

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos de Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Acuicultura**

**Remoción de nutrientes en efluentes acuícolas por
la microalga *Odontella aurita***

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestra en Ciencias

Presenta:

Mayra Cristina González Villagómez

Ensenada, Baja California, México
2025

Tesis defendida por
Mayra Cristina González Villagómez

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Directora de tesis

Dra. Mónica Hernández Rodríguez

Dra. Elizabeth Ponce Rivas



Dra. Fabiola Lafarga de la Cruz
Coordinadora del Posgrado en Acuicultura

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Mayra Cristina González Villagómez** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Acuicultura.

Remoción de nutrientes en efluentes acuícolas por la microalga *Odontella aurita*

Resumen aprobado por:

Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Directora de tesis

Los efluentes generados por cultivos acuícolas producen una gran cantidad de materia orgánica proveniente del alimento, heces y subproductos del metabolismo de los organismos cultivados, los cuales se degradan en el medio y generan compuestos nitrogenados como el amoníaco (NH_3), amonio (NH_4^+), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y fosfato (PO_4^{3-}). Estos compuestos pueden ser aprovechados como nutrientes para la producción de microalgas ricas en compuestos bioactivos. En este trabajo se evaluó la capacidad biodepuradora y la biomasa producida por la microalga *Odontella aurita* cultivada en diferentes concentraciones (50, 75 y 100 %) del efluente proveniente del cultivo de la lobina rayada (*Morone saxatilis*). Esta microalga logró remover el 50 % de nitrógeno en forma de nitrato y el 100 % del fosfato en la concentración del efluente del 50 %, cercana a la del medio "F", lo que plantea a esta especie como potencia para la remoción de efluentes acuícolas. No se observaron diferencias en el peso orgánico ($321 \mu\text{g mL}^{-1}$) ni en la composición bioquímica de la microalga, entre las diferentes concentraciones del efluente y el medio "F" (proteínas: 5.9 %, carbohidratos: 6 % y lípidos: de 5.4 al día dos a 8.3 % al día). El ácido graso EPA, característicos de las diatomeas, se obtuvo en una concentración promedio de 3 mg L^{-1} representando el 23 % del total de los ácidos grasos, lo que estaría aportando un valor agregado a la biomasa producida, en los tratamientos con efluentes. Además, su tendencia a precipitar con rapidez facilita la cosecha, lo que podría reducir significativamente los costos de producción.

Palabras clave: *Odontella aurita*, biorremediación, efluentes acuícolas, remoción, biomasa.

Abstract of the thesis presented by **Mayra Cristina González Villagómez** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in aquaculture.

Nutrient Removal in Aquaculture Effluents by the Microalga *Odontella aurita*

Abstract approved by:

Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Thesis Director

Aquaculture effluents contain high levels of organic matter derived from uneaten feed, feces, and metabolic by-products of cultured organisms. These materials degrade in the environment and generate nitrogenous compounds such as ammonia (NH_3), ammonium (NH_4^+), nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), and phosphates (PO_4^{3-}). These compounds can be utilized as nutrients to produce microalgae rich in bioactive compounds. In this study, the bioremediation capacity and biomass production of the marine diatom *Odontella aurita* were evaluated when cultivated in different concentrations (50%, 75%, and 100%) of effluent from striped bass (*Morone saxatilis*) culture. This microalga was able to remove 50% of nitrogen in the form of nitrate and 100% of phosphate in the 50% effluent concentration, which is like the “f” medium, highlighting its potential for aquaculture effluent treatment. No significant differences were observed in organic dry weight ($321 \mu\text{g mL}^{-1}$) or in the biochemical composition of the microalgae between the different effluent concentrations and the control medium “f” (proteins: 5.9%, carbohydrates: 6%, and lipids: from 5.4% on day 2 to 8.3% on day 6). The fatty acid EPA, characteristic of diatoms, was detected at an average concentration of 3 mg L^{-1} , accounting for 23% of total fatty acids, adding commercial value to the biomass produced under effluent treatments. Additionally, its rapid sedimentation facilitates harvesting, which could significantly reduce production costs.

Keywords: *Odontella aurita*, bioremediation, aquaculture effluents, removal, biomass

Dedicatoria

Con mucho amor para mi familia

Agradecimientos

Agradezco al Centro de Investigación **Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California** (CICESE), por brindarme las herramientas, los recursos y el entorno académico y científico que hizo posible el desarrollo de este trabajo, así como al **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación** (SECIHTI) por otorgarme el soporte financiero. Su apoyo fue fundamental para mi desarrollo profesional.

Agradezco al posgrado en **Ciencias de la Acuicultura** por aceptarme y permitirme hacer uso de su tecnología, instalaciones, materiales, las clases impartidas, el acompañamiento de docentes y la colaboración científica, los cuales me permitieron desarrollar esta investigación.

A la **Dra. Beatriz Cordero Esquivel**, que me aceptó como su alumna, me abrió las puertas del laboratorio de microalgas de departamento de Acuicultura, y me brindó todas las herramientas necesarias para desarrollar esta investigación. Le expreso mi más profundo agradecimiento y admiración. Todo lo que aprendí en la maestría lleva su huella. Su guía, confianza, apoyo y enseñanzas me han permitido crecer profesional y personalmente.

A mis asesoras la **Dra. Mónica Hernández Rodríguez** y la **Dra. Elizabeth Ponce Rivas**, quienes, con su experiencia, compromiso y valiosas observaciones, enriquecieron este trabajo en cada etapa y contribuyeron en mi crecimiento académico y científico.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (**CIBNOR**), por haber proporcionado la cepa de trabajo *Odontella aurita* (CIBA103).

A mi **familia**, especialmente mis padres y mis hermanas, quienes son el motor de mi vida. Su amor incondicional, su apoyo constante y su confianza en mí han sido fundamentales en cada paso de mi vida. No pudiera estar donde estoy sin ustedes, este logro también es suyo.

A todo el **personal de CICESE**, administrativo, investigadores, técnicos, guardias de seguridad, mantenimiento, limpieza, mis más sinceramente agradecimientos por su labor y compromiso.

Al técnico **MC. Abelardo Campos** quien me capacitó en el manejo y técnicas de procedimientos complejos, que hicieron posible el desarrollo de este trabajo, brindándome más experiencia como profesionalista.

A las secretarias del departamento de Acuicultura **Dalila, Bibi y Ceci**, gracias por su dedicación y su amabilidad en todo momento. A los guardias de seguridad **Nancy y Don Mario**, que siempre estuvieron pendiente de mi seguridad en las largas jornadas en el laboratorio. Su atención y apoyo hicieron más grata mi estancia en CICESE.

A mis compañeras del laboratorio de microalgas, **Ceci, Noelia, Dalia, Faty, Marce y Ceres**, gracias por su compañerismo, por las experiencias compartidas y los momentos de estudio. Su apoyo, alegría y amistad han sido fundamental en mi crecimiento académico y personal.

Al **laboratorio del ecofisiología** de especies marinas especialmente a la Dra. Mónica Hernández y el técnico Luis murillo quienes proporcionaron los efluentes de sus cultivos de lobina rayada (*Morone saxatilis*) que fue clave para el desarrollo de este trabajo. Al **laboratorio de Reproducción y Desarrollo**, a cargo del Doc. Benjamín Barón y la técnico Dra. Magali del Rosario Zacarías, por abrirme las puertas de su laboratorio y por permitirme hacer uso de sus equipos.

A mis compañeros de clases y de generación **Nayeli, Aldo, Noé, Sergio, Helena, Angélica, Romario, Cristian, Hilary, Cesar, Lesly, Evelyn, Victoria, Yanet, Yahayra, Diego, Christian**. Gracias por compartir este camino conmigo, por su compañerismo y su amistad. Cada uno de ustedes me aportó algo valioso en esta etapa, me llevo buenos recuerdos, aprendizaje y una gran amistad.

Finalmente agradezco a la vida y a todas las personas que formaron parte de este proceso, cada palabra de aliento, cada enseñanza recibida, por su generosidad y apoyo que me han brindado dejan en mí una marca invaluable en mi crecimiento profesional y personal. Termino esta etapa de mi vida con más conocimiento y experiencia.

Gracias a todos por ser parte de esta experiencia que marco mi vida.

Tabla de contenido

Página	
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas.....	xi
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes	2
1.1.1 Biorremediación con microalgas en efluentes acuícolas	4
1.1.2 <i>Odontella aurita</i>	6
1.2 Justificación	9
1.3 Hipótesis.....	10
1.4 Objetivos	10
1.4.1 Objetivo general	10
1.4.2 Objetivos específicos.....	10
Capítulo 2. Metodología.....	11
2.1 Cultivo de microalgas	11
2.2 Diseño experimental	11
2.3 Curva de crecimiento	13
2.4 Peso seco total y orgánico.....	13
2.5 Cuantificación de compuestos inorgánicos (PO_4^{3-} , NAT, NO_2^- y NO_3^-).....	14
2.5.1 Eficiencia de remoción	14

2.6	Composición Bioquímica	15
2.6.1	Proteínas	15
2.6.2	Lípidos	15
2.6.3	Carbohidratos.....	16
2.6.4	Aminoácidos (AA).....	16
2.6.5	Ácidos Grasos (AG).....	16
2.7	Análisis estadístico	17
Capítulo 3.	Resultados	19
3.1	Densidad óptica.....	19
3.2	Peso seco total (PST) y peso orgánico (PO).....	20
3.3	Concentración residual de nutrientes en el cultivo de <i>O. aurita</i>	22
3.3.1	Nitratos.....	22
3.3.2	Nitritos.....	23
3.3.3	Fosfatos	24
3.4	Remoción de nutrientes por <i>O. aurita</i>	25
3.5	Composición bioquímica.....	26
3.5.1	Proteínas	26
3.5.2	Lípidos	27
3.5.3	Carbohidratos.....	28
3.5.4	Aminoácidos (AA).....	28
3.5.5	Ácidos Grasos AG	29
Capítulo 4.	Discusión.....	32
Capítulo 5.	Conclusiones	38
	Literatura citada	39
	Anexos	46

Lista de figuras

Figura	Página
1. Ciclo del N en ambientes acuáticos. Imagen elaborada por González-Villagómez (2025).....	3
2. Proceso de asimilación del N por microalgas. Elaborado por González-Villagómez (2025).....	5
3. Células de <i>O. aurita</i> . A) Ambas valvas presentan dos prolongaciones anchas y cortas con ocelos en el ápice (flecha), unidas por un cinturón (40x). B) La frústula presenta un cinturón entre las dos valvas, pared porosa, presencia de espinas en la cúspide de la copula (flecha). C) Células unidas por los ápices y las espinas centrales (sin escala). D) Cadena de cuatro células. E) Células en división celular. F) Aglomerado celular con diferentes tamaños, detritos y cristales flecha.7	7
4. Sistema SRA para el cultivo de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> en las instalaciones del laboratorio de peses marinos del CICESE (Hernández-Rodríguez, 2024).	12
5. Cultivo de <i>O. aurita</i> en cuatro tratamientos al 100, 75 y 50% del efluente de lobina rayada (<i>Morone saxatilis</i>) y un control con medio "f" de Guillard (1975), mantenidos en un sistema estático.....	12
6. Barrido del espectro visible (400 – 750 nm) de <i>O. aurita</i> con diferentes concentraciones de inóculo para determinar la longitud de onda de máxima absorción.....	19
7. Densidad celular de <i>O. aurita</i> medida en unidades de absorbancia (675nm) en diferentes tratamientos con efluente del cultivo de lobina rayada <i>M. saxatilis</i> (100, 75, 50 % y control "f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas ($p < 0.05$) ($a > b$).	20
8. A) Peso seco total (PST $\mu\text{g mL}^{-1}$) y B) Peso orgánico (PO $\mu\text{g mL}^{-1}$) de <i>O. aurita</i> en diferentes tratamientos con efluente del cultivo de lobina rayada <i>M. saxatilis</i> (100, 75, 50 % y control "f") de los días 2, 4 y 6. Las barras representan \pm la desviación estándar de la media (n=3). Las letras muestras las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos ($a > b$) y las diferencias para cada tratamiento a través de los días ($A > B$).	21
9. Concentración de NO_3^- (mg L^{-1}) a lo largo del tiempo (días) en el cultivo de <i>O. aurita</i> en diferentes concentraciones del efluente del cultivo de <i>M. saxatilis</i> (100, 75, 50 %) y tratamiento control ("f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos ($a > b > c$).....	23
10. Concentración de NO_2^- (mg L^{-1}) a lo largo del tiempo (Días) por <i>O. aurita</i> en diferentes concentraciones del efluente del cultivo de <i>M. saxatilis</i> (100, 75, 50 %) y tratamiento control ("f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos ($a > b > c > d$).....	24
11. Concentración de PO_4^{3-} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) a lo largo del tiempo (Días) por <i>O. aurita</i> en diferentes concentraciones del efluente del cultivo de <i>M. saxatilis</i> (100, 75, 50 %) y tratamiento control ("f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos ($a > b > c > d$).....	25

12. Porcentaje de proteínas con base en el peso orgánico al día 2, 4 y 6 del cultivo de *O. aurita*, en tres tratamientos con efluentes del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50%) y un control ("f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos por cada día (a > b > c) y entre días por tratamiento (A > B > C)..... 27
13. Porcentaje de lípidos con base en el peso orgánico al día 2, 4 y 6 del cultivo de *O. aurita*, en tres tratamientos con efluentes del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50%) y un control ("f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos por día (a > d) y entre días por tratamiento (A > B > C)..... 27
14. Porcentaje de carbohidratos con base en el peso orgánico al día 2, 4 y 6 del cultivo de *O. aurita*, en tres tratamientos con efluentes del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50%) y un control ("f"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos por día (a > d)..... 28

Lista de tablas

Tabla	Página
1 Composición bioquímica de <i>O. aurita</i> . Tomado de Sánchez-Angulo <i>et al.</i> (2022).	8
2 Tasa de crecimiento promedio (μ : div día ⁻¹) con base en el peso seco total (PST) de <i>O. aurita</i> en tres diferentes concentraciones del efluente (100, 75 y 50 %), del cultivo de lobina rayada <i>M. saxatilis</i> y como control el medio "f"	22
3 Remoción de NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ y PO ₄ ³⁻ por <i>O. aurita</i> en tres tratamientos con diferentes concentraciones del efluente del cultivo de lobina rayada <i>M. saxatilis</i> (100, 75 y 50 %) y el control ("f"). Concentración inicial y final (mg L ⁻¹), porcentaje de remoción (%) y la tasa de remoción TR (mg L ⁻¹ día ⁻¹). Los datos se presentan como promedio (n=3). Las letras en exponente indican diferencias significativas (a > b > c).....	25
4 Porcentaje de aminoácidos (AA) presentes en <i>Odontella aurita</i> cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y F) de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> . Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Sumatoria de aminoácidos esenciales (Σ AAE), sumatoria de aminoácidos no esenciales (Σ AANE), * indica los AAE.....	30
5 Porcentaje de ácidos grasos de <i>Odontella aurita</i> cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y F) de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> . Los datos se presentan como promedio (n=3) \pm desviación estándar. Sumatoria de ácidos grasos saturados (Σ AGS), sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados (Σ AGMI), de ácidos grasos poliinsaturados (Σ AGPI).	30
6 Concentración de aminoácidos (AA; g 100g ⁻¹) de <i>Odontella aurita</i> cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y F) de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> . Los datos se presentan como promedio (n=3) \pm desviación estándar. Sumatoria de aminoácidos esenciales (Σ AAE), sumatoria de aminoácidos no esenciales (Σ AANE), * indica los AAE.....	31
7 Concentración de ácidos grasos (mg g ⁻¹) de <i>Odontella aurita</i> cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y "f") de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> . Los datos se presentan como promedio (n=3) \pm desviación estándar. Sumatoria de ácidos grasos saturados (Σ AGS), sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados (Σ AGMI), sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados (Σ AGPI).	31
8 Toxicidad sobre metabolitos potencialmente tóxicos en sistemas de acuicultura (Boyd, 2019).....	46

Capítulo 1. Introducción

La acuicultura son todas las técnicas, prácticas y conocimiento destinados a la cría, cultivo y recolección de organismos acuáticos, como peces, mariscos, crustáceos y algas. Este sector se ha convertido en una de las industrias de más rápido crecimiento y una fuente clave de alimentos y materias primas, además de ser una fuente de empleo y desarrollo económico en regiones costeras y rurales (FAO, 2024). De acuerdo con el informe de la FAO (2024), la producción acuícola en el año 2022 superó a la pesca en términos de volumen, alcanzando el 51% del total y se espera que esta tendencia continúe, consolidándose como una fuente crucial de proteínas y nutrientes de alta calidad.

La acuicultura moderna se enfrenta a diferentes desafíos provenientes de la creciente expansión y demanda de recursos, uno de los principales es el agua. El agua se encuentra limitado en áreas continentales ya que debe compartirse con otros sectores productivos de la industria como la agricultura, lo que genera una competencia y posibles conflictos por su disponibilidad. Además, el desarrollo de la acuicultura y otras industrias ha generado la destrucción y contaminación de ecosistemas sensibles como cuerpos de agua o los manglares, lo que ha afectado la estabilidad de zonas costeras (FAO, 2024).

Las especies cultivadas igualmente representan un riesgo ecológico para las poblaciones naturales, ya que pueden generar competencias con especies nativas, así como la transmisión de enfermedades (Gallego-Alarcón *et al.*, 2003). Además, la demanda de harina y aceite de pescado como insumos en la alimentación en la acuicultura ejercen una presión considerable sobre los recursos pesqueros silvestres, también el uso de antibióticos y fertilizantes pueden alterar tanto la calidad del agua, así como la salud de los organismos acuáticos (Abdelfattah *et al.*, 2022). Otro de los principales problemas es la generación de efluentes con altas concentraciones de materia orgánica y compuestos inorgánicos (Rathod, 2014).

