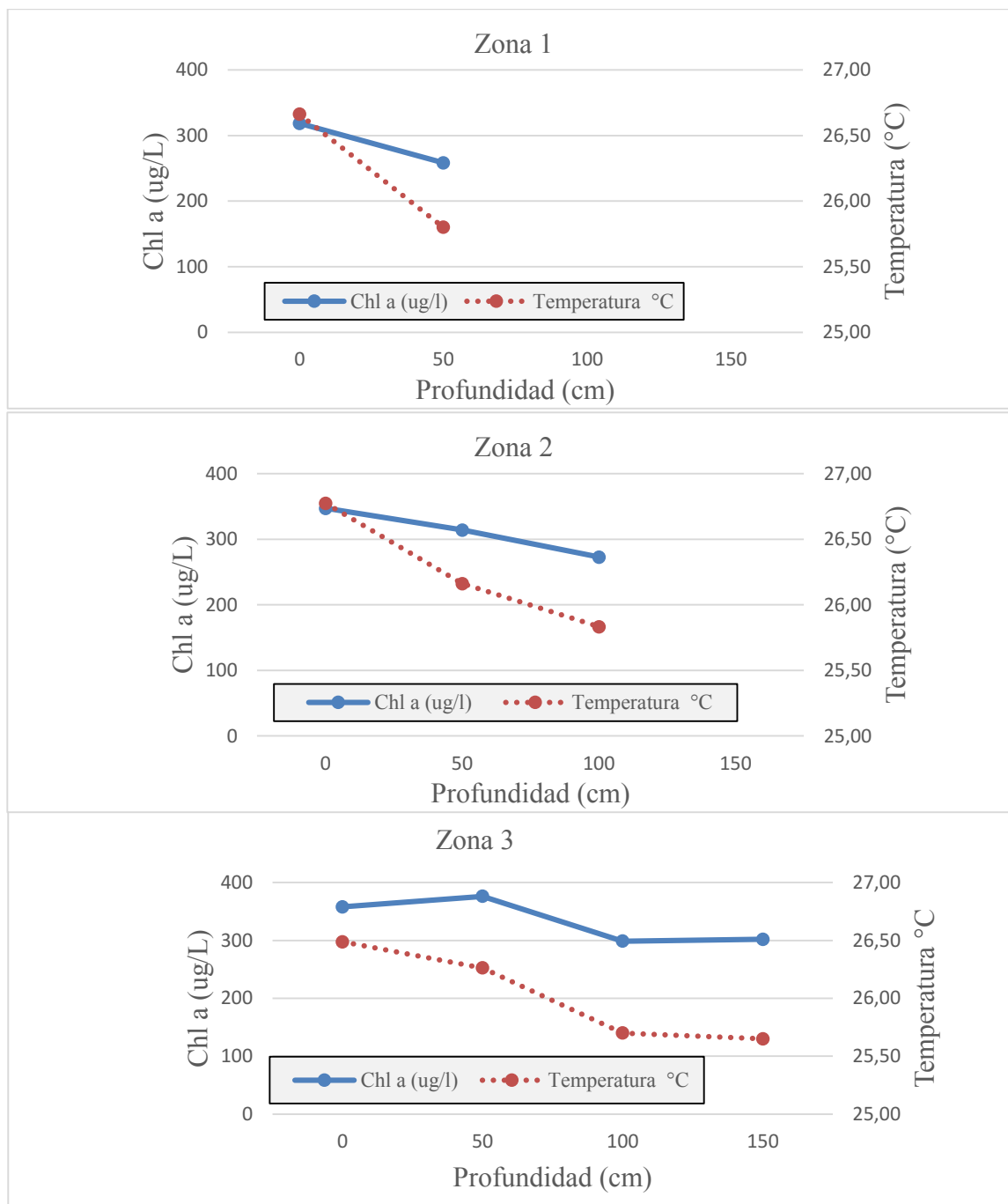


Figura 6. Relación clorofila (ug/L) con temperatura (°C) a diferentes profundidades en las tres zonas de estudio.

Para acuicultura la temperatura de la laguna está en los valores óptimos que son 25-32 °C (Saavedra 2006). Los parámetros de calidad de agua tanto de conductividad eléctrica, pH y temperatura, tomados in situ comparados con la clorofila en cada profundidad, aun teniendo pequeñas variaciones entre zonas, sus valores son estables y óptimos para el crecimiento de microalgas y no deben representar una limitante para su cultivo y el de tilapia.

Radiación vs clorofila *a*. Los datos de radiación durante los días de muestreo fueron adquiridos de la estación meteorológica de Zamorano, los cuales fueron comparados con la concentración de clorofila obtenida en los mismos días (Figura 7). Se observa en la gráfica de donde se comparan los resultados obtenidos en la superficie de la laguna (0 cm de profundidad), que la clorofila disminuye cuando aumenta la radiación. Esto según (Pérez 2009), se debe a una fotooxidación de las células, en donde sí aumenta la cantidad de luz suministrada a las células en valores superiores al límite de saturación, la tasa de fotosíntesis celular llega al máximo y la eficiencia fotosintética disminuye debido a que los fotosistemas se saturan y la energía luminosa no es transformada en energía química y causa fotoinhibición.