Los efluentes generados por la acuicultura suelen descargarse sin tratamiento adecuado en cuerpos de agua, causando impactos ambientales como la eutrofización, generando el riesgo de toxicidad aguda para los organismos por los crecimientos algales nocivos (Rathod, 2014; Martelli *et al.*, 2024). El tratamiento suele ser costoso ya que implica el uso de tecnología especializadas, consumo energético y personal calificado, lo que eleva el costo de operación y no representa ningún beneficio económico para las empresas, por lo que dificulta su implementación (Ramos & Pizarro, 2018).

La FAO (2024) promueve la expansión y uso de técnicas sostenibles que mejoren la calidad del agua en cultivos intensivos y semi-intensivos, una de las tecnologías más utilizada son los sistemas de recirculación

acuícola (SRA), los cuales son ampliamente utilizados para el cultivo de peces, crustáceos y algunos moluscos, ya que mantienen el agua en recirculación, lo que reduce significativamente el consumo de agua, mejorando su calidad y minimizando el impacto ambiental (Tom *et al.*, 2021).

Estos sistemas incluyen componentes como filtros externos para eliminar sólidos, biofiltros para bacterias nitrificantes, además de elementos más especializados como lámparas de luz ultravioleta (UV) para la esterilización del agua. Aunque requieren de una inversión inicial alta y costos operativos, proporcionan más control y estabilidad del sistema, especialmente en lo que respecta al ciclo del nitrógeno (N) y control de enfermedades (Gallego-Alarcón & García-Pulido, 2017). Sin embargo, los SRA también presentan desventajas, como el suministro de energía el cual debe de ser constante y continuo, la acumulación de fosfatos (PO_4^{3-}) residual provenientes del metabolismo de los organismos, lo que requiere de recambios constantes de agua para mantener la calidad del sistema (Dauda *et al.* 2019).

En este sentido, se han estado desarrollando otras tecnologías para el tratamiento de efluentes acuícolas, como los sistemas SRA acuapónicos, la tecnología biofloc, los humedales artificiales y el uso de microalgas entre otros. Estas nuevas tecnologías buscan la diversificación de especies en los cultivos, que permitan reciclar los nutrientes y aumentar la sustentabilidad y rentabilidad de la industria acuícola (Tom *et al.*, 2021). Actualmente existe un creciente interés en el uso de microalgas, debido a su plasticidad metabólica para asimilar compuestos inorgánicos residuales y utilizarlos como nutrientes en la producción de biomasa (Li *et al.*, 2019).

La biomasa microalgal producida tiene un valor económico significativo, ya que puede ser utilizada como fuente de compuestos bioactivos como proteínas, carbohidratos, ácidos grasos, pigmentos, entre otros. Además de ser necesarios para la alimentación de organismos en etapas larvales y en el desarrollo de moluscos y otras especies durante su ciclo de vida (John *et al.*, 2020; Martínez-Ruiz *et al.*, 2022). La capacidad de las microalgas para asimilar nutrientes como el N (nitrógeno amoniacal total: NAT, nitritos: NO_2^- y nitratos: NO_3^-) y el fósforo (PO_4^{3-}), las convierte en una herramienta clave para la biorremediación de efluentes acuícolas, aumentando la sostenibilidad y el cuidado ambiental de los sistemas de cultivo acuáticos.

1.1 Antecedentes

En los sistemas acuáticos el NAT se produce a través de dos procesos biológicos principales: la

descomposición microbiana de la materia orgánica residual proveniente de los desechos como las heces y restos del sistema trófico, y la excreción branquial de amonio por parte de los peces durante su metabolismo. El NAT existe en equilibrio mediante sus dos formas químicas: amonio ionizado (NH_4^+) y amoníaco no ionizado (NH_3) (Masser *et al.*, 1999).

En este mismo entorno un grupo de bacterias autotróficas, consumen el NAT mediante tres procesos: primeramente, la desnitrificación por bacterias anaeróbicas oxidantes (anammox) presentes en el sedimento, que consumen y transforman el NH_4^+ y NO_2^- a nitrógeno molecular (N_2), liberándolo a la atmósfera. En segundo lugar, las bacterias nitrificantes (*Nitrosomonas*) transforman el NH_4^+ a NO_2^- . En tercer lugar, las bacterias del género *Nitrobacter* convierten el NO_2^- a NO_3^- (Masser *et al.*, 1999).



Figura 1. Ciclo del N en ambientes acuáticos. Imagen elaborada por González-Villagómez (2025).

Este proceso microbiano desempeña un papel fundamental en la transformación del amoníaco, que es una molécula altamente reactiva que puede atravesar las membranas celulares e interferir con el metabolismo de los peces y otros organismos acuáticos, convirtiéndolo en formas menos tóxicas y más estables como el NO_2^- y el NO_3^- (Crab *et al.*, 2007). Estos compuestos inorgánicos residuales junto con los PO_4^{3-} se encuentran disueltos en el medio y son aprovechados por organismos fotosintéticos como las

plantas y el fitoplancton, que regulan la cadena trófica y la producción de oxígeno en los sistemas (Ward, 2013), este conjunto de procesos se conoce como ciclo del N (Figura 1).

El incremento continuo de la producción acuícola intensiva ha generado una creciente preocupación por los impactos ambiental asociados. En sistemas acuícolas, la tasa de conversión alimenticia (TCA) es de aproximadamente de 1:1 a 1:3 kg, alrededor del 36 % del alimento suministrado se excreta en forma de material orgánico (heces y alimento no consumido), mientras que el 75 % del N y P se libera en forma inorgánica en los efluentes a través del metabolismo de los organismos (Gutierrez-Wing & Malone, 2006).

Dauda *et al.* (2019) mencionan que una tonelada de peces independientemente de la especie genera en promedio 0.8 kg de N y 0.1 kg de P residual. Estos nutrientes son vertidos en el ambiente sin un tratamiento adecuado, causando problemas ambientales como la eutrofización de los cuerpos receptores de agua, disminuyendo los niveles de oxígeno y, además, propiciando la transmisión de enfermedades e intoxicación a organismos silvestres y de cultivo, causando pérdidas económicas (Alonso-Fernández *et al.*, 2023). En este sentido la calidad del agua es de suma importancia en los sistemas de producción acuícola tanto para el cuidado del organismo cultivado, así como para minimizar los impactos negativos de los efluentes generados por las granjas.

1.1.1 Biorremediación con microalgas en efluentes acuícolas

En los medios acuáticos existen tres formas para eliminar el NAT producido por los desechos de los organismos: a) mediante microorganismos heterotróficos que transforman la materia orgánica en biomasa bacteriana (relación C:N), b) por bacterias autotróficas (nitrificantes) que transforman compuestos nitrogenados inorgánicos y c) los microorganismos fotoautótrofos que consumen estos compuestos inorgánicos como el N y el P y lo incorporan a su metabolismo como biomasa (Ebeling *et al.*, 2006).

Actualmente se busca el desarrollo y la implementación de otras tecnologías que combinadas puedan mejorar la producción de peces, los costos de producción y el tratamiento de los efluentes. Como es el caso de los sistemas biofloc que utilizan la remoción heterotrófica de los desechos transformándolos en flóculos de biomasa bacteriana y que a su vez pueda ser consumida por los peces (Crab *et al.*, 2012). Otro ejemplo es el uso de sistemas acuapónicos que utilizan los efluentes de los tanques de peces como fertilizantes en los sistemas hidropónicos (Gutiérrez-Muñoz, 2012).

En este contexto, las microalgas son consideradas como una de las fuentes naturales con potencial para remover compuestos orgánicos e inorgánicos disueltos (Alonso-Fernández *et al.*, 2023). Estos organismos unicelulares, absorben C, N y P del medio para su crecimiento y metabolismo; el carbono lo toma directamente del CO_2 atmosférico mediante la fotosíntesis para sintetizar glucosa; el N para la formación de proteínas y ácidos nucleicos, mientras que el P es necesario para producir energía (ATP), para la síntesis de fosfolípidos y, además, forma parte de la estructura del ADN y RNA (Lee, 2008).

Las microalgas son capaces de asimilar el N en sus diferentes formas inorgánicas, a diferencia de las bacterias autótrofas y heterótrofas que solo pueden incorporar formas específicas de este elemento, lo que las vuelve más eficientes, dando como resultado altas concentraciones de biomasa y la producción de oxígeno (O_2) (Ebeling *et al.*, 2006). La forma más reducida de N (NAT) es fácilmente asimilada, mientras que los NO_3^- y NO_2^- , requieren de transportadores específicos de la membrana como: NRT1 (transportador para nitrato), NRT2 (transportador para NO_2^- y NO_3^-) entre otros (Sanz-Luque *et al.*, 2015).

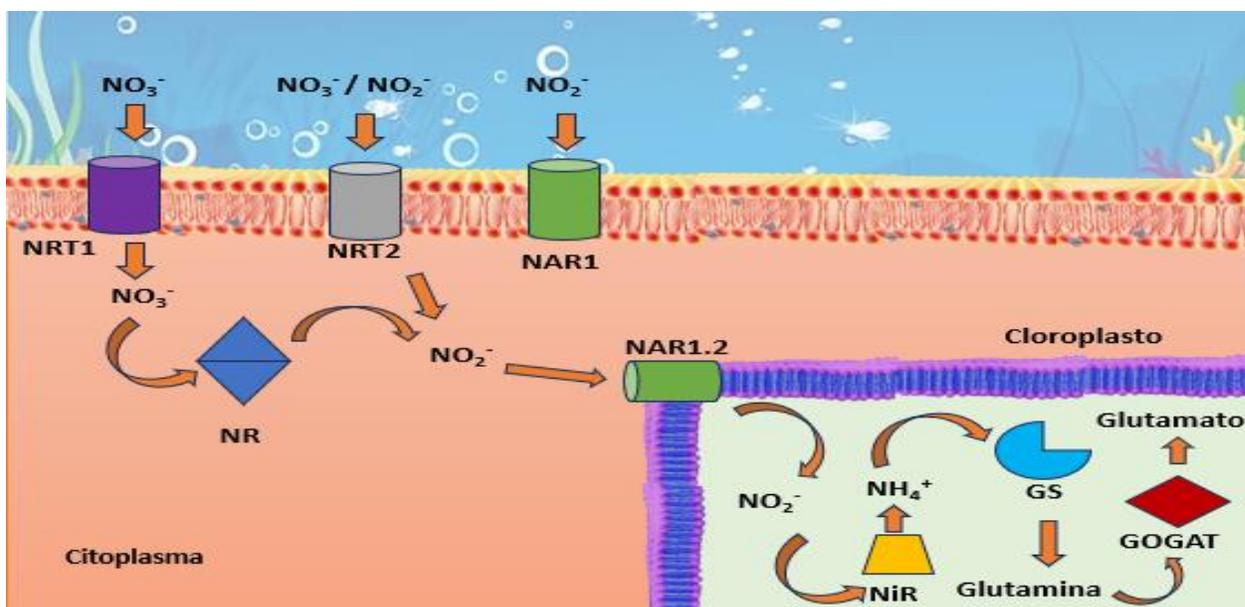


Figura 2. Proceso de asimilación del N por microalgas. Elaborado por González-Villagómez (2025).

El NO_3^- para su asimilación es convertido a NH_4^+ . Primeramente, el NO_3^- es reducido químicamente a NO_2^- en el citosol de la célula por la enzima nitrato reductasa (NR), después el NO_2^- se transporta (NAR1.2) dentro del cloroplasto, donde es reducido a NH_4^+ , por la enzima nitrito reductasa (NiR) para después ser incorporado en forma de aminoácidos mediante las enzimas glutamato sintetasa (GS) y glutamina 2-oxoglutarato aminotransferasa (GOGAT) (Barsanti & Gualtieri, 2014) (Figura 2).

Debido a estas características de asimilar los diferentes compuestos nitrogenados, las microalgas tienen un metabolismo mixotrófico que les permite asimilar carbono inorgánico o proveniente de la materia orgánica, además de su alta tolerancia a factores ambientales y la disponibilidad de nutrientes (Barsanti & Gualtieri, 2014). Por estas características se ha estudiado el uso de las microalgas en el tratamiento de diferentes efluentes industriales, mostrando una gran tolerancia a los diferentes perfiles de aguas contaminadas por diferentes sectores (Li *et al.*, 2019), lo que las hace perfectas para crecer en efluentes acuícolas.

En el estudio de González-Hermoso (2016), utilizó las microalgas *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* y *Selenastrum* sp., cultivadas en un fotobiorreactor, para el tratamiento de los efluentes de un cultivo de tilapia en sistemas de recirculación, teniendo como resultado una alta capacidad de remoción de las diferentes especies químicas del N y el P, sin embargo, las microalgas se vieron afectadas en su densidad a causa de la dinámica en la concentración de nutrientes y la temperatura ambiental. Ramos & Pizarro (2018) utilizaron la microalga *Chlorella vulgaris* para el tratamiento de efluentes del cultivo de dorada (*Seriola lalandi*), en sistemas al interior (condiciones controladas) y al exterior (condiciones fluctuantes) y se observó una eficiencia de remoción de NO_2^- del 91.67% y 88.41%; de NO_3^- de 57.47% y 29.31%; y NAT de 42.22% y en PO_4^{3-} se registró una remoción del 65.78% y 75.78%, respectivamente.

La biorremediación con microalgas es amigable con el ambiente ya que no genera contaminación secundaria, además de que la biomasa microalgal producida puede ser utilizada como materia prima para la extracción de diferentes compuestos de interés económico, alimenticio y fertilizante, lo que puede generar un beneficio económico (Abdelfattah *et al.*, 2022). Por ello, el cultivo de microalgas tiene importancia a nivel industrial, debido a que son una fuente rica en carbohidratos, lípidos (principalmente ácidos grasos poliinsaturados) proteínas y otros metabolitos como pigmentos ficocianina, ficoeritrina, astaxantina, fucoxantina y β -caroteno, entre otros (Sánchez-Angulo *et al.*, 2022). Sin embargo, los tratamientos de efluentes se ven afectados por los diversos factores ambientales, la especie cultivada, así como la variabilidad del contenido de nutrientes en el efluente, afectando también la cantidad y la calidad de la biomasa microalgal (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

1.1.2 *Odontella aurita*

La microalga *Odontella aurita* es una diatomea marina de la clase Bacilariofitas (diatomea céntrica) que se distribuye en todos los océanos (Lavigne *et al.*, 2015), tienen una forma cuadrada o rectangular con una

valva superior y una inferior rodeada por un cinturón, ambas valvas presentan dos prolongaciones anchas y cortas con ocelos en el ápice (Figura 3A). La superficie de la válvula es poroide, la parte media es convexa en el centro y con varias espinas (Figura 3B), las frústulas tienen un tamaño variado entre 25-65 μm de largo y entre 15-40 μm de ancho. Se encuentran formando cadenas de 2 a 6 células, aglomeradas y también solitarias (Figura 3C, D, E). Los aglomerados están formados por células vivas, muertas, detritos, así como la presencia de cristales (Figura 3F).

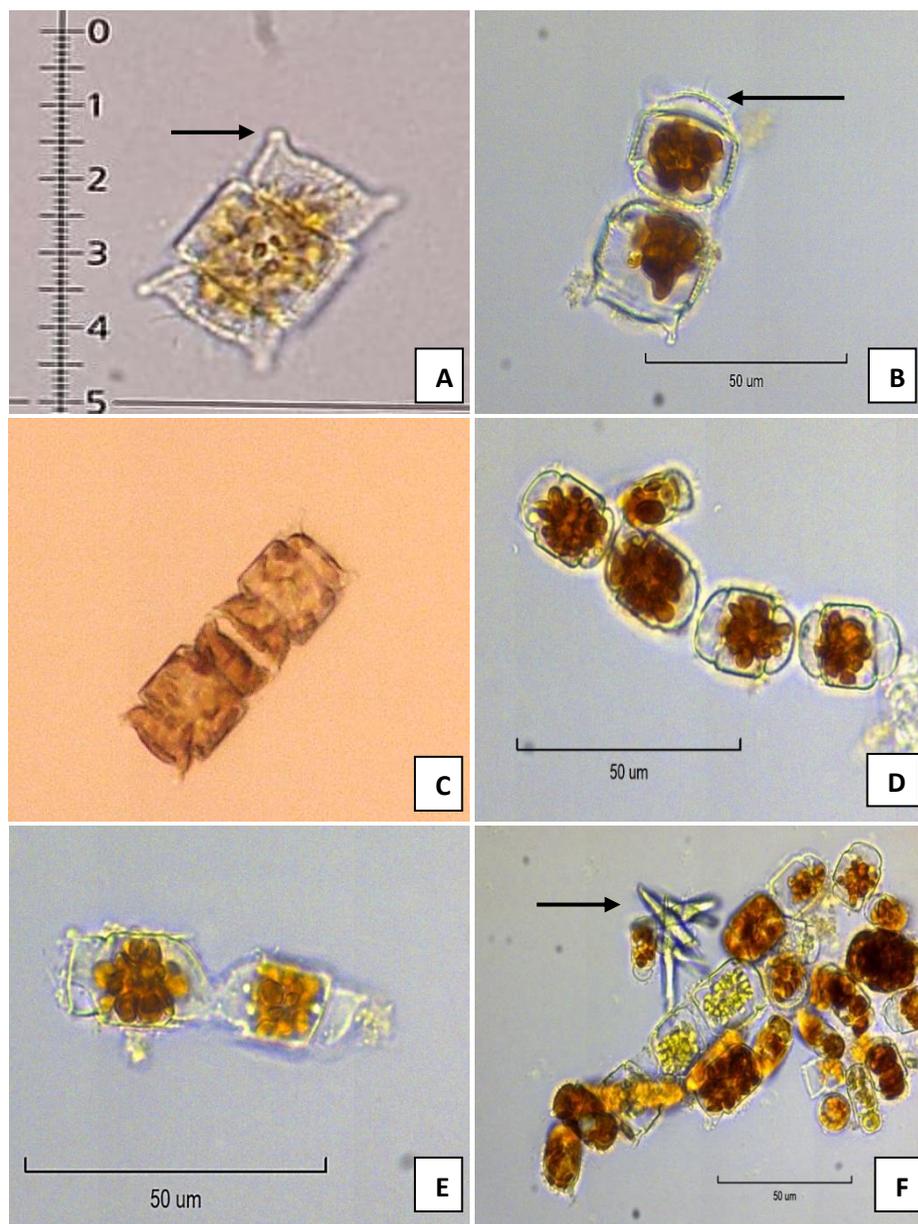


Figura 3. Células de *O. aurita*. A) Ambas valvas presentan dos prolongaciones anchas y cortas con ocelos en el ápice (flecha), unidas por un cinturón (40x). B) La frústula presenta un cinturón entre las dos valvas, pared porosa, presencia de espinas en la cúspide de la copula (flecha). C) Células unidas por los ápices y las espinas centrales (sin escala). D) Cadena de cuatro células. E) Células en división celular. F) Aglomerado celular con diferentes tamaños, detritos y cristales flecha.

Presenta un perfil de lípidos del 19.7 %, del peso seco y una composición rica en ácidos grasos, destacando los altamente insaturados (AGPI) como el ácido eicosapentaenoico (EPA: 20:5n3), además de varios compuestos bioactivos, como pigmentos, fibras y fitoesteroles, que tienen efectos beneficiosos para la salud (Xia *et al.*, 2013a; Sánchez-Angulo *et al.*, 2022) (Tabla 1). Al ser una diatomea bentónica, tiene cantidades representativas del pigmento fucoxantina, además, esta especie almacena almidón en vesículas en forma de un polímero glucano (β -1,3-glucano) con actividad antioxidante llamado crisolaminarina, así como otras sustancias que se acumulan como “gotas de grasa” en su citoplasma (Sánchez-Angulo *et al.*, 2022).

Tabla 1. Composición bioquímica de *O. aurita*. Tomado de Sánchez-Angulo *et al.* (2022).

	% Peso Seco
Proteínas	23±3
Carbohidratos	26±3
Lípidos	38
Ácidos grasos (% del total de ácidos grasos)	
ΣSFA (saturados)	56
ΣMUFA (monoinsaturados)	27
ΣPUFA (poliinsaturados)	16
ΣHUFA (altamente insaturados)	20
EPA (eicosapentaenoico: 20:5n3)	19.3±1.2
ARA (araquidónico: 20:4n3)	0.8±0.05
DHA (docosahexaenoico: 22:6n3)	0.2±0.02
Pigmentos ($\mu\text{g mg}^{-1}$ PS)	
Fucoxantina	5.5±1.2
Clorofila a	13.2±2.2
Luteína	0.2±0.05

Debido a su composición bioquímica, *O. aurita* contiene compuestos con notable actividad biológica. Moreau *et al.* (2006) destacaron los carotenoides extraídos de *O. aurita*, observando un efecto antiproliferativo *in vitro* de células patológicas en cultivos de células broncopulmonares y epiteliales tras la adición de extractos al medio celular. Además, dietas suplementadas con *O. aurita* en ratones, evidenciaron efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos, disminuyendo riesgos asociados al síndrome metabólico (Haimeur *et al.*, 2012; Haimeur *et al.*, 2016).

Por otra parte, la utilización de *O. aurita* en acuicultura se ha estado estudiando recientemente. Zhao *et al.* (2022), evaluaron dietas suplementadas con un 5% de esta diatomea en juveniles de pámpano dorado (*Trachinotus ovatus*), encontrando mejoras significativas en el crecimiento y la capacidad antioxidante de los organismos, debido a la estimulación de la vía de señalización específica. Además, se evidenció un efecto positivo en la salud hepática de *T. ovatus*, lo que sugiere un beneficio integral para el desarrollo y bienestar de esta especie acuícola.

En Francia, el mercado actual de la diatomea *O. aurita* se encuentra clasificado como “nuevo alimento”, por lo que es cultivada continuamente en raceways (estanques con flujo continuo) a escala industrial en la “*Région des Pays de la Loire*” (Pasquet *et al.*, 2014). En México se busca la aprobación, para adquirir el estatus “GRAS” (*generalmente reconocido como seguro*), por lo que el “cultivo de la cepa nativa del estado de Baja California Sur, *O. aurita*, podría ser una alternativa con enfoque sostenible y viable de comercialización” Sánchez-Angulo *et al.* (2022).

1.2 Justificación

En la actualidad el desarrollo de la acuicultura tiene como objetivo generar una producción que sea sostenible y responsable con el ambiente, sin embargo, el agua de los efluentes acuícolas no es tratada eficientemente, ya que contienen gran cantidad de materia orgánica proveniente del alimento y excretas de los organismos, produciendo altos niveles de NAT, PO_4^{3-} y otros compuestos orgánicos e inorgánicos, los cuales tienen que ser eliminados antes de ser desechada al ambiente.

El tratamiento de los efluentes representa un gasto en equipo y personal técnico, por lo que se deben buscar estrategias que minimicen estos compuestos, en este sentido las microalgas han demostrado una buena eficiencia de la remoción de estos contaminantes que son aprovechados como nutrientes e incorporados en su metabolismo para la producción de biomasa.

Esta biomasa microalgal es rica en compuestos metabólicos como polisacáridos, pigmentos, proteínas, lípidos y carbohidratos, entre otros, por lo que pueden ser aprovechadas como un subproducto, ya que tienen un valor comercial en otras industrias, o utilizadas como complemento alimenticio en la dieta de otros organismos acuáticos.

Por lo anterior, en este trabajo se plantea el uso de la microalga *Odontella aurita* para la depuración de los efluentes del cultivo de la lobina rayada (*Morone saxatilis*). *O. aurita* es una diatomea marina reconocida por su capacidad para crecer en ambientes ricos en nutrientes y por su alto contenido de compuestos de interés comercial, como ácidos grasos poliinsaturados, especialmente EPA. Por otro lado, el cultivo de *Morone saxatilis*, una especie carnívora de alto valor comercial genera efluentes con una carga considerable de nutrientes, lo que representa un reto ambiental. El aprovechamiento de estos efluentes como medio de cultivo para microalgas no solo permite reducir su impacto ambiental, sino que también promueve una estrategia de economía circular dentro del sistema acuícola.

1.3 Hipótesis

La microalga *O. aurita*, removerá arriba del 50% de los compuestos nitrogenados (NAT, NO_2^- y NO_3^-) y PO_4^{3-} del agua proveniente del efluente del cultivo de la lobina (*M. saxatilis*).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad biodepuradora y la composición bioquímica de la microalga *Odontella aurita* en agua del efluente del cultivo de lobina rayada (*Morone saxatilis*).

1.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar la densidad celular diaria mediante densidad óptica (DO), peso seco total (PST) y peso orgánico (PO) de la microalga *O. aurita*, cultivada en las diferentes concentraciones del agua del efluente del cultivo de *M. saxatilis*.
- Evaluar la capacidad de remoción de los compuestos nitrogenados (NAT, NO_2^- y NO_3^-) y PO_4^{3-} por la microalga *O. aurita*, cultivada en diferentes concentraciones (100, 75 y 50 %) del agua del efluente del cultivo de *M. saxatilis*.
- Valorar la composición bioquímica (proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos y aminoácidos) de la microalga *O. aurita*, cultivadas en las diferentes concentraciones del agua del efluente del cultivo de *M. saxatilis*.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Cultivo de microalgas

La diatomea *Odontella aurita* fue adquirida en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) con la clave CIBA-103, la cual fue aislada en el año 2019 en Balandra, B.C. Sur (CIBNOR, 2022).

La cepa fue transferida a un matraz Erlenmeyer de 125 mL, con un volumen útil de 50 mL con medio “f/2” de Guillard (1975), y se escaló sucesivamente hasta matraz Fernbach de 2.5 L como inóculo para iniciar los bioensayos correspondientes. El agua de mar utilizada se filtró a 10 μm , 5 μm y 1 μm y se pasó por luz ultravioleta (UV), posteriormente fue esterilizada en autoclave a 121 °C, por 15 min y 15 lb de presión.

2.2 Diseño experimental

Se estudió la composición bioquímica y la remoción de N y P por la diatomea *O. aurita* cultivada en agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada (*Morone saxatilis*), mantenidos en un sistema de recirculación acuícola (SRA) en el área de ecofisiología del laboratorio de peces marinos del CICESE (bajo la responsabilidad de la Dra. Mónica Hernández). El tanque tiene un volumen de 7000 L de agua de mar y cuenta con un filtro mecánico y un biofiltro (bacterias nitrificantes) de cuentas de plástico, al cual se le hace un retrolavado cada tercer día (Figura 4). El tanque cuenta una densidad de 206 organismos adultos, a los que se les proporcionó una ración diaria de 700 g del alimento EWOS, Pacífico Terra Summer, con un tamaño de pellet de 5mm. El alimento tiene una composición de 45 % de proteína y un 10 % de fósforo.

Para este trabajo se dejaron acumular los compuestos inorgánicos del sistema durante siete días sin hacer recambio de agua, por lo que fue necesario añadir al sistema bicarbonato de sodio, para evitar la caída del pH. Las muestras de agua de los efluentes fueron tomadas directamente de la columna de agua del tanque; no se realizó ningún tratamiento como esterilización o filtración a las muestras.

El diseño experimental fue de 4x3, con el cual se evaluó la capacidad biodepuradora de *O. aurita* en diferentes concentraciones del agua del efluente (50%, 75% y 100 %) y un tratamiento control con medio

“f” de Guillar (1975); cada tratamiento tuvo tres replicas. Los tratamientos al 50% y 75% del efluente se diluyeron con agua de mar filtrada a 10, 5 y 1 μm y luz pasada por ultravioleta (UV).



Figura 4. Sistema SRA para el cultivo de lobina rayada *Morone saxatilis* en las instalaciones del laboratorio de peses marinos del CICESE (Hernández-Rodríguez, 2024).

Los cultivos se realizaron en matraces Fernbach de 2 L, en un sistema estático, con aireación constante, una intensidad de luz de $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (seleccionada con base en estudios previos realizados en el laboratorio) y una temperatura de $21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 5). Para medir la remoción de nutrientes (NAT , NO_3^- , NO_2^- y PO_4^{3-}), de cada unidad experimental se realizaron muestreos diarios, y cada dos días para la composición bioquímica (proteínas, carbohidratos y lípidos). El ensayo tuvo una duración de siete días.



Figura 5. Cultivo de *O. aurita* en cuatro tratamientos al 100, 75 y 50% del efluente de lobina rayada (*Morone saxatilis*) y un control con medio “f” de Guillard (1975), mantenidos en un sistema estático.

2.3 Curva de crecimiento

Diariamente desde el día cero (Inoculación) hasta el día siete, se midió la densidad óptica con placas multipozos (96) en un lector espectrofotométrico Beckman Coulter AD 200. La longitud de onda de máxima absorción fue determinada previamente mediante un barrido del espectro visible (400 a 800 nm). Para el inicio del cultivo, se utilizó un inóculo equivalente al 10 % del volumen total del medio, el inóculo fue previamente cultivado en garrafones con 10 L de volumen útil con medio “f/2” bajo una intensidad luminosa de $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

2.4 Peso seco total y orgánico

Para la determinación de la biomasa generada con base en el peso seco total (PST) y peso orgánico (PO), al día dos, cuatro y seis del cultivo, se recolectaron 10 mL de microalgas de cada unidad experimental. Las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 1.2 μm de retención de partículas y 47 mm de diámetro, previamente lavados con agua destilada, incinerados en un horno a 500 °C y pesados en una balanza analítica. Al filtrar las muestras de microalgas, se lavaron con 50 mL de formato de amonio al 3 % para eliminar las sales. Los filtros con la muestra se colocaron en una estufa a 75 °C hasta obtener el peso seco contante (PST), posteriormente se calcinaron en una mufla a 500 °C por 12 h para cuantificar las cenizas (PC), el PO se obtuvo con la diferencia entre el PST y las cenizas (Sorokin, 1973). La tasa específica de crecimiento (μ) fue calculada con la ecuación descritas por Guillard (1975) utilizando el peso seco total.

$$\text{PST } (\mu\text{g mL}^{-1}) = \frac{\text{PFM} - \text{PF}}{\text{VF}} \quad (1)$$

$$\text{PC } (\mu\text{g mL}^{-1}) = \text{PFC} - \text{PF} \quad (2)$$

$$\text{PO } (\mu\text{g mL}^{-1}) = \text{PST} - \text{PC} \quad (3)$$

Donde:

PST= peso seco total de las microalgas

PFM= peso seco del filtro con microalgas

PF= peso Filtro

VF= volumen de muestra filtrado

PC= peso de cenizas

PFC= Peso del filtro con cenizas

PO= peso orgánico

Tasa de crecimiento específica (μ):

$$\mu = \frac{\log_2 X_2 - \log_2 X_1}{T_2 - T_1} \quad (4)$$

Donde:

μ = tasa de crecimiento en días

X_1 y X_2 = concentración celular (PST) inicial y final

Log 2 = Logaritmo base 2 de X_2 y X_1

T_1 y T_2 = tiempo inicial y final en días

2.5 Cuantificación de compuestos inorgánicos (PO_4^{3-} , NAT, NO_2^- y NO_3^-)

Para el análisis y cuantificación de los nutrientes se recolectaron muestras de 10 mL de los cultivos de microalgas para cada uno de los tratamientos, se centrifugaron a 4900 rpm por 5 min y el sobrenadante obtenido se almacenó a -20°C ; dentro de las primeras 24 h se realizaron los análisis de nutrientes.

Para el análisis de NAT se empleó el método azul de indofenol descrito por Solórzano (1969). En la cuantificación de NO_2^- se usó la metodología descrita por Collos *et al.* (1999). Los PO_4^{3-} se analizaron con la técnica descrita por Strickland & Parsons (1972). Para estos análisis se realizaron curvas de calibración para la cuantificación utilizando como estándar: cloruro de amonio (NH_4Cl), nitrito de sodio (NaNO_2) y fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4). De cada una de las muestras obtenidas se tomaron 200 μL , los cuales se colocaron en una microplaca de 96 pozos, siguiendo la metodología descrita para cada compuesto. Las absorbancias se midieron en un lector de placas (Beckman Coulter AD 200) a longitudes de onda de 640 nm (NAT), 543 nm (NO_2^-) y 885 nm (PO_4^{3-}).

La medición de NO_3^- se realizó con la metodología descrita por Tsikas (2005), se cuantificó con una curva de calibración usando nitrato de potasio (KNO_3) como estándar. Las muestras obtenidas se leyeron a una absorbancia de 225 y 270 nm en un espectrofotómetro Hach 5000.

2.5.1 Eficiencia de remoción

Al final de experimento se calculó la eficiencia de remoción, comparando la concentración inicial al día cero y la concentración final al día siete de cada compuesto inorgánico.

$$\text{Remoción (\%)} = \frac{\text{Concentración inicial} - \text{Concentración final}}{\text{Concentración inicial}} \times 100 \quad (5)$$

También se calculó la tasa de remoción ($\text{mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$) para evaluar la velocidad de remoción por día entre tratamientos.

$$\text{Tasa de remoción} = \frac{\text{Concentración inicial} - \text{Concentración final}}{\text{tiempo}} \quad (6)$$

2.6 Composición Bioquímica

Para evaluar la composición bioquímica, se cosecharon 10 mL de muestra de cada unidad experimental los días dos, cuatro y seis del cultivo, se centrifugaron a 4700 rpm por 15 min, el sobrenadante se usó para los análisis de remoción de nutrientes y el paquete celular se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para los análisis de composición bioquímica.

2.6.1 Proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó mediante el método espectrofotométrico de Lowry *et al.* (1951). Para la extracción se utilizó hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N. Se elaboró una curva de calibración utilizando albumina de suero bovino (BSA) como estándar, en un rango de 0 a $150\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Las mediciones de absorbancia se llevaron a cabo a 750 nm, usando una microplaca de 96 pozos y un lector de placas Beckman Coulter AD 200.

2.6.2 Lípidos

Para la cuantificación de lípidos se realizó la extracción siguiendo el protocolo de Bligh & Dyer (1959), modificado por Cequier-Sánchez *et al.* (2008), utilizando diclorometano: metanol (2:1), y para la determinación se utilizó el método de Pande *et al.* (1963). La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración con tripalmitina ($0\text{ a }1\text{ mg mL}^{-1}$). La absorbancia se leyó a 590 nm en microplaca de 96 pozos y un lector de placas Beckman Coulter AD 200.

2.6.3 Carbohidratos

En la extracción de carbohidratos se utilizó ácido sulfúrico 1 M (Whyte, 1987), y para su determinación cuantitativa se usó el método de Dubois *et al.* (1956). Se realizó una curva de calibración con glucosa anhidra (0- 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$). La absorbancia se leyó a 485 nm en microplaca de 96 pozos y un lector de placas Beckman Coulter AD 200.

2.6.4 Aminoácidos (AA)

Al día 12, se recolectó la biomasa final de cada unidad experimental, la cual se centrifugó a 4000 rpm por 5 min y se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se liofilizó en un equipo Labconco de 6L. Previo a la extracción de los aminoácidos (AA), se realizó un desengrasado de las muestras para evitar interferencia por los lípidos presentes, para lo cual se siguió la metodología de Folch *et al.* (1957), modificada por Cequier-Sánchez *et al.* (2008), utilizando una mezcla de diclorometano: metanol (2:1). Posteriormente, la extracción se llevó a cabo con ácido clorhídrico fenólico (HCl 6N/fenol 0.1%), y las muestras fueron incubadas a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h.