Este panorama es diferente al analizar el perfil a una profundidad de 50 cm, donde la clorofila aumenta conforme aumenta la radiación y hay mayor visibilidad (en términos de turbidez). El comportamiento descrito se debe a la fotoaclimatación que realizan las microalgas en donde son capaces de ajustar el contenido celular en clorofila ante cambios ambientales en el espacio y el tiempo. Así, un aumento de la concentración de clorofila significará en el aumento de la cantidad de microalgas, resuspensión de células algales sedimentadas, o que ha aumentado la fotosíntesis al disminuir la turbidez o aumentar la radiación recibida. Una disminución de concentración de clorofila indica que la cantidad de fitoplancton del medio ha disminuido, que la turbidez ha aumentado o que hay menos nutrientes disponibles en el medio (Ruiz 2011).

A demás las microalgas que tienden a predominar en las aguas turbias de lagunas, son los géneros móviles, como *Chlamydomonas*, *Pyrobotrys* y *Euglena*, ya que pueden optimizar su posición vertical en la columna de agua del estanque en relación con la intensidad de la luz incidente y temperatura con mayor facilidad que las formas no móviles como *Chlorella*. En ausencia de mezcla del medio y la radiación, las microalgas tienden a estar en una banda de 20 cm de espesor, pero al estar en mayor radiación se mueven a través de los 50 cm superiores de la laguna (Mara 1997).

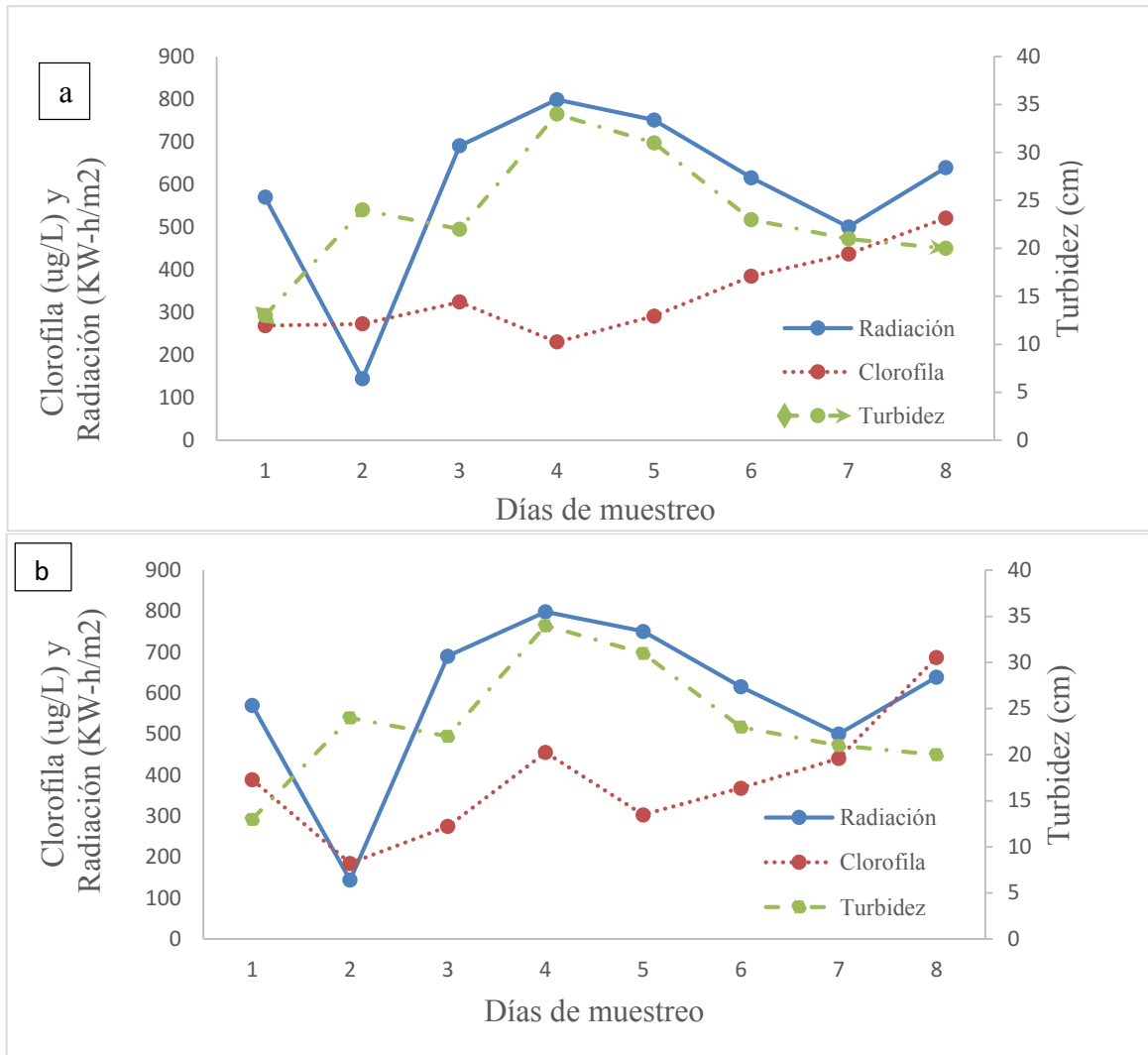


Figura 7. Relación de la radiación en KW-h/m² y la turbidez (cm) con la concentración de clorofila a) a los 0 cm de profundidad y b) a los 50 cm de profundidad, en los días de muestreo en la laguna Monte Redondo, Zamorano.