La identificación y cuantificación de los aminoácidos para cada tratamiento se realizó mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés), marca Agilent 1260, equipado con una columna Zorbax Eclipse AAA (Cat: 963400-902), 4.5 mm x 150 mm, 3.5 μm de poro. Para la fase móvil se utilizó una mezcla de acetonitrilo, metanol y agua grado HPLC (ACN:MeOH:H₂O). Se utilizó una curva estándar de una mezcla de 17 aminoácidos (Agilent 5061-3330). La inyección de la muestra (5 μL) se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo proporcionado por Agilent Technologies.

2.6.5 Ácidos Grasos (AG)

Para el análisis de los ácidos grasos, al igual que el de AA, se utilizó la biomasa cosechada al día 12. Primeramente, se realizó la extracción de los lípidos totales con diclorometano: metanol (2:1 v/v) (Folch *et al.*, 1957 modificado por Cequier-Sánchez *et al.*, 2008), las muestras se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min, se recuperó el sobrenadante y se evaporó con N gaseoso. Posteriormente se realizó la saponificación con KOH 0.3 N disuelto en metanol al 90%, nuevamente se centrifugó y el sobrenadante se evaporó.

A continuación, se realizó una metilación con trifloruro de boro ($\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ al 14 % en metanol). Las muestras evaporadas con N gaseoso, se resuspendieron con hexano grado HPLC y se inyectaron $2 \mu\text{L}$ a un cromatógrafo de gases (CG System, Agilent Technologies 7890A), equipado con una columna Zorbax de $25\text{mm} \times 320\text{mm}$. Para la fase móvil se utilizó N de ultra alta pureza (99.99 %) con un flujo de 3 mL min^{-1} . La temperatura inicial fue de $120 \text{ }^\circ\text{C}$, con aumentos de $9 \text{ }^\circ\text{C por min}$, hasta llegar a $190 \text{ }^\circ\text{C}$, después se incrementó $3 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta $230 \text{ }^\circ\text{C}$. Para la identificación y cuantificación se realizó una curva estándar con una mezcla de ácidos grasos (FAME mix, SUPELCO, 47885-U), como referencia se utilizaron los tiempos de retención de los ácidos grasos obtenidos con la curva y comparados con los de las muestras analizadas.

2.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 25. Se evaluaron los supuestos de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk y de homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene, considerando un nivel de significancia de 0.05.

Para analizar la interacción del crecimiento de *O. aurita* en función de la densidad óptica (DO_{675}) a lo largo del tiempo entre tratamientos, se empleó un análisis de covarianza (ANCOVA) utilizando el tiempo como covariable, seguido de una prueba post hoc de Tukey.

Las variables de peso seco total (PST) y peso orgánico (PO) fueron analizadas mediante ANOVA de un factor, evaluando diferencias entre tratamientos en cada día de muestreo (días 2, 4 y 6), así como entre días dentro de cada tratamiento. Cuando los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad, se aplicó el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de una prueba post hoc de Dunn.

Para las concentraciones de NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , se utilizó un análisis de medidas repetidas para evaluar la variación a lo largo del tiempo. Al no cumplirse los supuestos de normalidad en estas variables, se aplicó el análisis no paramétrico de Friedman. Para evaluar la tasa de remoción (TR) entre tratamientos se realizó un ANOVA de un factor seguido de una prueba post hoc de Tukey.

En cuanto a la composición bioquímica (porcentajes de proteínas, lípidos y carbohidratos), los datos fueron transformados mediante logaritmo natural para cumplir con los supuestos del análisis. Posteriormente, se aplicó un ANOVA para comparar los tratamientos en cada día, así como para evaluar diferencias entre días

dentro de cada tratamiento. En los casos donde no se cumplió normalidad, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, seguido de una prueba post hoc de Dunn.

Finalmente, para los datos de aminoácidos y ácidos grasos, debido a la pérdida de algunas réplicas y a la falta de normalidad, se aplicó directamente el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para detectar diferencias entre tratamientos.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Densidad óptica

A través del análisis de absorbancia en el espectro visible (Figura 6), se logró determinar la longitud de onda de máxima absorción correspondiente a *O. aurita* en diversas concentraciones del inóculo. Los resultados indicaron que la longitud óptima para la medición fue de 675 nm, la cual se estableció como referencia para evaluar el crecimiento de la microalga a lo largo del experimento.

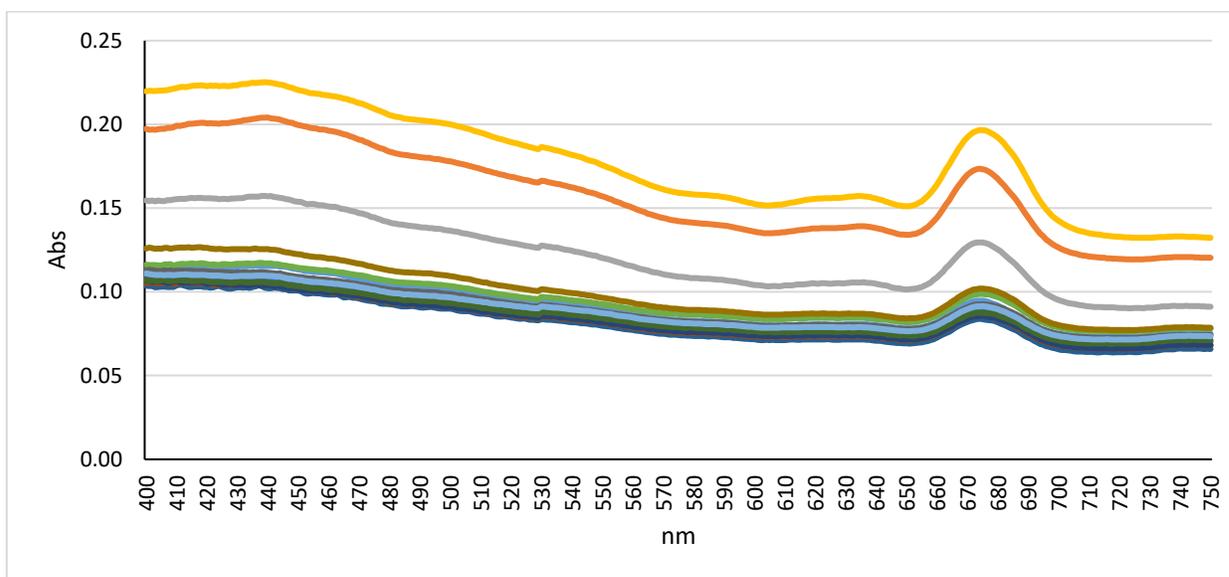


Figura 6. Barrido del espectro visible (400 – 750 nm) de *O. aurita* con diferentes concentraciones de inóculo para determinar la longitud de onda de máxima absorción.

En la figura 7, se muestra el crecimiento de *O. aurita* a través del tiempo en los diferentes tratamientos, en los cuales se observa que, al finalizar el experimento, en el control ("F") se obtuvo la mayor absorbancia ($DO_{675} = 0.10$), seguido del tratamiento con el 50 % del efluente con una DO_{675} de 0.083. Mientras que con los tratamientos de mayor concentración del efluente (75% y 100 %) se obtuvieron los valores más bajos de DO_{675} con 0.069 y 0.073 respectivamente.

El análisis de ANCOVA, considerando el tiempo como una covariable, muestra un efecto significativo entre los tratamientos a través del tiempo ($p < 0.05$). La densidad celular en el control fue significativamente

mayor que en los tratamientos del 50, 75 y 100 % del efluente, mientras que entre estos tres tratamientos no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

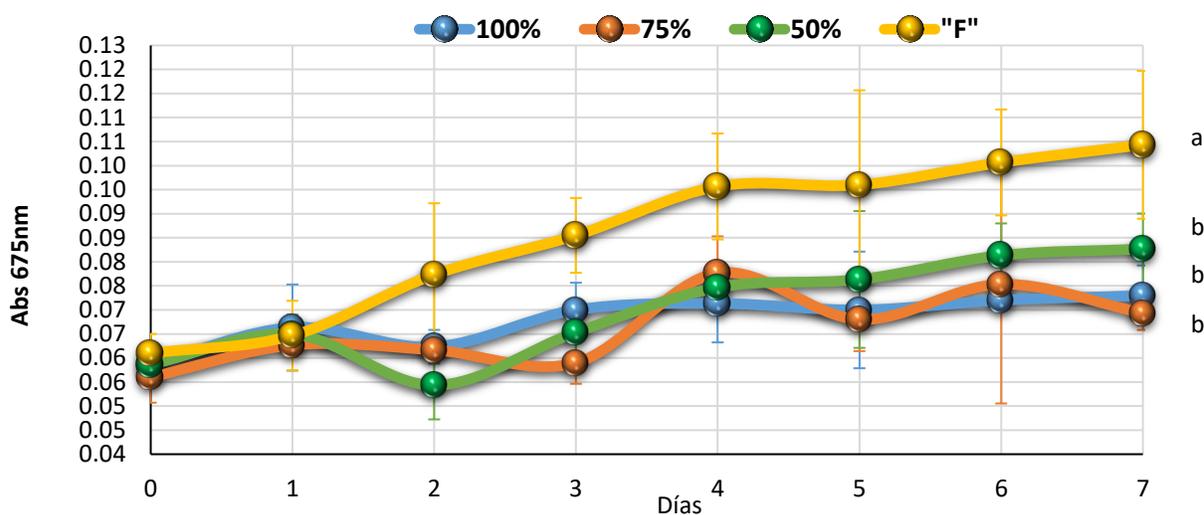


Figura 7. Densidad celular de *O. aurita* medida en unidades de absorbancia (675nm) en diferentes tratamientos con efluente del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75, 50 % y control "F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar ($n=3$). Las letras representan las diferencias significativas ($p < 0.05$) ($a > b$).

3.2 Peso seco total (PST) y peso orgánico (PO)

En la figura 8A se presenta el crecimiento de *O. aurita*, evaluado con base en su peso seco total (PST). Al comparar los diferentes tratamientos a lo largo del tiempo, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el PST entre los tratamientos en los días dos, cuatro y seis. En el segundo día del cultivo, el PST del control fue superior alcanzando $757 \mu\text{g mL}^{-1}$, en comparación con el tratamiento del 50% del efluente, que mostró un PST de $624 \mu\text{g mL}^{-1}$. En relación con los tratamientos del 75 y 100 %, no se encontraron diferencias significativas.

Para el cuarto día, el control continuó mostrando un PST mayor, con $874 \mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que los tratamientos del 75 y 100 % presentaron un promedio de $680 \mu\text{g mL}^{-1}$. Por otro lado, el tratamiento del 50 % de efluente no mostró diferencias significativas con respecto a ningún de los tratamientos con un PST de $728 \mu\text{g mL}^{-1}$. Al llegar al día seis del cultivo, tanto el tratamiento del 50 % como el control exhibieron una mayor biomasa, con un PST promedio de $856 \mu\text{g mL}^{-1}$, en comparación con el tratamiento del 100 %, con un PST de $696 \mu\text{g mL}^{-1}$. Por su parte, el tratamiento del 75 % no tuvo diferencias significativas en el PST con los otros tratamientos con un valor de $756 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($p > 0.05$).

En el análisis de los resultados del PST obtenidos en cada tratamiento a lo largo del tiempo, se observó que en el tratamiento con el 75 % no hubo diferencias entre los días dos y cuatro. Sin embargo, se detectó un aumento significativo en el PST del día dos al seis de 670.5 a 756 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, y una tasa máxima de crecimiento de 0.38 div día^{-1} (Tabla 2). El tratamiento del 50 % también mostró una diferencia significativa del día dos al seis (624 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 860 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente) y una tasa máxima de crecimiento de 0.49 div día^{-1} . Por otro lado, el tratamiento control y el del 100 %, mantuvieron un PST promedio de 827 y 679 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente durante el cultivo y una tasa de crecimiento máxima de 0.44 (control) y 0.40 div día^{-1} (100 %).

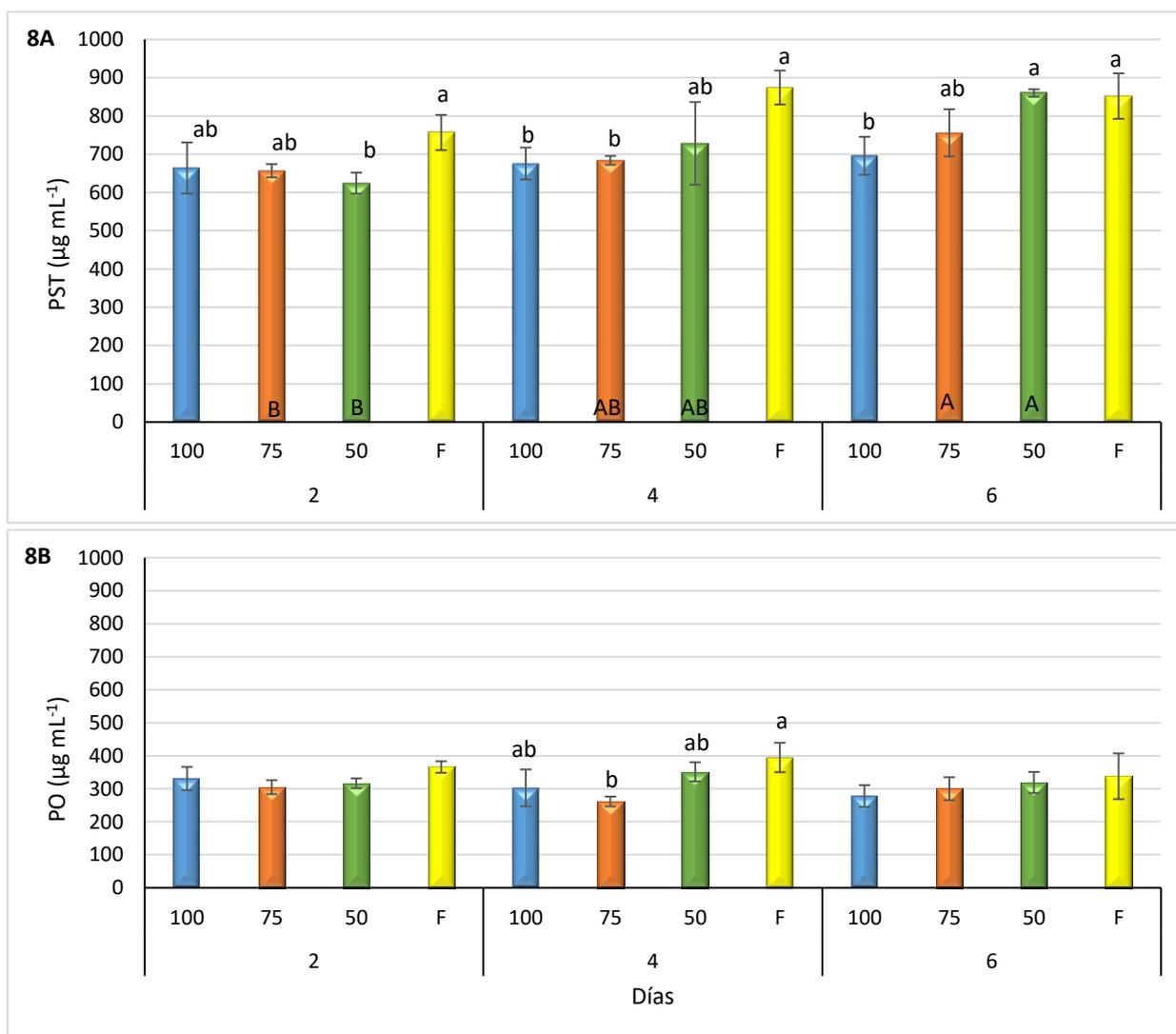


Figura 8. A) Peso seco total (PST $\mu\text{g mL}^{-1}$) y **B)** Peso orgánico (PO $\mu\text{g mL}^{-1}$) de *O. aurita* en diferentes tratamientos con efluente del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75, 50 % y control "F") de los días 2, 4 y 6. Las barras representan \pm la desviación estándar de la media ($n=3$). Las letras muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos ($a > b$) y las diferencias para cada tratamiento a través de los días (A > B).

En cuanto a la concentración de biomasa de *O. aurita*, en el peso orgánico (PO) (Figura 8B), los resultados muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos al cuarto día del cultivo. En este punto, el PO del tratamiento control presentó un PO mayor de 395 mg L^{-1} en comparación con el tratamiento del 75 % con un valor de $261 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. En contraste, no se detectaron diferencias en el PO entre los tratamientos del 50 y 100 % con un PO promedio de $328 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Por otro lado, al día dos y seis no hubo ningún cambio significativo en el PO entre los diferentes tratamientos, con un PO promedio de $303 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ y $309 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente.

A través del tiempo, no se registraron aumentos significativos en la biomasa microalgal para ninguno de los tratamientos ($p > 0.05$), siendo el tratamiento control el que presentó el mayor PO, alcanzando $366 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, seguido de los tratamientos del 50 y 100 % con promedios de PO de 326 y $304 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente. Mientras que el tratamiento del 75 % tuvo el PO promedio más bajo con $289 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0.05$).

Tabla 2. Tasa de crecimiento promedio (μ : div día⁻¹) con base en el peso seco total (PST) de *O. aurita* en tres diferentes concentraciones del efluente (100, 75 y 50 %), del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* y como control el medio "F".

Tasa de crecimiento (μ : División día ⁻¹) Tratamientos con efluente				
Día	100%	75%	50%	"F"
1	-0.55	-0.20	-0.12	0.07
2	0.40	0.01	0.11	0.40
3	-0.39	0.0	-0.34	-0.34
4	0.26	-0.05	0.40	0.44
5	0.02	0.38	-0.01	-0.20
6	-0.14	-0.18	-0.13	-0.02
7	0.39	0.30	0.17	0.1

3.3 Concentración residual de nutrientes en el cultivo de *O. aurita*

3.3.1 Nitratos

En la Figura 9 se muestra el NO_3^- residual en los cultivos con los diferentes tratamientos. Al inicio del experimento, el efluente al 100 % mostró la mayor concentración de NO_3^- con 163.6 mg L^{-1} ($p < 0.05$), mientras que el control (medio "F") y el efluente al 75% presentaron una concentración promedio de 130 mg L^{-1} . Cabe destacar que el medio "F" utilizado contiene una concentración teórica de NO_3^- de 110 mg L^{-1} .