Biomasa y clorofila. El volumen de la laguna es de 12,000m³ aproximadamente, y la clorofila promedio de la laguna es de 316,206.5 ug/m³, quiere decir que es la densidad de la biomasa que se encuentra en la laguna de microalgas, según Pearson *et al.* (1987). Se despejó masa, en la fórmula de densidad, se multiplicó el volumen de la laguna con clorofila, dando como resultado la biomasa de microalgas de la laguna que es 3,794.5g.

Análisis estadístico. Análisis de regresión: Se realizó una regresión lineal simple para evaluar la concentración de clorofila *a* en función de la profundidad, la cual no fue significativa (Figura 8). Mientras que la regresión múltiple demostró que el mejor modelo para determinar la concentración de clorofila se realizó con las variables de zona, temperatura, pH y conductividad siendo significativa con R²=95.8%, con un R²ajustado=91.6% (Cuadro 5). El modelo de regresión múltiple resultó mejor que la regresión lineal para profundidad que tenía un R² = 25.2%.

La biomasa de microalgas presente en la laguna se define en términos de clorofila en la que influyen variables temperatura, pH, conductividad a diferentes profundidades y entre zonas de muestreo. Las variables que tienen mayor influencia en la concentración de clorofila son la zona y la temperatura con valores $p < 0.05$. Las de menor significancia en la concentración de clorofila de la laguna con valores p de 0.085 la conductividad y 0.48 el pH un nivel α de 0.05.

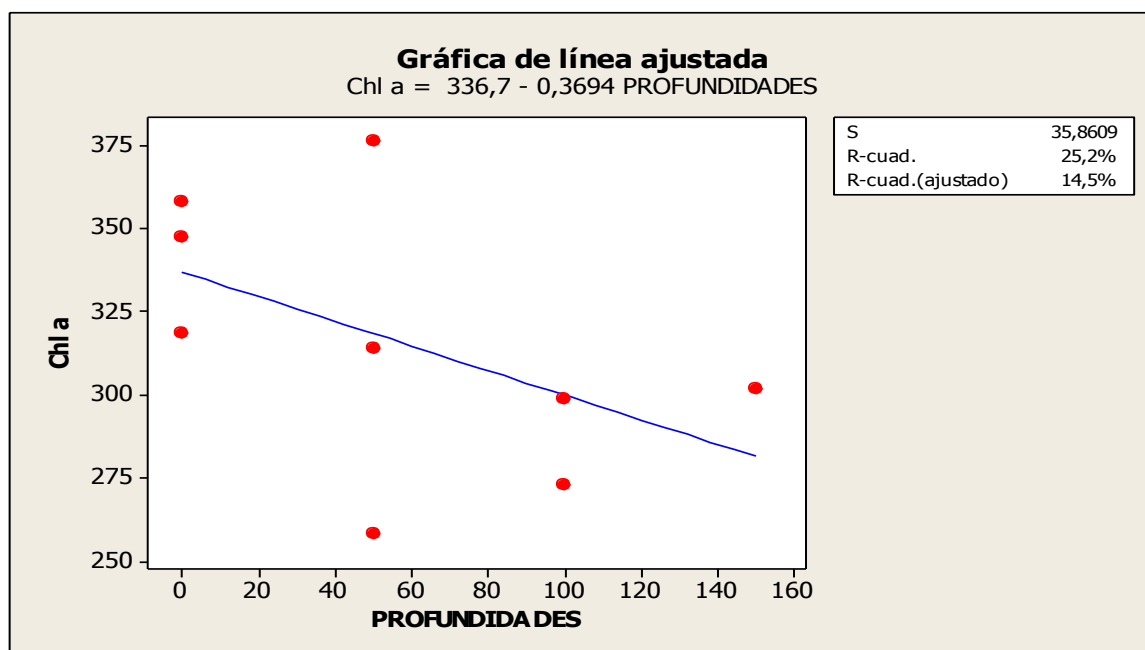


Figura 8. Regresión lineal simple para evaluar la relación entre la profundidad y la concentración de clorofila registrada.

Cuadro 5. Resultado de la regresión múltiple de la concentración de clorofila en relación con variables como el pH, conductividad, temperatura y la zona.

Predictor	Coef.	coef de EE	T	P
Constante	-2576.3	901.8	-2.8	0.046
pH	71.3	92.7	0.7	0.485
Conductividad	-0.8	0.3	-2.2	0.085
Zona	32.1	6.5	4.9	0.008
Temperatura	90.5	11.4	7.9	0.001

Microalgas. Se identificó un total de 62 especies de microalgas en las zonas de estudio, obteniendo un promedio variable entre 35 a 45 especies/géneros cada sección (Anexo 1), algunas de ellas con una distribución más amplia y presentes en todas las zonas como *Scenedesmus* y otras solamente en una sección particular como el caso de *Euglena* y *Spirulina*, detectadas únicamente en la zona 3.


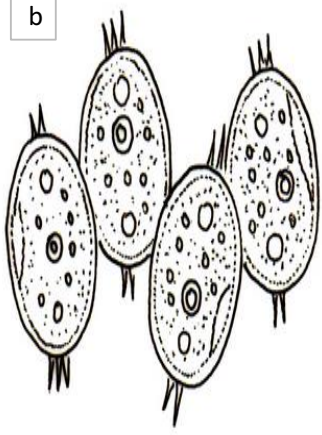
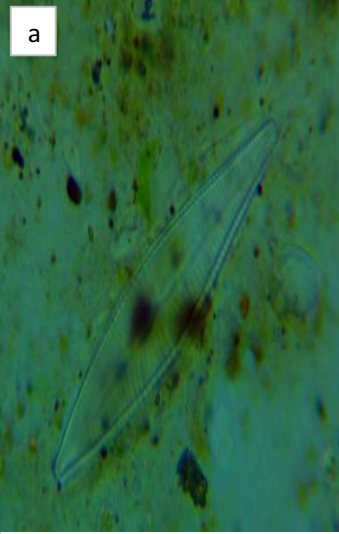
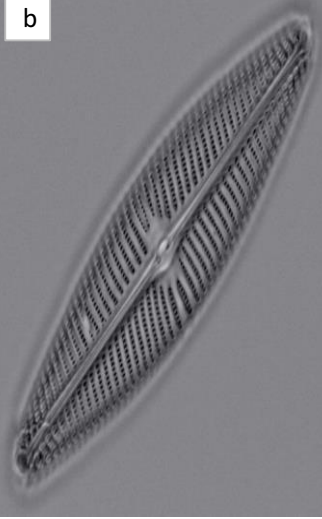
La presencia de microalgas en las zonas está directamente relacionada con la disposición de nutrientes en los mismos y se ve favorecida por condiciones ambientales propias de las zonas o por la capacidad intrínseca de estos microorganismos para formar estructuras de resistencia, que las hace superar las condiciones desfavorables. La diferencia en la frecuencia de aparición de las mismas puede deberse a la metodología de observación en el microscopio, más que a su presencia en cada zona de la laguna, es decir, que a pesar de que algunos géneros no fueron detectados, podrían encontrarse en estas zonas.

Se encontró una amplia diversidad de especies importantes en biotecnología como para productos comerciales lo cual refuerza la idea de que la laguna de Monte Redondo, es una fuente de especies potenciales en estas líneas. Los géneros mayoritarios presentes en las zonas de muestreo de la laguna (Cuadro 6) son *Scenedesmus*, *Navicula*, *Cyclotella*, *Nitzschia*, *Chlorella* y *Pediastrum* que están distribuidos en toda la laguna, ya que se observó su presencia en las tres zonas de muestreo. Al contrario de *Tribonema* y *Trachelomonas* que se observaron solo en la primera y segunda zona de la laguna.

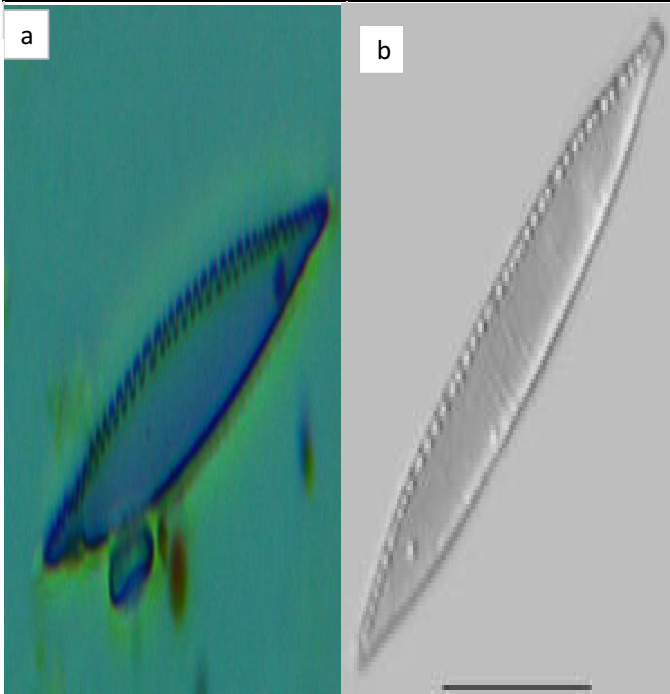
Cuadro 6. Géneros mayoritarios de microalgas en las zonas de muestreo de la laguna de Monte Redondo, Zamorano, Honduras 2015.

Géneros	Zonas		
	1	2	3
<i>Scenedesmus</i>	x	x	x
<i>Navicula</i>	x	x	x
<i>Cyclotella</i>	x	x	x
<i>Nitzschia</i>	x	x	x
<i>Chlorella</i>	x	x	x
<i>Pediastrum</i>	x	x	x
<i>Tribonema</i>	x	x	
<i>Trachelomonas</i>	x	x	

Cuadro 7. Fotografías tomadas con microscopio electrónico de los géneros mayoritarios de microalgas en la laguna de Monte Redondo con su taxonomía y características respectivas.

<i>Scenedesmus</i>		
	 <p style="text-align: center;"><i>Scenedesmus denticulatus</i></p>	<p>Taxonomía: División Chlorophyta, Clase Chlorophyceae, Orden</p> <p>Características: Son organismos unicelulares; forman cenobios de cuatro u ocho células, dentro de una pared madre de los padres. Se encuentra en agua dulce. Tiene capacidad de soportar elevadas concentraciones de nutrientes contenidos en las aguas residuales, posee actividad metabólica elevada y capacidad de resistir variaciones ambientales (Andrade, 2009).</p>
<i>Navicula</i>		
		<p>Taxonomía: clase Bacillariophyceae, orden Naviculales, familia Naviculaceae.</p> <p>Características: La mayoría son móviles por la secreción de mucilago desde la pared celular. Valvas en forma lanceolada con un área pequeña en el centro. Pueden presentar varios cloroplastos en los costados o uno grande. Es cosmopolita, es común en sistemas lacustres. Pueden secretar mucilago con el que se pegan a otro tipo de algas o zooplancton que es lo que le permite llegar a los ríos. (Molina, 2013).</p>