¹, cercano a los valores iniciales observados en el control. Por otro lado, el efluente al 50% presentó la menor concentración inicial de NO_3^- con 98.3 mg L^{-1} ($p < 0.05$).

El NO_3^- residual en los tratamientos al 100 y 75 % del efluente, no presentó variaciones significativas a través del tiempo, mientras que en los tratamientos del 50 % y control la concentración fue disminuyendo (Figura 9). Al finalizar el experimento (día 7), se observó que el NO_3^- residual en el tratamiento con el 100 % del efluente fue mayor ($p < 0.05$), con 155 mg L^{-1} , seguido del tratamiento con el 75 % del efluente con 118 mg L^{-1} ($p < 0.05$). Por otra parte, en los tratamientos del 50 % y el control ("F") se encontró una menor concentración residual de 64.6 y 55.6 mg L^{-1} respectivamente.

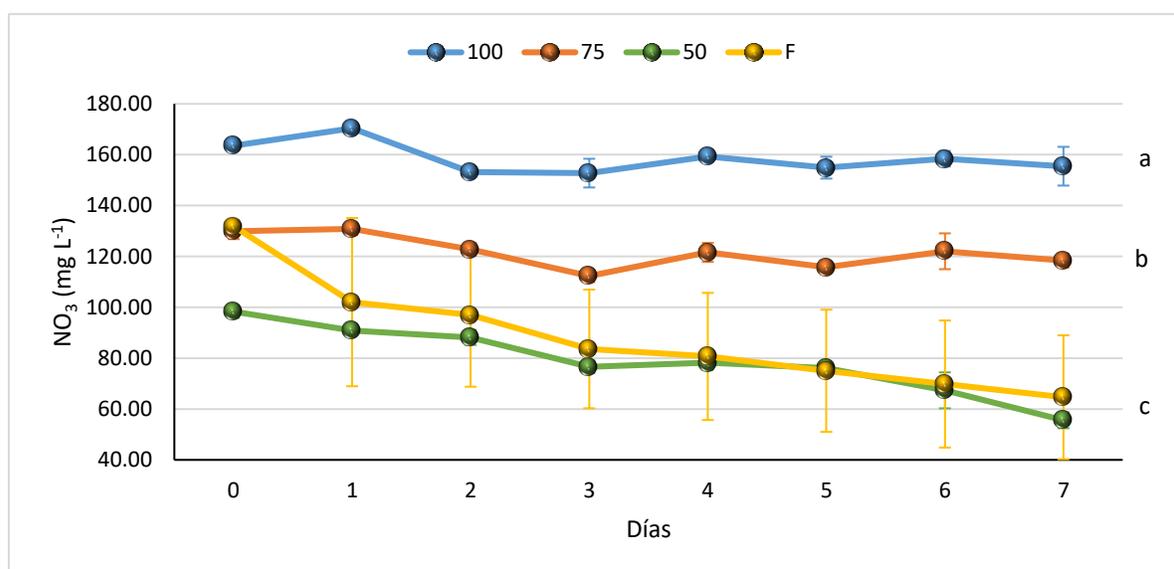


Figura 9. Concentración de NO_3^- (mg L^{-1}) a lo largo del tiempo (días) en el cultivo de *O. aurita* en diferentes concentraciones del efluente del cultivo de *M. saxatilis* (100, 75, 50 %) y tratamiento control ("F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar ($n=3$). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos ($a > b > c$).

3.3.2 Nitritos

En la Figura 10 se muestra la concentración residual de NO_2^- en el cultivo de *O. aurita* a lo largo del tiempo. Es importante destacar que el tratamiento control (medio "F"), no contiene NO_2^- en su formulación. En los tratamientos al 100, 75 y 50% del efluente las concentraciones iniciales fueron de 0.54 , 0.42 y 0.31 mg L^{-1} respectivamente.

En todos los tratamientos con el efluente, se observó una disminución de la concentración residual de NO_2^- desde el día cero al día dos, seguida de un ligero aumento al día tres y una disminución gradual a partir del

día cuatro. Para el día siete, los tratamientos con efluente presentaron una concentración promedio de NO_2^- fue de 0.03 mg L^{-1} . En contraste, en el tratamiento control se observó un incremento a partir del día cinco, alcanzando un valor de 0.12 mg L^{-1} al día siete (Figura 10). La concentración residual de NO_2^- en el cultivo de *O. aurita* varía significativamente a través del tiempo ($p < 0.05$), mostrando una tendencia general hacia la disminución del compuesto en el medio.

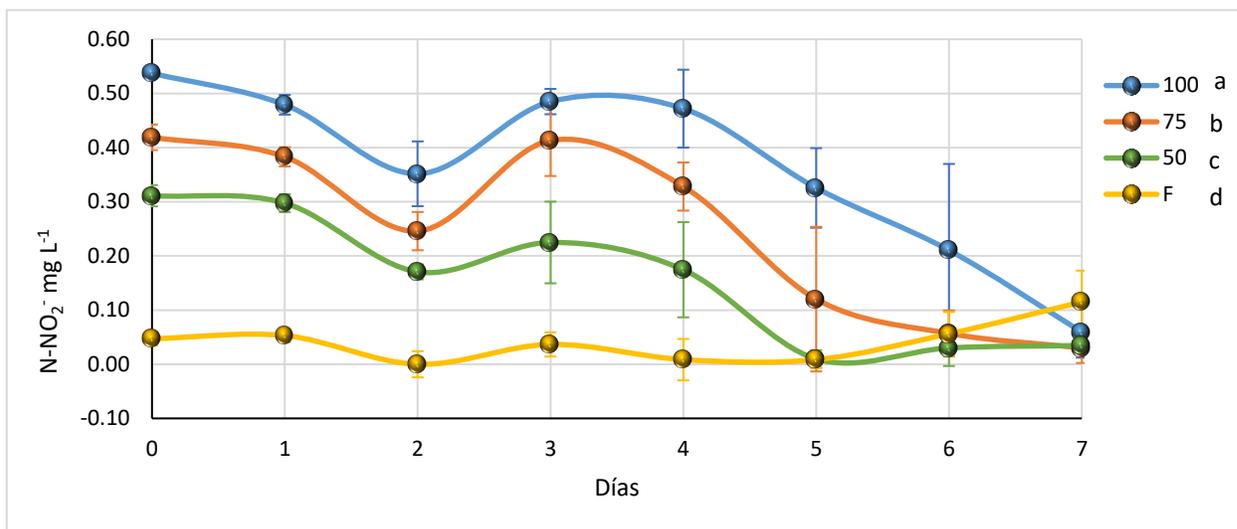


Figura 10. Concentración de NO_2^- (mg L^{-1}) a lo largo del tiempo (Días) por *O. aurita* en diferentes concentraciones del efluente del cultivo de *M. saxatilis* (100, 75, 50 %) y tratamiento control ("F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar ($n=3$). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos ($a > b > c > d$).

3.3.3 Fosfatos

En la figura 11 se presenta los resultados la concentración residual de PO_4^{3-} por parte de *O. aurita* a lo largo de siete días de cultivo. Al inicio del ensayo, el tratamiento control presentó la menor concentración de PO_4^{3-} , con $5.5 \mu\text{mol L}^{-1}$, mientras que los tratamientos con el efluente 100, 75 y 50 % tuvieron concentraciones mayores 17.3 , 14.6 y $11.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente.

En general, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la concentración residual de PO_4^{3-} entre los tratamientos, con una tendencia a la disminución de este compuesto a través del tiempo. En el control ("F"), a partir del día cuatro se encontró la mínima concentración ($0.15 \mu\text{mol L}^{-1}$), hasta llegar a cero concentraciones al día siete, el mismo comportamiento se registró en el tratamiento del 50 %. Por otro lado, el tratamiento del 100 % presentó una concentración final de PO_4^{3-} residual de $10.62 \mu\text{mol L}^{-1}$, seguido del tratamiento al 75 % con $6.43 \mu\text{mol L}^{-1}$.

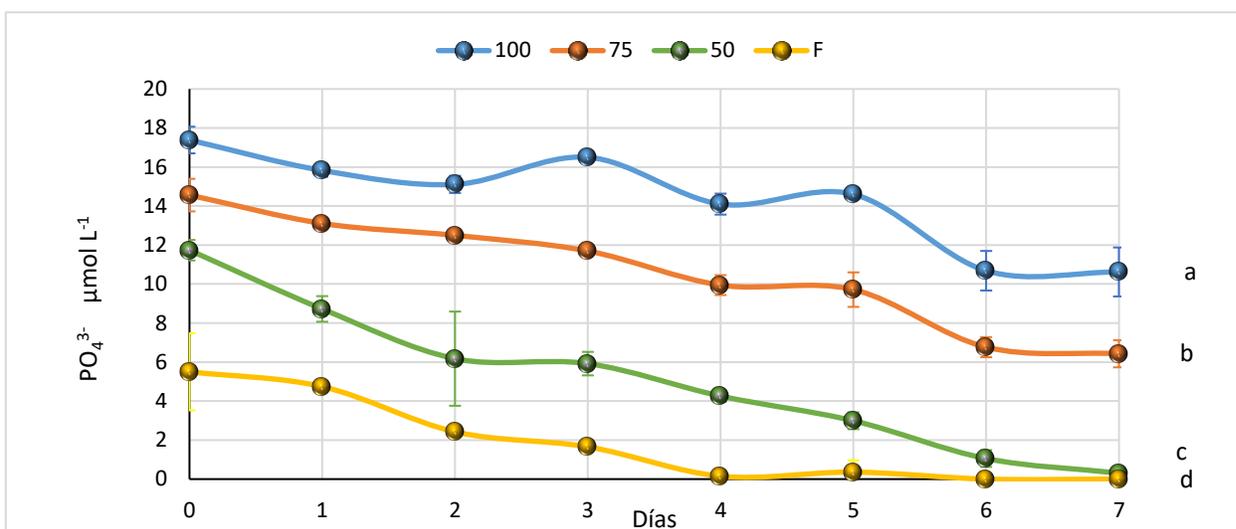


Figura 11. Concentración de PO_4^{3-} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) a lo largo del tiempo (Días) por *O. aurita* en diferentes concentraciones del efluente del cultivo de *M. saxatilis* (100, 75, 50 %) y tratamiento control ("F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar ($n=3$). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos (a > b > c > d).

3.4 Remoción de nutrientes por *O. aurita*

En la tabla 2 se presenta el porcentaje de remoción por *O. aurita* al final del experimento (día siete), de cada uno de los compuestos inorgánicos en los cultivos con los diferentes tratamientos. En el caso del NAT, no fue detectado en el efluente, esto pudiera ser a la eficiencia del biofiltro del sistema de recirculación, tampoco se encontró en el control debido a que no presenta amonio en su formulación.

Tabla 3. Remoción de NO_3^- , NO_2^- y PO_4^{3-} por *O. aurita* en tres tratamientos con diferentes concentraciones del efluente del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50 %) y el control ("F"). Concentración inicial y final (mg L^{-1}), porcentaje de remoción (%) y la tasa de remoción TR ($\text{mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$). Los datos se presentan como promedio ($n=3$). Las letras en exponente indican diferencias significativas (a > b > c).

Compuestos inorgánicos	Tratamientos con efluentes				
	100 %	75 %	50 %	"F"	
N- NO_3^- (mg L^{-1})	inicial	163.62	129.94	98.31	131.86
	final	155.5	118.4	55.6	64.6
	% remoción	5.0	9.0	43.4	51.0
	TR	1.2 ^c	1.6 ^c	6.1 ^b	9.6 ^a
N- NO_2^- (mg L^{-1})	inicial	0.54	0.42	0.31	0.05
	final	0.06	0.03	0.03	0.12
	% remoción	88.9	92.9	90.3	-
	TR	0.07 ^a	0.06 ^b	0.04 ^b	-0.01 ^c
PO_4^{3-} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Inicial	17.4	14.6	11.7	5.5
	Final	10.62	6.43	0.31	0.00
	% remoción	39.0	56.0	97.4	100.0
	TR	1.0 ^{ab}	1.2 ^{ab}	1.6 ^a	0.8 ^b

En el tratamiento control, se observó que los NO_3^- presentaron el mayor porcentaje y tasa de remoción con el 51 % y $6.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ respectivamente ($p < 0.05$), seguido del 50 % del efluente con una remoción del 43.4 % y una tasa de $6.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ($p < 0.05$). Por otro lado, los tratamientos del 100% y 75 % solo lograron remover el 5 % y el 9 % del NO_3^- , con una tasa del 1.2 y $1.6 \text{ mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ respectivamente.

En cuanto a los NO_2^- , los tratamientos con efluente al 75 %, 50 % y 100 % mostraron una remoción promedio del 90 %. El tratamiento con el 100 % del efluente presentó la mayor tasa de remoción, con un valor de $0.07 \text{ mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ($p < 0.05$). En contraste, en el tratamiento control se observó un aumento en la concentración de NO_2^- , de 0.05 a 0.12 mg mL^{-1} , lo cual sugiere la posible actividad de bacterias nitrificantes, ya que el cultivo no era axénico.

En el caso de los PO_4^{3-} , los tratamientos del 50 % y el control tuvieron una remoción promedio de 98%, seguido del tratamiento al 75 % con un 56.0 %, mientras que en el tratamiento con el 100 % del efluente se alcanzó una remoción del 39.0 %. Las tasas de remoción de PO_4^{3-} variaron de 0.8 y $1.16 \text{ mg L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ sin diferencias significativas en entre tratamientos.

3.5 Composición bioquímica

3.5.1 Proteínas

En la figura 12 se muestra el porcentaje de proteínas de *O. aurita* a los días dos, cuatro y seis de cultivo bajo los diferentes tratamientos. Al cuarto día, se observó que el control y el tratamiento con 75 % de efluente presentaron los mayores contenidos de proteínas, con un promedio de 7.6 %, seguido por el tratamiento con 100 %, que alcanzó un 6.2 %. El tratamiento con 50 % mostró la menor concentración, con un valor de 5 % ($p < 0.05$).

En la comparación del contenido de proteínas de *O. aurita* a través del tiempo, se puede observar que con el tratamiento del 100 % del efluente y el control, la concentración se mantuvo constante, con un promedio del 5.8 % y 6 % respectivamente. En el tratamiento del 75 %, al cuarto día se tuvo la mayor concentración (7.4 %) y el menor porcentaje se obtuvo al sexto día (4.8 %). Con el tratamiento al 50 %, se observó un incremento significativo en el porcentaje de proteína al sexto día de 5.0 a 6.6 %.

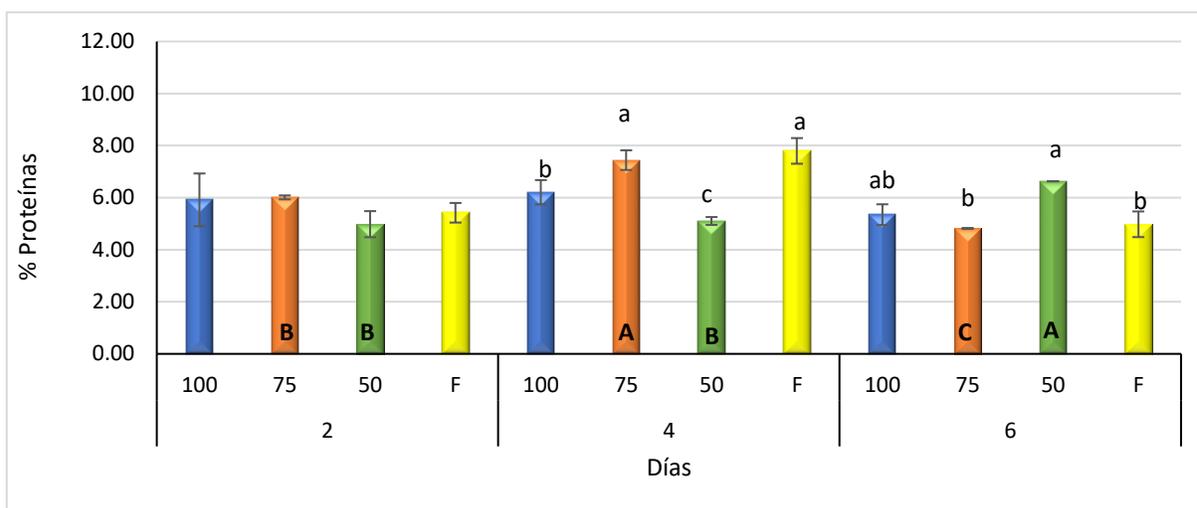


Figura 12. Porcentaje de proteínas con base en el peso orgánico al día 2, 4 y 6 del cultivo de *O. aurita*, en tres tratamientos con efluentes del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50%) y un control ("F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos por cada día (a > b > c) y entre días por tratamiento (A > B > C).

3.5.2 Lípidos

En la Figura 13 se muestra el porcentaje de lípidos con base en el peso orgánico. Al segundo día de cultivo, el tratamiento con 75 % de efluente presentó el valor más alto, con un 6.8 %, seguido por el tratamiento con 100 %, el cual alcanzó un 5.3 %. El tratamiento control fue estadísticamente menor con 4.3 % ($p < 0.05$), mientras que el tratamiento del 50 % no presentó diferencias significativas con respecto al tratamiento del 100 % ni al control, pero si es diferente con el tratamiento del 75 % ($p > 0.05$).

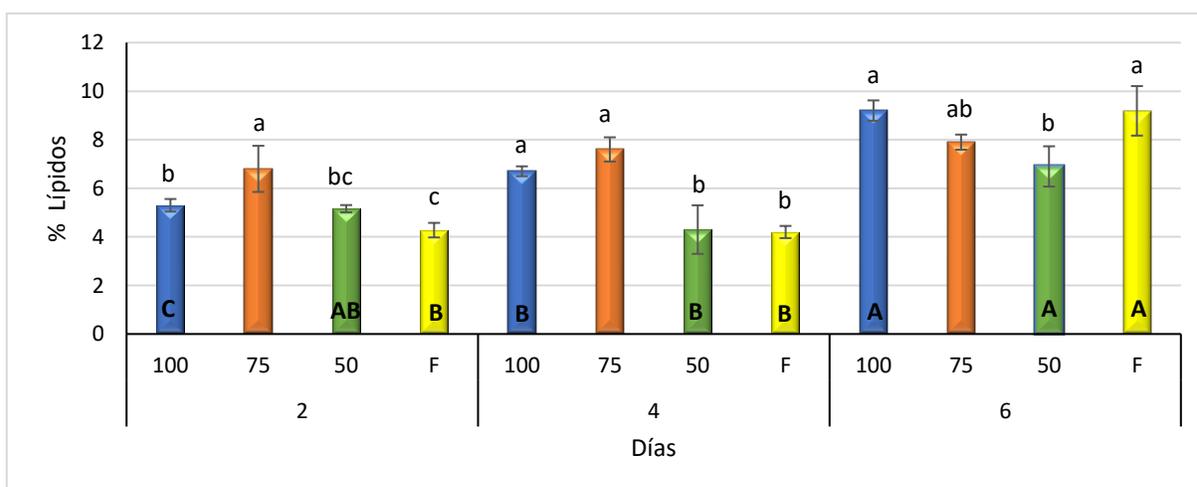


Figura 13. Porcentaje de lípidos con base en el peso orgánico al día 2, 4 y 6 del cultivo de *O. aurita*, en tres tratamientos con efluentes del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50%) y un control ("F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos por día (a > d) y entre días por tratamiento (A > B > C).

Al cuarto día del cultivo, los tratamientos del 100 % y 75 % tuvieron la mayor concentración de lípidos, con un promedio del 7 %, los tratamientos del 50 % y el control tuvieron un promedio de 4.2 %. Al sexto día, los tratamientos del 100 % y control fueron significativamente mayores con 9.2 %, mientras que en el tratamiento del 50 % fue menor con un 6.9 %. El tratamiento del 75 % no tuvo diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos ($p > 0.05$). El experimento mostró que el porcentaje de lípidos aumentó significativamente al sexto día con los tratamientos control, 100 % y 50 % del efluente mientras que el tratamiento del 75 % del efluente se mantuvo constante con 7.6 % de lípidos en promedio.

3.5.3 Carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos de *O. aurita*, con base en su peso orgánico, se muestra en la figura 14. Los resultados obtenidos en los diferentes días del cultivo (2, 4 y 6) mostraron una alta variabilidad, por lo que no se observaron diferencias significativas, entre los tratamientos ni entre los días ($p > 0.05$). El promedio general alcanzado fue del 6.0 % de carbohidratos.

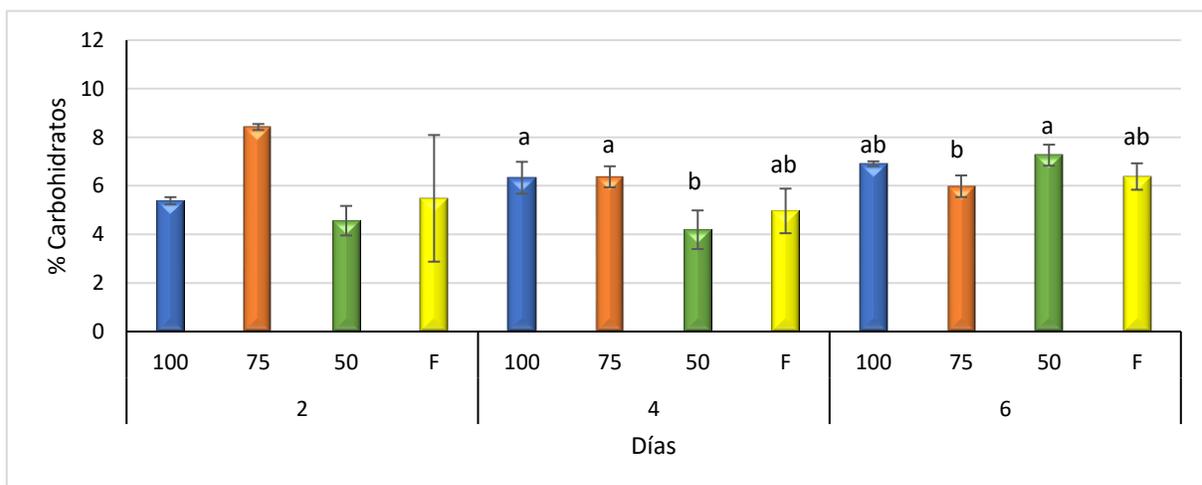


Figura 14. Porcentaje de carbohidratos con base en el peso orgánico al día 2, 4 y 6 del cultivo de *O. aurita*, en tres tratamientos con efluentes del cultivo de lobina rayada *M. saxatilis* (100, 75 y 50%) y un control ("F"). Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar ($n=3$). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos por día ($a > b$).

3.5.4 Aminoácidos (AA)

En la biomasa liofilizada de *O. aurita*, cosechada al día 12 del cultivo, se identificó y cuantificó el contenido de aminoácidos, que incluye todos los esenciales y siete no esenciales (Tabla 3 y 5). Entre los AA esenciales,

histidina fue el más abundante, representando aproximadamente el 40% del total de AA, con una producción promedio de 25.27 g por 100 g, seguido de arginina y treonina con 7.8 % (5.08 g por 100 g) y 6.4 % (4.1 g 100 g), respectivamente. El porcentaje promedio de AA no esenciales fue del 23 %, con una producción de 14.6 g por 100 g. Los demás aminoácidos se encontraron en proporciones que variaron entre el 0.9 % y el 7.5% del total de AA. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de AA para cada tratamiento. Estos resultados son exploratorios, ya que para la cuantificación se utilizó una curva realizada previamente por otro usuario, lo que pudo arrojar un resultado anómalo en el caso del AA histidina, por lo que se recomienda realizar nuevos análisis para verificar la información obtenida.

3.5.5 Ácidos Grasos AG

En la biomasa liofilizada de *O. aurita* obtenida al día 12 del cultivo, se identificaron (Tabla 4) y cuantificaron un total de 16 ácidos grasos (Tabla 6). En promedio, los ácidos grasos saturados (AGS) representaron el 38 % del total, siendo el ácido palmítico (C16:0) el más abundante, con un 17.6 % y una producción promedio de 3.2 mg g⁻¹. Los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), constituyeron el 31 % del total, con el ácido palmitoleico (C16:1) como el más concentrado, representando el 30 % y una producción promedio de 6 mg g⁻¹, donde el tratamiento control presentó la mayor concentración con 9.7 mg g⁻¹, seguido del tratamiento con el 50, 75 y 100 % con el 7.3, 6.2 y 3.6 mg g⁻¹ respectivamente.

En cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), estos representaron el 30.5 % del total. El ácido eicosapentaenoico (EPA) se encontró en mayor cantidad, con un 23 % y una producción promedio de 3 mg g⁻¹ siendo el tratamiento con el 75 % el que mayor concentración presentó mientras que el control con la menor (4.4 y 1.13 mg g⁻¹ respectivamente). El ácido araquidónico 20:4n6 (ARA) se obtuvo en una proporción promedio del 6.0 %, equivalente a 1.0 mg g⁻¹, por otro lado, el ácido docosahexaenoico (DHA) representó menos del 1.0 % del total de los AG. No se observaron diferencias significativas en el contenido de los AG entre los diferentes tratamientos.

Tabla 4. Porcentaje de aminoácidos (AA) presentes en *Odontella aurita* cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y F) de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada *Morone saxatilis*. Los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar (n=3). Sumatoria de aminoácidos esenciales (Σ AAE), sumatoria de aminoácidos no esenciales (Σ AANE), * indica los AAE.

AA (%)	Tratamientos con efluentes acuícolas			
	100 %	75 %	50 %	"F"
Aspartato	5.8	8.0	7.3	9.3
Glutamato	2.8	2.9	3.2	3.0
Serina	3.6	3.3	3.6	2.5
Alanina	2.6	2.2	2.4	2.2
Glicina	1.5	1.7	1.7	1.6
Cistina	1.6	1.8	0.9	1.4
Prolina	4.4	4.5	3.8	3.2
Histidina *	41.4	38.9	42.3	37.9
Arginina *	8.0	8.5	7.2	8.5
Treonina *	6.4	6.7	5.1	7.7
Tirosina	4.5	3.0	3.2	3.1
Metionina *	1.9	1.6	1.8	1.9
Fenilalanina *	3.3	4.2	3.7	3.5
Isoleucina *	4.4	4.7	5.3	5.0
Leucina *	4.0	4.2	4.6	5.1
Lisina *	-	-	-	-
Valina *	3.9	3.8	3.9	3.9
Σ AAE	77.8	75.6	77.2	76.8
Σ AANE	22.2	24.3	22.8	23.2
Σ AA	100.0	100.0	100.0	100.0

Tabla 5. Porcentaje de ácidos grasos de *Odontella aurita* cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y F) de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada *Morone saxatilis*. Los datos se presentan como promedio (n=3) \pm desviación estándar. Sumatoria de ácidos grasos saturados (Σ AGS), sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados (Σ AGMI), de ácidos grasos poliinsaturados (Σ AGPI).

% AG	Tratamientos con efluentes acuícolas			
	100 %	75 %	50 %	"F"
AGS				
C14:0	11.04	12.01	10.77	14.50
C15:0	0.63	0.66	0.60	0.89
C16:0	18.10	17.52	14.14	20.48
C22:0	1.68	1.81	1.51	1.42
C17:0	5.09	6.00	4.66	4.31
C18:0	0.68	0.53	0.69	0.56
C24:0	2.43	0.45	0.34	0.77
AGMI				
C18:1n9	0.25	0.25	0.19	0.51
C16:1	28.64	30.30	22.22	37.26
C22:2	1.18	1.35	1.02	0.77
AGPI				
C18:3n6	0.41	0.39	0.50	0.54
C18:3n3	0.39	0.51	0.39	0.27
C20:4n6 (ARA)	5.56	5.89	7.54	4.05
C20:5n3 (EPA)	23.15	21.37	34.52	13.10
C18:2n6C	0.41	0.42	0.49	0.59
C22:6n3 (DHA)	0.36	0.56	0.43	0.00
Σ AGS	39.65	38.97	32.70	42.92
Σ AGMI	30.07	31.90	23.43	38.53
Σ AGPI	30.29	29.13	43.87	18.55

Tabla 6. Concentración de aminoácidos (AA; g 100g⁻¹) de *Odontella aurita* cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y F) de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada *Morone saxatilis*. Los datos se presentan como promedio (n=3) ± desviación estándar. Sumatoria de aminoácidos esenciales (Σ AAE), sumatoria de aminoácidos no esenciales (Σ AANE), * indica los AAE.

AA (g 100g ⁻¹)	Tratamientos con efluentes acuícolas			
	100 %	75 %	50 %	"F"
Aspartato	3.23 ± 0.9	5.08 ± 0.6	4.6 ± 0.7	6.46 ± 0.6
Glutamato	1.5 ± 0.6	1.81 ± 0.3	2.03 ± 0.2	2.09 ± 0.4
Serina	1.9 ± 0.2	2.07 ± 0.3	2.33 ± 0.4	1.71 ± 0.3
Alanina	1.42 ± 0.1	1.37 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.54 ± 0.15
Glicina	0.83 ± 0.1	1.09 ± 0.1	1.08 ± 0.2	1.10 ± 0.2
Cistina	0.88 ± 0.3	1.11 ± 0.3	0.60 ± 0.5	0.94 ± 0.2
Prolina	2.43 ± 0.1	2.84 ± 0.1	2.42 ± 0.5	2.25 ± 0.1
Histidina *	22.9 ± 0.2	24.5 ± 0.5	27.25 ± 2.0	26.28 ± 0.4
Arginina *	4.43 ± 0.3	5.38 ± 0.01	4.6 ± 0.3	5.92 ± 0.1
Treonina *	3.58 ± 0.1	4.2 ± 0.1	3.3 ± 0.2	5.33 ± 0.33
Tirosina	2.48 ± 0.6	1.9 ± 0.2	2.09 ± 0.2	2.18 ± 0.2
Metionina *	1.06 ± 0.1	1.03 ± 0.1	1.15 ± 0.1	1.33 ± 0.24
Fenilalanina *	1.82 ± 0.0	2.64 ± 0.05	2.39 ± 0.4	2.46 ± 0.1
Isoleucina *	2.46 ± 0.7	2.99 ± 0.05	3.39 ± 0.4	3.47 ± 0.1
Leucina *	2.23 ± 0.1	2.64 ± 0.2	2.95 ± 0.5	3.51 ± 0.5
Lisina *	-	-	-	-
Valina *	2.43 ± 0.4	2.3 ± 0.2	2.54 ± 0.3	2.73 ± 0.5
Σ AAE	43.25	47.83	49.71	53.19
Σ AANE	12.32	15.39	14.7	16.08
Σ AA	55.58	63.23	64.42	69.29

Tabla 7. Concentración de ácidos grasos (mg g⁻¹) de *Odontella aurita* cultivada a diferentes concentraciones (100, 75, 50 % y "F") de agua proveniente del efluente del cultivo de lobina rayada *Morone saxatilis*. Los datos se presentan como promedio (n=3) ± desviación estándar. Sumatoria de ácidos grasos saturados (Σ AGS), sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados (Σ AGMI), sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados (Σ AGPI).

AG (mg g ⁻¹)	Tratamientos con efluentes acuícolas			
	100 %	75 %	50 %	"F"
AGS				
C14:0	1.40 ± 0.26	2.48 ± 0.4	3.6 ± 0.54	3.36 ± 0.38
C15:0	0.08 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.12 ± 0.03	0.19 ± 0.01
C16:0	2.30 ± 0.36	3.6 ± 0.17	2.3 ± 0.66	4.31 ± 0.25
C22:0	0.14 ± 0.05	0.32 ± 0.08	0.36 ± 0.01	0.27 ± 0.01
C17:0	0.81 ± 0.15	1.24 ± 0.16	0.99 ± 0.26	1.30 ± 0.87
C18:0	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.13 ± 0.01
C24:0	0.05 ± 0.03	0.08 0.01	0.06 ± 0.03	0.25 ± 0.12
AGMI				
C18:1n9	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01
C22:2	0.19 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.22 ± 0.05	0.10 ± 0.04
C16:1	3.64 ± 1.12	6.2 ± 0.64	7.29 ± 2.02	9.68 ± 1.2
AGPI				
C18:3n6	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.03	0.09 ± 0.03
C18:3n3	0.060 ± 01	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.03 ± 0.01
C20:4n6 (ARA)	0.89 ± 0.08	1.2 ± 0.11	0.94 ± 0.58	1.18 ± 0.38
C20:5n3 (EPA)	2.94 ± 0.35	4.4 ± 0.28	3.64 ± 1.07	1.13 ± 0.38
C18:2n6C	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.04	0.15 ± 0.01
C22:6n3 (DHA)	0.04 ± 0.03	0.12 0.03	0.07 ± 0.04	-
Σ AGS	4.85	7.90	7.48	9.55
Σ AGMI	3.87	6.55	7.53	9.82
Σ AGPI	4.07	5.99	4.89	2.59

Capítulo 4. Discusión

En los últimos años la producción acuícola ha presentado un incremento considerable, asociado a esto se han presentado varias problemáticas entorno al uso del agua utilizada en los cultivos y al tratamiento de los efluentes, los cuales presentan altas concentraciones de compuestos nitrogenados y fosfatos, provenientes del alimento residual y desechos de los organismos cultivados (Gutiérrez-Muñoz, 2012). Para tratar de aminorar esta problemática, se han buscado alternativas sostenibles, que ayuden a la remoción de estos compuestos, entre ellas el uso de microalgas (Andreotti *et al.*, 2017).

Algunas de las microalgas utilizadas en el tratamiento de efluentes acuícolas han sido *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* spp., *Spirulina* (*Arthrospira* spp.), *Porphyridium* spp., *Tetraselmis suecica*, *Rhodomonas salina* y *Navicula* sp. entre otras, las cuales además son productoras de compuestos bioactivos de interés económico, principalmente proteínas, pigmentos y ácidos grasos (Andreotti *et al.*, 2020; Sánchez-Sánchez, 2023; Vásquez-Gallegos, 2023; Martelli *et al.*, 2024).

La diatomea *Odontella aurita* ha sido reportada como una especie rica en ácidos grasos altamente insaturados, como el EPA (Xia *et al.*, 2013a, 2018; Sánchez-Angulo *et al.*, 2022), que al igual que otros AGPI se incorpora a los lípidos de la membrana dando fluidez y estabilidad celular frente a condiciones ambientales adversas (Harwood & Jones, 1989). Además, tiene beneficios para la salud por sus propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y cardiovasculares (Feliu *et al.*, 2021).

Una de las particularidades de *O. aurita* es la notable diversidad en el tamaño de sus células, que varían considerablemente entre 25 a 65 μm , así como su capacidad para formar cadenas y conglomerados celulares. Estas características dificultaron la estimación de la biomasa mediante recuentos celulares, por ello se utilizó el peso seco (PS) y la DO_{675} (longitud de onda obtenida que corresponde a las bandas principales de absorbancia de la clorofila *a*), como indicadores del desarrollo de los cultivos en los diferentes tratamientos ensayados. Sin embargo, el PS es el parámetro que mejor representa la evaluación de biomasa, ya que en la DO podría sub o sobre estimar la cantidad de microalgas producidas por sus características morfológicas ya mencionadas.