Nitzschia

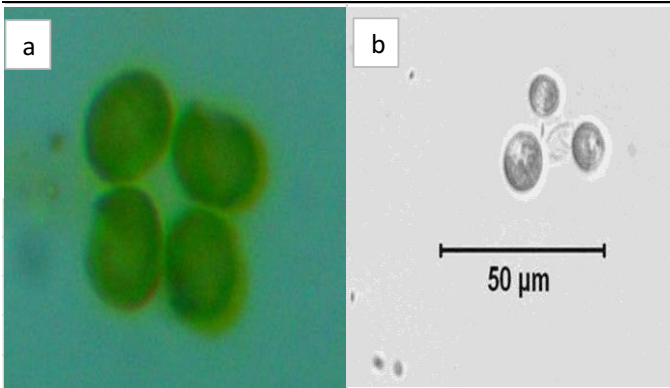


Taxonomía: Clase Bacillariophyceae, orden Bacillariales, familia Bacillariaceae.

Características: Algunos son móviles, puede tener organismos alargados con los polos redondos, con estrías. El raphe forma un canal que puede estar en ambos lados. Con dos cloroplastos alargados en cada extremo y entre ellos es donde se encuentra el núcleo.

Es cosmopolita, se puede encontrar en cualquier tipo de agua tanto en el océano como en agua dulce. Son células solitarias. Algunas son capaces de moverse. Son alcalófilas, comunes en aguas poco profundas, en el caso de ríos se encuentran en la superficie y son tolerantes a la acidificación (Molina, 2013).

Chlorella

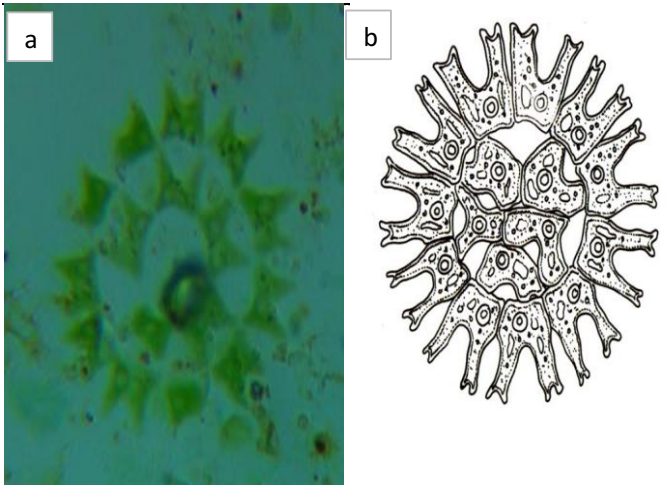


Taxonomía: División Chlorophyta, clase Chlorophyceae, orden Chlorococcales,

Características: Es un alga verde unicelular, de forma esférica con células globulares de 3-8 µm de diámetro.

Es una alga de agua dulce, se caracteriza por ser cosmopolita, que toleran temperaturas entre los 15 a 40°C y pH

Pediastrum

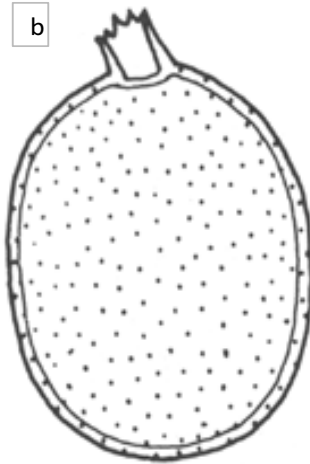
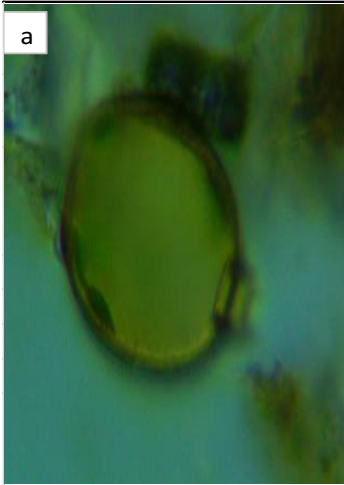


Taxonomía: Clase Chlorophyceae, orden Chlorococcales, familia

Características: Son libres nadadores, cenobios planos o curvos de 2-128 células, formados por solo una capa de células dispuestas radialmente. Tienen un cloroplasto parietal con un perinoide grande.

Crece sobre macrofitas sumergidas, en lagos hiper-eutróficos con columna de agua inestable, en lagos eutróficos a mesotróficos, ligeramente alcalinos. (Ramírez, 2006).

Trachelomonas

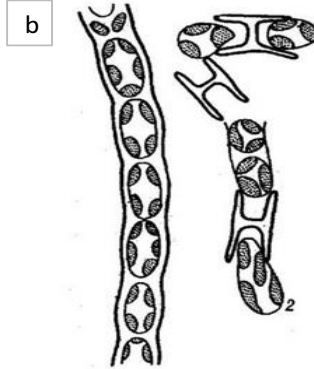
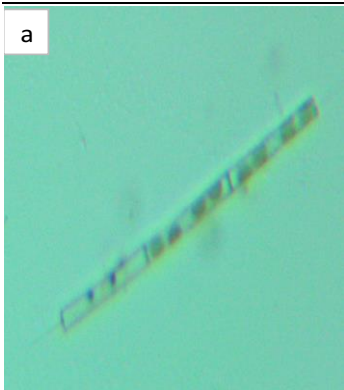


Taxonomía: Clase Euglenoidea, orden Euglenales, familia Euglenaceae.