En los tratamientos con el efluente: 100, 75 y 50 %, que corresponden a 163, 130 y 98 mg L^{-1} de NO_3^- , respectivamente y el control (131 mg L^{-1} de NO_3^-), las tasas máximas de crecimiento (μ) obtenidas, variaron en los diferentes tratamientos con valores entre 0.38 y 0.44 div día^{-1} , estas son superiores a lo reportado para esta misma especie por Garita (2017), en cultivos con N (75 mg L^{-1} de NO_3^-) y sin N, en estas

condiciones obtuvo una tasa de crecimiento máxima promedio de $0.17 \text{ div día}^{-1}$, por otro lado Suman *et al.* (2013) obtuvieron una tasa de crecimiento de $0.37 \text{ div día}^{-1}$ en cultivos con 73 mg L^{-1} de NO_3^- . A pesar de que estos autores trabajaron con concentraciones menores de NO_3^- , las tasas de crecimiento obtenidas fueron cercanas a las de este estudio.

An *et al.* (2023) en su estudio con *O. aurita*, evaluaron diferentes concentraciones de NO_3^- (75, 150, 300, y 600 mg L^{-1}) y con una intensidad de luz de $76.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, los autores obtuvieron un promedio de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ de PST, sin diferencias en la producción de biomasa debido a los tratamientos aplicados, mientras que en este estudio se obtuvo un PST promedio más alto, de $791 \mu\text{g mL}^{-1}$. Las diferencias encontradas entre estos trabajos pueden ser debidas a las intensidades de luz utilizadas. Por otro lado, Xia *et al.* (2013b) estudiaron concentraciones más altas de N, con 6 y 18 mM (372 y 1162 mg L^{-1} de NO_3^- respectivamente), con una intensidad de luz de $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en biorreactores de 75 L con esta misma especie, en su investigación no encontraron diferencias en la producción de biomasa entre sus diferentes tratamientos, alcanzado un PST promedio de $4000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Estas altas producciones fueron hasta cinco veces superiores a las obtenidas en este estudio, esto puede ser debido a que usaron concentraciones de NO_3^- entre tres y siete veces mayores, además de inyección continua de CO_2 .

Estos estudios indican que *O. aurita* puede crecer con altas y bajas concentraciones de NO_3^- , por lo que puede ser que, en caso de ausencia o limitaciones del N necesario para poder llevar a cabo su metabolismo y producción de proteínas, este lo puede estar utilizando de otras fuentes de nitrógeno como el NAT, y NO_2^- . Las microalgas liberan al medio una porción de NO_2^- proveniente de la reducción del NO_3^- dentro de la célula, además en la ausencia de otros nutrientes inorgánicos y luz, pueden llevar a cabo el metabolismo heterótrofo, el cual se caracteriza por consumir solo compuestos orgánicos como fuente de carbono (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

Con la intención de acumular suficientes compuestos inorgánicos (NAT, NO_3^- , NO_2^- y PO_4^{3-}) en el efluente acuícola, durante una semana no se realizaron recambios de agua en el sistema de recirculación donde se mantenían a los peces, a pesar de esta acumulación los organismos no se vieron afectados. Es importante resaltar que al día siete, cuando se recolectó el efluente, no se detectó la presencia de NAT, lo que indica un estado saludable y una capacidad adecuada del biofiltro en el sistema utilizado en este cultivo. Aunque es importante señalar que exposiciones prolongadas a estos compuestos pueden volverse tóxicos (Boyd, 2019. Anexo, Tabla 8).

El monitoreo continuo de los parámetros fisicoquímicos fue fundamental, especialmente del pH, debido a su influencia en el equilibrio de NAT. Durante este monitoreo se observó una disminución del pH en el tanque de cultivo, por lo que fue necesario adicionar carbonato de calcio para restablecer el equilibrio. Esta disminución podría deberse al consumo de carbonatos durante el proceso de nitrificación, lo cual posiblemente redujo la alcalinidad y el pH (Claros, 2012; Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

En el caso de los NO_2^- se observó un patrón de consumo fluctuante en los tratamientos con efluente, con aumentos y disminuciones en la concentración a lo largo del cultivo. Una tendencia similar se observó en el control con medio "f", donde los NO_2^- comenzaron a incrementarse a partir del quinto día alzando 0.10 mg mL^{-1} al séptimo día. Este efecto podría estar relacionado por la actividad de bacterias nitrificantes presentes en el medio, como se ha reportado en estudios de biorremediación con microalgas (Andreotti *et al.*, 2020; Vásquez-Gallegos, 2023).

La interacción entre microalgas y bacterias nitrificantes se debe al intercambio de materia orgánica extracelular, y otros compuestos como el NO_2^- , los cuales actúan como una fuente de nutrientes para su crecimiento (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017), como ha sido observada en cultivos de *Isochrysis galbana* en medios formulados con diferentes fuentes de N (Luna-Ramírez, 2023). Además, la superficie de las células algales podría generar un microambiente para estos procesos bacterianos como la fijación de N (Riquelme & Avendaño, 2003). Estas interacciones bacteria-fitoplancton pueden ser específicas (especie-especie) y dependiendo de las condiciones del cultivo pueden generar un efecto positivo o negativo en el crecimiento celular microalgal (Riquelme & Avendaño, 2003; Sison-Mangus *et al.*, 2022).

Como se ha mencionado previamente, la acuicultura genera efluentes con altas concentraciones de nutrientes, ya que se estima que aproximadamente el 75% del alimento suministrado se descompone y se libera en forma de N y P inorgánico (Silva-Acosta *et al.*, 2021). El P es un nutriente limitante clave en ecosistemas acuáticos, donde las microalgas tienen un papel importante en su ciclo biogeoquímico mediante la asimilación y su transformación en materia prima (biomasa). La concentración de este elemento influye directamente en su crecimiento, y puede causar cambios drásticos en la estructura y el funcionamiento de un ecosistema, como la eutrofización (Barsanti & Gualtieri, 2014).

Existen dos procesos importantes para la asimilación del P en las microalgas, a) la adsorción extracelular mediante metabolitos con cargas positivas (proteínas y carbohidratos) ubicados en la membrana celular, a los cuales se adhiere el PO_4^{3-} cargado negativamente y, b) la captación intracelular y cuando hay un exceso de P en el medio, las microalgas pueden absorber más de lo necesario y almacenarlo en vesículas

en forma de polifosfato (poliP) (Bossa *et al.*, 2024). El metabolismo del P en las células es muy eficiente, ya que este nutriente es esencial para la formación de fosfolípidos, ácidos nucleicos, fijación del carbono y la producción de energía química (ATP) y reductores primarios (NADH) durante la fotosíntesis (Wu *et al.*, 2021; Bossa *et al.*, 2024).

Las diferentes concentraciones residuales de PO_4^{3-} en el efluente de este trabajo, afectaron directamente el porcentaje de remoción por parte de *O. aurita*. En los tratamientos con concentraciones menores de PO_4^{3-} residual (control "f" y 50 %) se observó una eliminación completa. En cambio, los tratamientos con mayor concentración (75 y 100 %) la remoción fue menor al 56 %. No obstante, estas diferencias en la disponibilidad del PO_4^{3-} , no se presentó en variaciones significativas en la producción de biomasa entre los tratamientos. An *et al.* (2023), tampoco observaron una diferencia en la producción de biomasa de *O. aurita* en cultivos con diferentes concentraciones de P ("f/2", "f", "2f" y "4f"). Esto sugiere que altas concentraciones de P, no necesariamente contribuye a la producción de biomasa, ya que, como se mencionó, el P puede ser almacenado en vesículas intracelulares. En cambio, su diferencia sí limita la tasa fotosintética y la síntesis de los sustratos en el ciclo de Calvin (Barsanti & Gualtieri, 2014).

En este estudio, en general se observó que, a mayor concentración del efluente, la tasa de remoción de P y N fue menor. El tratamiento con 50 % del efluente mostro mejores resultados, logrando eliminar la totalidad de los PO_4^{3-} y el 43 % de NO_3^- . En contraste, los tratamientos con 75 y 100 % de efluente removieron menos del 50 % de estos compuestos. En estudios con *Tetraselmis suecica* cultivada en efluente de dorada (*Sparus aurata*), con concentraciones de 20 y 10 mg L^{-1} de N y P, respectivamente, fue capaz de remover el 96 % de estos compuestos en menos de siete días (Andreotti *et al.*, 2020). De manera similar, la microalga roja *Porphyridium cruentum*, cultivada en efluentes de camarón (*Litopenaeus vannamei*), alcanzó a remover cerca del 90 % de los NO_3^- al décimo día y el 100 % de los PO_4^{3-} al sexto día (Vásquez-Gallegos, 2023).

El aumento en el N y P en los cultivos no siempre resultan en un aumento significativo de biomasa, por lo que tal vez, la falta de otros nutrientes en el medio pudiera limitar el crecimiento de esta microalga, lo que sugiere que la disponibilidad limitada de otros nutrientes esenciales, como el sílice, podría estar influyendo en el crecimiento de ciertas microalgas como *O. aurita* (An *et al.*, 2023). Además, se ha observado que el aumento en la intensidad lumínica (150 - 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), combinado con concentraciones iniciales altas de nitrógeno (18 mM) sí producen un incremento en la biomasa (4000 a 6000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Xia *et al.*, 2014 y 2018). Por lo tanto, para lograr producciones eficientes y sostenibles de biomasa en cultivos de microalgas,

se requiere considerar una combinación adecuada de diversos factores como la disponibilidad de macro y micronutrientes, la intensidad de luz y los parámetros fisicoquímicos del medio ambiente, entre otros.

Respecto a la composición bioquímica de *O. aurita*, se obtuvo un bajo porcentaje de proteínas (7.6 % PO). En otras especies morfológicamente similares a esta diatomea (*Trieres mobiliensis*, *Eupyxidicula turris* y *Biddulphia alternans*), se observó un contenido del 8 % (Cervantes-Urieta *et al.*, 2020), mientras que otros autores reportan para esta especie concentraciones de proteína desde 9% hasta 30 % (PST) (Xia *et al.*, 2013b; Garita, 2017; Bernaerts *et al.*, 2018; y Grisell *et al.*, 2022). Xia *et al.* (2018), concluyen que bajas concentraciones de N en el medio, conlleva a una disminución en el contenido de proteínas.

En cuanto al contenido de carbohidratos en esta especie, se obtuvo un valor aproximado del 6 %. Garita (2017) reportó concentraciones entre 9 y 19 % en tratamientos con medio “f/2”, mientras que Xia *et al.* (2018) mencionan que *O. aurita* puede almacenar hasta un 50 % de carbohidratos en ausencia de N en el medio de cultivo. Con respecto al contenido de lípidos, se observó un aumento significativo del día dos al sexto día (5 al 10 %), estos resultados son similares a lo reportado por Xia *et al.* (2018) quienes observaron un aumento del contenido de lípidos en cultivos con suministro constante de N (6 mM cada tres días), entre el 10 y el 14 %.

En acuicultura el contenido de los AA esenciales, especialmente la lisina, metionina, histidina y arginina, son de gran importancia en la composición y calidad de las dietas, ya que estos intervienen en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas (enzimas y hormonas), además de ser una fuente importante de energía para las reacciones químicas en los organismos cultivados (Kolmakova & Kolmakov, 2019). *Odontella aurita* presentó el 77% de los aminoácidos esenciales, siendo histidina, arginina y treonina los que se encontraron en mayor proporción, pero no se detectó la presencia de lisina. Sin embargo, como ya se mencionó, estos resultados son exploratorios, y la falta de información sobre el contenido de AA en *O. aurita* no permite realizar su comparación, además, por el resultado irregular de histidina, se recomienda efectuar nuevos análisis de AA para esta especie.

En otras es diatomeas se han reportado concentraciones de los AA leucina, arginina y lisina en mayor proporción (7.7, 7.4 y 7.1% respectivamente), mientras que la histidina y metionina en menor concentración (1.9 y 2.2 %, respectivamente) (Kolmakova & Kolmakov, 2019). Brown (1991) mencionan que no existe una diferencia significativa en la proporción de AA entre las diferentes especies de microalgas, sin embargo, otros autores indican que se requieren más estudios para poder determinarlo con certeza (Kolmakova & Kolmakov, 2019 y León-Vaz *et al.*, 2023). Por otro lado, los diferentes reportes

sobre el contenido de AA en la literatura suelen expresarse en términos de composición porcentual, por lo que no hay una forma de expresión universal, esta se selecciona según el propósito de cada estudio, lo que dificulta significativamente la comparación entre ellos (León-Vaz *et al.*, 2023).

Las diatomeas también son conocidas porque contienen en su composición ácidos grasos de importancia, como el ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0) y oléico (C18:1), así como los ácidos grasos altamente insaturados como el EPA, el DHA y el ARA, los cuales son fundamentales en la dieta de peces, ya que forman parte de las membranas celulares e intervienen en la regulación de procesos fisiológicos como la reproducción, crecimiento, la osmorregulación, natación y otros.

Con respecto a los ácidos grasos presentes en *O. aurita*, los de mayor concentración fueron: A. palmítico, A. palmitoleico, ARA y el EPA. An *et al.* (2023), en su estudio con esta especie, también encontraron estos mismos AG en mayor concentración, con 15.96, 22.42, 0.22 y 11.07 mg g⁻¹, respectivamente. Al considerar la proporción de AG en porcentaje, se obtuvo un contenido de EPA cercano al 25 %. Sin embargo, otros autores han reportado que esta especie puede producir hasta un 34 % de EPA (Xia *et al.*, 2013a, 2018; Grisel *et al.*, 2022). Esta diferencia podría atribuirse a factores como la disponibilidad de carbono inorgánico, la temperatura y la concentración de nutrientes, los cuales influyen en la proporción de los ácidos grasos (Pasquet *et al.*, 2014).

En el cultivo de microalgas en biorreactores, la cosecha representa uno de los procesos más cruciales para lograr una producción económica de biomasa, ya que puede constituir entre el 20 y el 30 % del costo total de producción (Brennan & Owende, 2010). En este sentido, *O. aurita*, tiene una alta facilidad para ser cosechada debido a que sedimenta con rapidez en los sistemas de cultivo, esto gracias a sus características morfológicas, ya que llega a tener hasta 100 µm en tamaño celular (An *et al.*, 2023), además, tiende a formar cadenas y conglomerados celulares, lo que convierte el cultivo de esta microalga en una excelente opción económica para producir biomasa con compuesto de alto valor, los cuales pueden ser utilizados en la inclusión de alimentos para organismos acuáticos y en la nutrición humana.

Capítulo 5. Conclusiones

Los resultados de producción de biomasa de *O. aurita*, medidos en términos de peso (total y orgánico) y composición bioquímica, fueron similares entre el medio "F" y las diferentes concentraciones del efluente (100, 75 y 50 %). La microalga fue capaz de remover en siete días el 50 % de NO_3^- y el 100 % de PO_4^{3-} , en concentraciones cercanas a la remoción del medio "F". Esto sugiere que *O. aurita* es una especie con potencial para ser utilizada para la biorremediación de efluentes, además el alto contenido de EPA (3 mg L^{-1}) estaría aportando un valor agregado. También, su tendencia a precipitar con rapidez facilita la cosecha, lo que podría reducir significativamente los costos de producción. Se recomienda realizar estudios adicionales a diferentes niveles de escalamiento para corroborar la capacidad de *O. aurita* de remover compuestos inorgánicos en efluentes acuícolas en condiciones de cultivo a mayor escala.