Características: Es una alga unicelular que tiene una cubierta (lorica). La superficie de la lorica puede ser suave, puntuada o estriada y de color amarillo, marrón o hialino.

La mayoría son cosmopolitas, se encuentran principalmente en lagunas que contienen hierro, nitratos y fosfatos. Son más comunes en tierras bajas más cálidas. Es frecuente en aguas estancadas, se desarrollan cuando existe materia orgánica disuelta en ellas (Wydrzycka, 1996).

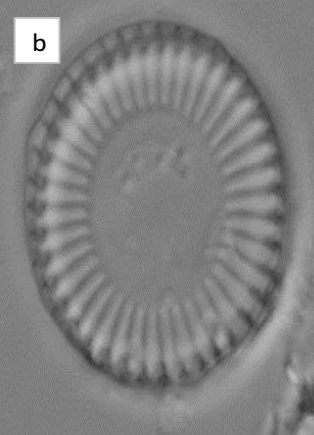
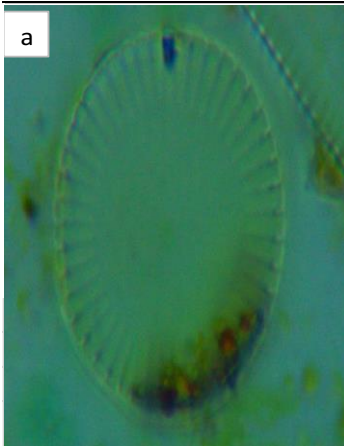
Tribonema



Taxonomía: clase Tribophyceae, orden Tribonematales, familia tribonemataceae.

Características: microalga que presenta numerosos cloroplastos. La membrana es fina y delicada presentando apéndices. Resistente a factores externos. Se puede encontrar en aguas limpias, estancadas y templadas, aguas frías, corrientes, más o menos turbias, o en aguas potables, ácidas, etc. Abunda en lugares ferruginosos y en calizos. Es común en manantiales ricos en carbonatos, fosfatos y nitratos (González, 1950).

Cyclotella



Taxonomía: Clase Bacillariophyceae, orden Thalassiosirales, familia Stephanodiscaceae

Características: Tiene células aplanadas en forma de disco. Se encuentran solas, en algunos casos se ven unidas por filamentos. Tienen cloroplastos en forma de disco. Es muy común en agua dulce, pero también se distribuye en agua salina. Son más frecuentes en lagos y lagunas oligotróficas (Molina, 2013).

Fuente: a) Fotografías realizadas en el microscopio electrónico en el laboratorio de calidad de agua y energía del Departamento de Ambiente y Desarrollo. b) Tomadas de The freshwater algal flora of the British isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae (David M, Whitton B.A and Brook, A.J 2005) Y de (Herbarium, 2015).

Usos y aplicaciones. Dentro de las microalgas mayoritarias encontradas en la laguna de Monte Redondo se encuentran géneros con aplicaciones biotecnológicas, ambientales e industriales (Cuadro 8) y sobre todo alternativas para mejorar el medio ambiente, debido a su eficiencia en el tratamiento de aguas residuales, en donde éstas han tenido un gran impacto por su capacidad de remover nutrientes y tener un alto valor comercial de la biomasa producida. De las microlagas tienen varias aplicaciones y se pueden obtener productos.

Cuadro 8. Productos y aplicaciones microalgas mayoritarias presentes en la laguna de Monte Redondo, Zamorano.

Microalga / Género	Productos /Aplicaciones	Referencias
<i>Chlorella</i>	Su biomasa es utilizada para la producción de alimentos, fármacos y suplementos alimenticios. Es eficiente en el tratamiento de aguas residuales, removiendo nutrientes como fósforo total.	(Villalobos 2013).
<i>Cyclotella</i>	Causa bloqueo en el tratamiento de agua debido a su rápido crecimiento en lagunas y reservorios. Pero son de los géneros más resistentes al aumento de salinidad en el medio.	(Molina 2013).
<i>Navicula</i>	Indicador de calidad de agua ya que toleran cambios en la dinámica del ecosistema, indica la presencia de sílice y eutrofización en el agua.	(Molina 2013).
<i>Pediastrum</i>	Indicador de la calidad del agua y como biodegradador de aguas contaminadas.	(Ramírez 2006).
<i>Scenedesmus</i>	Es eficiente en la remoción de nutrientes como 100% para nitrógeno, 78% fosfatos y del 36% para materia orgánica. Especialmente <i>Scenedesmus obliquos</i> se caracteriza en la producción de biodiesel y en biorremediación de aguas residuales.	(Andrade 2009).
<i>Trachelomona</i>	Indicadores de la presencia de hierro y manganeso en lagunas	(Margalef 1976).
<i>Tribonema</i>	Indicador de manantiales ricos en carbonatos, fosfatos y nitratos	(González 1950).