Literatura citada

- Abdelfattah, A., Ali, S. S., Ramadan, H., Eslam Ibrahim El-Aswar, Reham Eltawab, Ho, S.-H., Tamer Elsamahy, Li, S., El-Sheekh, M. M., Schagerl, M., Kornaros, M., & Sun, J. (2022). Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. *Environmental Science and Ecotechnology*, 13. 100205–100205. <https://doi.org/10.1016/j.es.2022.100205>
- Alonso-Fernández, A. M., Palacios-Arrieta, D., & Guadalupe-Martínez, N. (2023). Biorremediación en Aguas Residuales Acuícolas: Una Revisión. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 8538-8568. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i4.7577
- An, S.M., Cho, K., Kim, E.S., Ki, H., Choi, G. & Kang, N.S. (2023). Description and characterization of the *Odontella aurita* OAOSH22, a marine diatom rich in eicosapentaenoic acid and fucoxanthin, isolated from Osan Harbor, Korea. *Marine Drugs*, 21, 563. <https://doi.org/10.3390/md21110563>
- Andreotti, V., Chindris, A., Brundu, G., Vallainc, D., Francavilla, M., García, J., (2017). Bioremediation of aquaculture wastewater from *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) with different microalgae species. *Chemistry and Ecology*, 33 (8), 750–761. <https://doi.org/10.1080/02757540.2017.1378351>
- Andreotti, V., Solimeno, A., Rossi, S., Ficara, E., Marazzi, F., Mezzanotte, V., & García, J. (2020). Bioremediation of aquaculture wastewater with the microalgae *Tetraselmis suecica*: Semi-continuous experiments, simulation and photo-respirometric tests. *Science of The Total Environment*, 738, 139859. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139859>
- Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. (2da. ed.) CRC Press, Pisa. https://ia801206.us.archive.org/24/items/Algae_Anatomy_Biochemistry_and_Biotechnology_2nd_Edition_By_Laura_Barsanti_Paolo/Algae_Anatomy_Biochemistry_and_Biotechnology_2nd_Edition_By_Laura_Barsanti_Paolo_Gualtieri.pdf
- Beltrán-Rocha, J. C., Guajardo-Barbosa, C., Barceló-Quintal, I. D., & López-Chuken, U. J. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO₂. *Revista de Biología Marina Y Oceanografía*, 52(3), 417–427. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572017000300001>
- Bernaerts, T. M. M., Gheysen, L., Kyomugasho, C., Jamsazzadeh Kermani, Z., Vandionant, S., Foubert, I., Hendrickx, M. E., & Van Loey, A. M. (2018). Comparison of microalgal biomasses as functional food ingredients: Focus on the composition of cell wall related polysaccharides. *Algal Research*, 32, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.03.017>
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37 (8), 911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Bossa, R., Di Colandrea, M., Salbitani, G., & Carfagna, S. (2024). Phosphorous Utilization in Microalgae: Physiological Aspects and Applied Implications. *Plants*, 13(15), 2127. <https://doi.org/10.3390/plants13152127>

- Boyd, Claude (2019). Toxicidad de las sustancias químicas en la acuicultura. *Global Aquaculture Advocate*. [Consultado el 26 de Febrero de 2025]. <https://www.globalseafood.org/advocate/toxicidad-de-las-sustancias-quimicas-en-la-acuicultura>
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557–577. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- Brown, M. R. (1991). The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 145(1), 79–99. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(91\)90007-j](https://doi.org/10.1016/0022-0981(91)90007-j)
- Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR). (2022). Colecciones Microalgas. <https://www.cibnor.gob.mx/investigacion/acuicultura/lineas-y-proyectos-de-investigacion-pa/cultivo-de-crustaceos?view=category&id=110>
- Cequier- Sánchez, E., Covadonga-Rodríguez, A., Ravelo, A. G. & Zárate, R. (2008). Dichloromethane as a solvent for lipid extraction and assessment of lipid classes and fatty acids from samples of different natures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12), 4297-303. <https://doi.org/10.1021/jf073471e>
- Cervantes-Urieta, V. A., Pérez-Castro, D., Galeana-Parra, M. A., Ramírez-Fuentes, E., & Trujillo-Tapia, Ma. N. (2020). Cultivo y composición bioquímica de diatomeas marinas (Bacillariophyta) de la Bahía de Santa Lucía, Acapulco, México. *Gayana Botánica*, 77(1), 11–22. <https://doi.org/10.4067/s0717-66432020000100011>
- Claros B., J. A. (2012) .*Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno amoniacal*. [Tesis Doctoral Universidad Politécnica de Valencia] Repositorio institucional. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/17653/tesisUPV3951.pdf;jsessionid=65AA1CD047B90D22DB18431A295888AA?sequence=1>
- Collos, Y., Mornet, F., Sciandra, A., Waser, N., Larson, A. & Harrison, P. J. (1999). An optical method for the rapid measurement of micromolar concentrations of nitrate in marine phytoplankton cultures. *Journal of Applied Phycology*, 11(2), 179 – 184. <https://doi.org/10.1023/a:1008046023487>
- Crab, R., Avnimelech, Y., Deforidt, T., Bossier, P. & Verstraete, W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270(1-4), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.006>.
- Crab, R., Deforidt, T., Bossier, P., & Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356-357, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>
- Dauda, A. B., Ajadi, A., Tola-Fabunmi, A. S., & Akinwale, A. (2019). Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems. *Aquaculture and Fisheries*, 4(3), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.10.002>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Halminton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. (1956). Colorimetric methid for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>

- Ebeling, J. M., Timmons, M. B., & J.J. Bisogni. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1-4), 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- Feliu, M. S., Fernández, I., & Slobodianik, N. (2021). Importancia de los ácidos grasos omega 3 en la salud. *Actualización en Nutrición*, 22(1). <https://doi.org/10.48061/san.2021.22.1.25>
- Folch, J., Lees, M. & Sloane S., Gh. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemestri*, 226(1), 497-509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2024). Versión resumida de El estado mundial de la pesca y la acuicultura (2022). Hacia la transformación azul. Roma. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0463es>
- Gallego-Alarcón, I., & García-Pulido, D. (2017). Remoción de nitrógeno amoniacal total en un biofiltro: percolador-columna de arena. *Tecnología Y Ciencias Del Agua*, 08(1), 81–93. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2017-01-06>
- Gallego-Alarcón, I., García-Pulido, D., Díaz-Delgado, C., & Fall, C. (2003). Sistema de recirculación de agua para cría de alevín de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y carpa común (*Cyprinus carpio*). In Díaz Delgado, C., Fall, C., Quentin, E., Jiménez-Moleón, M.C., Esteller A., M., V., Garrido-Hoyos, S., López-Vázquez, C. D., & García-Pulido, D. *Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas*. Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua (RIPDA-CYTED) y Centro Interamericano de Recursos del Agua, Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de México (CIRA-UAEM). <http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/#>.
- Garita-Segura, A. (2017). *Efecto de la deficiencia de nitrógeno en la composición bioquímica y presencia de micosporinas en Odontella aurita y Conticribra weissflogii, ambas diatomeas marinas (Bacillariophyceae) de interés biotecnológico*. [Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Escuela de Ciencias Biológicas]. PDF.
- González-Hermoso, J. P. (2016). *Comparación de tratamientos heterotrófico y foto autotrófico de los efluentes de un cultivo hipertensivo de tilapia en recirculación* [Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio Institucional. <https://biblioteca.cicese.mx/catalogo/tesis/ficha.php?id=24629>
- Grisel, M., Elizondo-González, R., Peña-Rodríguez, A. y Arredondo-Vega, B. (2022). Evaluación de algas como fuente de carbono para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) en *Bacillus megaterium*. *Revista latinoamericana de biotecnología ambiental y algal*, 13(2), 50, <https://www.solabiaa.org/ojs3/index.php/relnaa/article/view/167>
- Guillard, R. (1975). Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. *Springer EBooks*, 29–60. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3
- Gutiérrez-Muñoz, Mario. (2012). Sistemas de recirculación acuapónicos. Informe Técnico, 76(1), 123-129. <https://doi.org/10.23850/22565035.36>
- Gutierrez-Wing, M. T., & Malone, R. F. (2006). Biological filters in aquaculture: Trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.003>

- Haimeur, A., Ulmann, L., Mimouni, V., Guéno, F., Pineau-Vincent, F., Meskini, N. & Tremblin, G. (2012). The role of *Odontella aurita*, a marine diatom rich in EPA, as a dietary supplement in dyslipidemia, platelet function and oxidative stress in high-fat fed rats. *Lipids in Health and Disease*, 11, 147. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-147>
- Haimeur, A., V. Mimouni, L. Ulmann, A. S. Martineau, H. Messaouri, F. Pineau-Vincent, G. Tremblin & N. Meskini. (2016). Fish oil and microalga omega-3 as dietary supplements: A comparative study on cardiovascular risk factors in high-fat fed rats. *Lipids*, 51(9), 1037–1049. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4177-2>.
- Harwood, J. L., & Jones, A. L. (1989). Lipid Metabolism in Algae. *Advances in Botanical Research*, 1–53. [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(08\)60238-4](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(08)60238-4)
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- John, E. M., Sureshkumar, S. & Sankar, T. V. (2020). Phycoremediation in aquaculture; a win-win paradigm, *Environmental Technology Reviews*, 9(1), 67-84. <https://doi.org/10.1080/21622515.2020.1830185>
- Kolmakova, A. & Kolmakov, V. (2019). Amino acid composition of green microalgae and diatoms, cyanobacteria, and zooplankton (Review). *Inland Water Biology*, 12(4), 452-461. <https://doi.org/10.1134/S1995082919040060>
- Lavigne, A. S., Sunesen, I., & Sar, E. A. (2015). Morphological, taxonomic and nomenclatural analysis of species of *Odontella*, *Trieres* and *Zygoceros* (Triceratiaceae, Bacillariophyta) from Anegada Bay (Province of Buenos Aires, Argentina). *Diatom Research*, 30(4), 307–331. <https://doi.org/10.1080/0269249x.2015.1110536>
- Lee, E. (2008). *Phycology*. (4ta. ed.). Cambridge University Press. <https://mariomairal.com/wp-content/uploads/2020/12/Phycology-Robert-Edward-Lee.pdf>
- León-Vaz, A., Giráldez, I., Moreno-Garrido, I., Varela, J., Vígara, J., León, R., & Cañavate, J.P. (2023). Amino acids profile of 56 species of microalgae reveals that free amino acids allow to distinguish between phylogenetic groups. *Algal Research*, 74, 103181–103181. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103181>
- Li, K., Liu, Q., Fang, F., Luo, R., Lu, Q., Zhou, W., Huo, S., Cheng, P., Liu, J., Addy, M., Chen, P., Chen, D., & Ruan, R. (2019). Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. *Bioresource Technology*, 291. 21934. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121934>
- Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*, 193(1). 265 – 275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Luna-Ramírez, R. A. (2023). *Asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno por la microalga Isochrysis galbana*. [Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio Institucional <https://biblioteca.cicese.mx/catalogo/tesis/ficha.php?id=26274>

- Martelli, A., Zualet, T. V., Miras-Gagliardi, M. B., & Rubilar, T. (2024). Fitorremediación de efluentes acuícolas mediante el uso de seis microalgas marinas: Aportes de sustentabilidad en la industria acuícola del erizo de mar en Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 72(S1). e58979. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v72iS1.58979>
- Martínez-Ruiz, M.; Martínez-González, C.A., Kim, D.H., Santiesteban-Romero, B., Reyes-Pardo, H., Villaseñor-Zepeda, K.R., Meléndez-Sánchez, E.R., Ramírez-Gamboa, D., Díaz-Zamorano, A.L. & Sosa-Hernández, J.E. (2022). Microalgae Bioactive Compounds to Topical Applications Products: A Review. *Molecules*, 27, 3512. <https://doi.org/10.3390/molecules27113512>
- Masser, M. P., Rakocy, J., & Losordo, T. M. (1999). Recirculating Aquaculture Tank Production Systems – Management Of Recirculating Systems. Management Of Recirculating Systems. *SRAC*, 452. https://www.researchgate.net/publication/239549714_Recirculating_Aquaculture_Tank_Production_Systems_-_Management_Of_Recirculating_Systems
- Moreau, D., Tomasoni, C., Cathrine, J., Kaas, R., Le Guedes, R., Cadoret, J. P., Muller-Feuga, A., Kontiza, I., Vagias, C., Roussis, V. & Roussakis, C. (2006). Cultivated microalgae and the carotenoid fucoxanthin from *Odontella aurita* as potent anti-proliferative agents in bronchopulmonary and epithelial cell lines. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.01.004>
- Pande, S. V., Khan, R. P. & Venkitasubramanian, T. A. (1963). Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Analytical Biochemistry*, 6(5), 415 - 423. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(63\)90094-0](http://doi.org/10.1016/0003-2697(63)90094-0)
- Paniagua-Michael, J. & García, O. (2003). Biorremediación *ex-situ* de efluentes de cultivo de camarones utilizando esteras microbianas construidas. *Aquacultural Engineering*, 28 (3-4), 131-139. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(03\)00011-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(03)00011-6)
- Pasquet, V., Ulmann, L., Mimouni, V., Guihéneuf, F., Jacquette, B., Morant-Manceau, A. & Tremblin, G. (2014). Perfil de ácidos grasos y temperatura en la diatomea marina cultivada *Odontella aurita*. *Journal of Applied Phycology*, 26(6), 2265–2271 <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0252-3>
- Ramos, R. & Pizarro, R. (2018). Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en agua residual generadas en el cultivo de pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae). *Biología Marina y Oceanografía*. 53(1). 75-86. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572018000100075>
- Rathod, H. (2014). *Algae based waste water treatment*. [Tesis de Maestría en tecnología en ingeniería civil, Indian Institute Of Technology Roorkee]. ResearchGate. <https://doi.org/10.13140/2.1.1241.8885>
- Riquelme, C. E., & Avendaño-Herrera, R. E. (2003). Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76(4). <https://doi.org/10.4067/s0716-078x2003000400014>
- Sánchez-Angulo, L., Trejo-Berumen, K. S. & Arredondo-Vega, B. O. (2022). Importancia nutrimental de la diatomea *Odontella aurita* para su aprobación como suplemento generalmente reconocido como alimento seguro (GRAS) en México. *Recursos Naturales y Sociedad*. 8(1), 15-38. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2022.08.08.01.0002>

- Sánchez-Sánchez, H. J. (2023). *Cultivo de microalgas en un efluente residual acuícola para la producción de biometano*. [Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto tecnológico de Boca del Río]. Repositorio Institucional. <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/6582/2/LUO%20MA%20HILDA%20JANET%20SANCHEZ.pdf>
- Sanz-Luque, E., Chamizo-Ampudia, A., Llamas, A., Galvan, A., & Fernandez, E. (2015). Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Frontiers in Plant Science*, 6(899), 1 - 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00899>
- Silva-Acosta, J., Canales V., C. & Rodríguez L., S. (2021). Fitodepuración mixotrófica en sistemas de recirculación acuícola (SRA) para el manejo sustentable de nutrientes contaminantes. *AquaTechnica*, 3(1), 37-54. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5196173>
- Sison-Mangus, M. P., Kempnich, M. W., Appiano, M., Mehic, S., & Yazzie, T. (2022). Specific bacterial microbiome enhances the sexual reproduction and auxospore production of the marine diatom, *Odontella*. *Plos One*, 17(10), e0276305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276305>
- Solórzano L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography*, 14(5), 799-801. <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2161028>
- Sorokin, C. (1973). Dry weight, packed cell volume and optical density. In Stein, J. R. (Ed.). *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurement*. Cambridge University Press. 321-343. <https://eurekamag.com/research/026/704/026704223.php>
- Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R. (1972) A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada. <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1916578>
- Suman, K., Sujatha, A., Koduru, D., & Nittala, S. (2013). Bioprospecting for nutraceutically useful marine diatom, *Odontella aurita* in the South-East Coast of India and medium optimization. *Current science*, 6.22-28. https://www.researchgate.net/publication/236148591_Bioprospecting_for_nutraceutically_useful_marine_diatom_Odontella_aurita_in_the_SouthEast_Coast_of_India_and_medium_optimization
- Tom, A. P., Jayakumar, J. S., Biju, M., Somarajan, J., & Ibrahim, M. A. (2021). Aquaculture wastewater treatment technologies and their sustainability: A review. *Energy Nexus*, 4, 100022. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2021.100022>
- Tsikis, D. (2005). Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radical Research*, 39(8), 797–815. <https://doi.org/10.1080/10715760500053651>
- Vásquez-Gallegos, A. (2023). *Cultivo de la microalga Porphyridium cruentum en agua proveniente del cultivo de Litopenaeus vannamei para la remoción de compuestos nitrogenados y fosfatos*. [Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio Institucional <https://biblioteca.cicese.mx/catalogo/tesis/ficha.php?id=26416>
- Ward, B. B. (2013). How nitrogen is lost. *Science*, 341, 352-353. <https://doi.org/10.1126/science.1240314>

- Whyte, J. N. (1987). Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 60(3-4), 231-241. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90290-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90290-0)
- Wu, Q., Guo, L., Wang, Y., Zhao, Y., Jin, C., Gao, M., & She, Z. (2021). Phosphorus uptake, distribution and transformation with *Chlorella vulgaris* under different trophic modes. *Chemosphere*, 285, 131366–131366. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131366>
- Xia S., Gao B., Fu J., Xiong J. & Zhang C. (2018). Production of fucoxanthin, chrysolaminarin, and eicosapentaenoic acid by *Odontella aurita* under different nitrogen supply regimes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(6), 723-729. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.06.002>
- Xia, S., Gao, B., Li, A., Xiong, J., Ao, Z., & Zhang, C. (2014). Preliminary Characterization, Antioxidant Properties and Production of Chrysolaminarin from Marine Diatom *Odontella aurita*. *Marine Drugs*, 12(9), 4883–4897. <https://doi.org/10.3390/md12094883>
- Xia, S., Wan, L., Li, A., Sang, M. & Zhang, C. (2013a). Effects of nutrients and light intensity on the growth and biochemical composition of a marine microalga *Odontella aurita*. *Journal of Oceanology and Limnology*, 31(6), 1163–1173. <https://doi.org/10.1007/s00343-013-2092-4>
- Xia, S., Wang, K., Wan, L., Li, A., Hu, Q., & Zhang, C. (2013b). Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*. *Marine Drugs*, 11(7), 2667–2681. <https://doi.org/10.3390/md11072667>
- Zhao, W., Yao, R., He, X.-S., Liao, Z.-H., Liu, Y.-T., Gao, B.-Y., Zhang, C.-W., & Niu, J. (2022). Beneficial contribution of the microalga *Odontella aurita* to the growth, immune response, antioxidant capacity, and hepatic health of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Aquaculture*, 555, 738206–738206. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738206>

Anexos

La tabla 8, muestra la toxicidad sobre los metabolitos tóxicos, generados en cultivos de organismos acuáticos, producto de su alimentación y metabolismo. Así como como los parámetros óptimos de su concentración en sistemas de reticulación acuicola (SAR).

Tabla 8. Toxicidad sobre metabolitos potencialmente tóxicos en sistemas de acuicultura (Boyd, 2019).

	96-horas LC50 (mg/L)	Concentración segura estimada para exposición prolongada (mg/L)
Dióxido de carbono, peces de agua dulce	–	20
Dióxido de carbono, camarón marino	60	6
Amoniaco, peces de aguas cálidas	0.74 – 2.88	0.05 – 0.15
Amoniaco, peces de agua fría	0.32 – 0.93	0.015 – 0.045
Amoniaco, peces marinos	0.64 – 1.72	0.05 – 0.15
Amoniaco, camarón marino	0.69 – 2.95	0.05 – 0.15
Nitrito, peces de agua caliente	7.1 – 140	0.5 – 2.5
Nitrito, peces de agua fría	0.24 – 11	0.01 – 0.5
Nitrito, peces marinos	–	5 – 50
Nitrito, camarones marinos	9 – 980	0.5 – 15
Sulfuro de hidrógeno, especies de agua dulce	0.02 – 0.05	0.002
Sulfuro de hidrógeno, especies marinas	0.05 – 0.5	0.005