4. CONCLUSIONES

- La calidad de agua de la laguna se encuentra dentro de los rangos apropiados para la acuicultura, según estándares para el cultivo de tilapia. Así mismo, las características fisicoquímicas de la laguna son compatibles con el ambiente en el que las microalgas pueden desarrollarse a concentraciones limitadas.
- Las variables que demostraron influencia sobre la concentración de biomasa en términos de clorofila *a* son la temperatura y las zonas debido a las actividades desarrolladas en cada una de ellas. Pero tanto la temperatura como el pH se mantienen con valores óptimos para el crecimiento de microalgas. En especial *Chlorella* y *Scenedesmus* que también son heterótrofas, por esto pueden desarrollarse bajo ausencia de luz, lo que explica su presencia en todo el perfil de profundidades de la laguna.
- Se identificó poblaciones mayoritarias de microalgas de gran importancia económica y en biorremediación, como *Chlorella* y *Scenedesmus*. Éstas se encontraron distribuidas en toda la laguna y su desarrollo es favorecido por medios ricos en nutrientes, en este caso proporcionados por alimento de peces y excrementos de tilapia, añadiendo su alta tasa de crecimiento.
- Hay potencial en Zamorano para el cultivo de microalgas, debido a la diversidad de géneros que se encontró de microalgas, sin embargo para el cultivo intensivo de biomasa se requerirá del suministro de nutrientes a la laguna particularmente nitrógeno y fósforo.

5. RECOMENDACIONES

- Ampliar el periodo de toma de datos para conocer la dinámica de la laguna como reactor para las microalgas durante todo el año.
- Realizar un estudio hidráulico y balance de materia en la laguna para determinar la dinámica de mezclado, distribución de nutrientes y microorganismos.
- Realizar un estudio sobre la correlación mayor productividad de tilapia de engorde, mayor biomasa de microalgas.

6. LITERATURA CITADA

APHA (American Public Health Association). 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20a ed. American Public Health Association. Washington, EUA. 1,325 p.

Baltazar, P. 2015. Cultivo de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) variedad chitralada asociado a la producción de microalgas en estanques de mampostería. Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas de la Universidad Científica del Sur. Lima, Perú.

Becker, E. 1995. Microalgae: Biotechnology and microbiology. New York, Estados Unidos, Cambridge University Press Syndicate. 295 p.

Cerón, V. 2015. Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales. Ingeniería y Desarrollo. Universidad del Norte. 33(1): 98-125.

Chen, G. Q. y F. Chen. 2006. Growing phototropic cells without light. Biotechnology Letters. 28: 607-616.

Chozo, F. G., Veliz, J.A, Bazalar, R.G., Meza, J.B. y Camarena, H.R. 2014. Impacto ecológico por extracción ilícita de ovas del Pejerrey (*Odontesthes regia regia*) su proceso de incubación y eclosión en ambientes controlados. INFINITUM, 4(2):121-129.

Culebro, J. (2015). Cosechado de microalgas cultivadas en lagunas de alta carga para el tratamiento de aguas residuales: efecto del almidón sobre la floculación y la producción de biogás. Tesis M. Sc. Barcelona, España. Universidad Politécnica de Cataluña. 74p.

Dalmas, J. C., Sydney, E.B., Assmann, R., Neto, D., y Soccol, C. R. 2014. Production of Biofuels from Algal Biomass by Fast Pyrolysis. In: Pandey, A., Lee, D. J., Chisti, Y., Soccol, C.R., (ed) Biofuels from algae. Elsevier. San Diego. California, Estados Unidos. British Library and Library of Congress.p 143- 153

Dasí, M.J. y M.R. Miracle. 1991. Distribución vertical y variación estacional del fitoplancton de una laguna cársica meromítica, la laguna de la Cruz (Cuenca, España). Madrid, España. Limnetica. 7:37-59.

David M., Whitton, B.A. y Brook, A.J. 2005. La flora de algas de agua dulce de las islas británicas: Una guía de identificación de algas de agua dulce y terrestre. El Museo de Historia Natural. Cambridge University Press 1: 707.

- FOSS Analytical AB. 2003. The Determination of Nitrogen according to Kjeldahl using block digestion and steam distillation. Application Note. 12p.
- Gómez, L. 2007. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de química*. 19(2):3-20.
- González, P. 1950. *Algas del río Tinto*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Real Jardín Botánico. Huelva, España. 128 p.
- HACH. Company. 2004. Hach® DR/890, Colorimeter procedures manual. Estados Unidos. Compañía Hach. 242 p.
- Herbarium.2015.Plantas y Hongos. (En línea). Consultado 17 de septiembre del 2015. Disponible en <http://www.plantasyhongos.es/herbarium/index.htm>.
- Hernández, A y Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173.
- Jiménez, C., Cossío, B. R. y Niell, F. X. 2003. Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. *Aquaculture* 221: 331-345.
- Lau, P.S., Tam, N.F.Y y Wong, Y.S. (1995). Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environmental pollution*. 89:59-66.
- Lee, Y.K. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*. 13: 307-315.
- Li, Y., Horsman, M., Wang B. y Wu, N. (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of Green alga *Neochloris oleoabundans*. Department of Chemical Engineering, University of Ottawa, Ontario; Canada. 81:629-636.
- Malgas. (2013). *Aplicaciones de las microalgas*. AST Ingeniería S.L. Asturias. España. 72p.
- Mara, D. 1997. *Design Manual for waste stabilization ponds in India*. England. British Library. 125p.
- Margalef, R. 1976. *Algas de agua dulce de Doñana*. Departamento de Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Barcelona, España. *Revista Oecología acuática*. 2: 79-91.
- Meyer, D. E. 2011. *Contribuciones de Zamorano a la Acuicultura Latinoamericana*. Ceiba 52(1): 81-89
- Molina, M. 2013. Efectos del derrame de petróleo sobre la comunidad fitoplanctónica de la laguna de Papallacta y sus principales afluentes. Tesis del grado de Licenciado en

- Biología ambiental. Escuela de Biología Aplicada. Universidad Internacional del Ecuador. Quito, Ecuador. 121p.
- Orvay, F. C. (1993). Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Barcelona. Universidad de Barcelona.
- Pearson, H.W., Mara, D. y Bartone, C.R. 1987. Guidelines for the minimum evaluation of the performance of full-scale waste stabilization ponds. *Water Research*, 21(9), 1067-1075
- Pérez, R. 2009. Eliminación de nutrientes para el tratamiento biológico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga-bacteria en crecimiento autotrófico, heterotrófico y mixotrófico. Tesis del grado de Maestro en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales con orientación en biotecnología. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Bolivia. 152p.
- Pinilla, G. 2005. Ecología del fitoplancton en un lago amazónico de aguas claras (Lago Boa, Caquetá Medio Republica de Colombia). Facultad de Biología Marina, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia. 258 p.
- Ramírez, D. 2006. Determinaciones de Chlorophytas Scenedesmus y Pediastrum, encontradas en el estanque artificial del parque "Los Colomos", Jalisco, México. 1998-1999. Tesis del grado de Licenciado en Biología. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. México. 48p.
- Richmond, A. 2004. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blankwell Science. 566 p
- Ruiz, A. 2011. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Tesis M Sc. Valencia, España. Universidad Politécnica de Valencia. 102p.
- Saavedra, M. 2006. Manejo de cultivo de tilapia. CIDEA. Managua, Nicaragua. 22p.
- Sagarpa, Bancomext y Secretaria de Economía. 2006. PC-058-2006. Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México Calidad Suprema en Tilapia. México D. F. 2006
- Suarez, F. 2012. Chlorella vulgaris Cultivo. 15p.
- Villalobos, N. y S.C. 2013. Microalgas en estanques de tilapia y su potencial biotecnológico, ambiental e industrial. *Biocenosis*. 27(1-2): 50-56.
- Vicente, E., H. C, S. P y C.J. 2015. Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva Marco del Agua. Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton. Zaragoza, España. Ministerio de Medio Ambiente. 43p.

- Wydrzycka, U. 1996. Las especies de *Trachelomonas* (Algas: Euglenophyta) en tres lagunas volcánicas de Costa Rica. *Revista Biología Tropical*. 44(2): 477-484.
- Yuan, X., Kumar, A., Sahu, A. K. y Ergas, S. J. 2011. Impact of ammonia concentration on *Spirulina platensis* growth in an airlift photobioreactor. *Bioresource Technology* 102(3):3234-3239.

7. ANEXOS

Anexo 1. Presencia de géneros de microalgas en las zonas de muestreo de la laguna de Monte Redondo, Zamorano, Honduras 2015.

Géneros	Zonas		
	1	2	3
<i>Scenedesmus</i>	X	X	X
<i>Planktosphaeria</i>	X		X
<i>Oocystis</i>	X	X	X
<i>Navicula</i>	X	X	X
<i>Cyclotella</i>	X	X	X
<i>Synedra</i>	X	X	X
<i>Nitzchia</i>	X	X	X
<i>Phormidium</i>		X	
<i>Nannochloris</i>		X	X
<i>Melosira</i>	X	X	X
<i>Gomphospaeria</i>		X	X
<i>Chlorella</i>	X	X	X
<i>Pediastrum</i>	X	X	X
<i>Coelastrum</i>	X	X	X
<i>Actinastrum</i>	X	X	X
<i>Pinularia</i>	X	X	X
<i>Oedogonium</i>	X	X	X
<i>Asterionella</i>			X
<i>Chlamydomonas</i>	X	X	X
<i>Closterium</i>	X	X	X
<i>Tribonema</i>	X	X	X
<i>Stauroneis</i>		X	X
<i>Pandorina</i>		X	
<i>Nodularia</i>		X	
<i>Anabaena</i>	X	X	X
<i>Lepocinclis</i>	X	X	X
<i>Desmidium</i>		X	

<i>Aphanotheca</i>	X		X
<i>Palmella</i>	X	X	X
<i>Micrasterias</i>	X	X	X
<i>Chroococcus</i>	X	X	X
<i>Aulacoseira</i>			X
<i>Trachelomonas</i>	X	X	X
<i>Oscillatoria</i>			X
<i>Ankistrodesmus</i>	X		
<i>Anabaenopsis</i>	X		
<i>Micractinium</i>	X		
<i>Spirogyra</i>		X	
<i>Kirchneriella</i>		X	
<i>Arthrospira</i>		X	
<i>Chlorococcum</i>		X	
<i>Phacus</i>	X	X	X
<i>Sphaerocystis</i>	X	X	X
<i>Coelosphaerium</i>	X		
<i>Vaucheria</i>	X		
<i>Stephanodiscus</i>	X	X	X
<i>Stauronastrum</i>		X	
<i>Enteromorpha</i>			X
<i>Euglena</i>			X
<i>Aphanothece</i>			X
<i>Tetrallantos</i>	X		
<i>Closteriopsis</i>	X	X	
<i>Schroederia</i>	X	X	
<i>Staurastrum</i>		X	X
<i>Dictyosphaerium</i>		X	
<i>Chlorogonium</i>		X	X
<i>Diatoma</i>		X	
<i>Spirulina</i>			X
<i>Gonium</i>			X
<i>Microspora</i>		X	
<i>Cymbella</i>		X	
<i>Gloeocapsa</i>			X
Total	35	45	41