



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA
MICROALGA *Chaetoceros muelleri* UTILIZANDO FERTILIZANTE
AGRÍCOLA COMERCIAL**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR II
PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

BIÓLOGA

AUTOR:

Gina Jamilex Prudente Tomalá

DOCENTE TUTOR:

Blga. Dennis Tomalá Solano M.Sc.

LA LIBERTAD – ECUADOR

PERÍODO:

2026

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA
MICROALGA *Chaetoceros muelleri* UTILIZANDO FERTILIZANTE**

AGRÍCOLA COMERCIAL

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR II

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

AUTOR:

Gina Jamilex Prudente Tomalá

DOCENTE TUTOR:

Blga. Dennsis Tomalá Solano, M.Sc.

LA LIBERTAD – ECUADOR

PERÍODO:

2026

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA MICROALGA *chaetoceros muelleri* UTILIZANDO FERTILIZANTE AGRÍCOLA COMERCIAL**”, elaborado por Prudente Tomalá Gina Jamilex, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



Blga. Dennis Tomalá Solano, MSc.

DOCENTE TUTOR

C.I. 0922584982

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA MICROALGA *Chaetoceros muelleri* UTILIZANDO FERTILIZANTE AGRÍCOLA COMERCIAL, elaborado por la Srta. Gina Jamilex Prudente Tomalá , estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Blga. María Cornejo Rodríguez
C.I. 0905260881

DEDICATORIA

A Dios por darme sabiduría y determinación, necesaria para poder culminar una de las etapas de mi vida, y darme fuerzas para poder superar los retos en este camino

A mi amada madre, Dominga Tomalá, por su amor incondicional y apoyo constante, quien siempre estuvo en todo momento siendo un pilar fundamental para alcanzar esta meta es un reflejo de todo lo que me ha inspirado a ser

A mis hermanos, Lisbeth Prudente, Carmen Figueroa y Jhonny Figueroa, por su apoyo incondicional por creer en mí y por estar en a mi lado en los momentos más difíciles, recordándome que los sueños se pueden alcanzar con esfuerzo y dedicación

A toda mi familia, por ser mi fuerza, mi inspiración y mi mayor apoyo en cada paso de este camino.

A mis amigos, por su compañía, motivación y los instantes de alegría que hicieron más llevadero durante toda mi carrera universitaria

AGRADECIMIENTO

Expreso mis más sinceros agradecimientos a la UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA, a cada uno de los docentes de la facultad por haberme brindado sus conocimientos que me formaron no solo como profesional, sino también como ser humano.

A la Blga. Dennis Tomalá Solano M.Sc, por su valiosa orientación, por cada consejo, por su paciencia, y por haber compartido conmigo su conocimiento y experiencia con un acompañamiento constante.

A la empresa INCAMAR, en especial a la Sra. María Zherdmant por abrirme las puertas y su apoyo para poder desarrollar mi trabajo de investigación se llevará a cabo con éxitos.

A Axel Hurtado, gracias por ser mi apoyo constante , por animarme a no rendirme y por brindarme su motivación en los momentos más difíciles

Este agradecimiento refleja no solo mi gratitud sino también de cada logro personal es el resultado de un esfuerzo colectivo.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Gina Jamilex Prudente Tomalá** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 12 de diciembre del 2025



Ing. Jimmy Villón Moreno, MSc.

DIRECTOR/A DE CARRERA

RESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blga. María Cornejo Rodríguez, Ph.D.

PROFESOR DE ÁREA

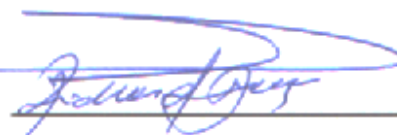
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blga. Dennis Tomalá Solano, MSc.

DOCENTE TUTOR

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Duque Marín, Mgt

DOCENTE GUÍA DE LA UIC II

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lic. Pascual Roca Silvestre, MSc.

SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad del contenido, ideas, datos y resultados expuestos en el presente trabajo de integración curricular con el tema "EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA MICROALGA *Chaetoceros muelleri* UTILIZANDO FERTILIZANTE AGRÍCOLA COMERCIAL", correspondiente me pertenece a mi exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE)

Gina Prudente

Gina Jamilex Prudente Tomalá

C.I. 2450391442

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. JUSTIFICACIÓN	7
4. OBJETIVO GENERAL	10
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
6. HIPÓTESIS.....	11
7. MARCO TEÓRICO.....	12
7.1 Las microalgas y su importancia en acuicultura	12
7.2 Características de <i>Chaetoceros muelleri</i>	14
7.2.1 Pigmentos fotosintéticos y coloración	16
7.2.2 Presencia de setas silíceas	16
7.2.3 Reproducción	17
7.2.4 Tamaño celular y compatibilidad con larvas	17
7.3 Composición nutricional y valor en acuicultura	18
7.3.1 Nutrientes esenciales para el cultivo de microalgas.....	18
7.3.2 Uso de fertilizantes agrícolas en el cultivo	21
7.4 Condiciones ambientales.....	25
7.5 Tipos de cultivo.....	27

7.5.1	Cultivos Cerrados.....	27
7.5.2	Cultivo Semicontinuo.....	28
7.5.3	Cultivo Continuo.....	28
7.6	Conteo celular	29
7.7	Cinética del crecimiento.....	30
7.7.1	Fase de lag o adaptación	31
7.7.2	Fase de aceleramiento	31
7.7.3	Fase exponencial	32
7.7.4	Fase de desaceleración	32
7.7.5	Fase estacionaria	32
7.7.6	Fase de muerte.....	33
8.	METODOLOGÍA	34
8.1	Área de estudio.....	34
8.2	Diseño Experimental.....	35
8.3	Mantenimiento de las cepas	36
8.3.1	Cultivos	36
8.4	Preparación de soluciones	37
8.4.1	Fertilizantes	37
8.4.2	Medio de cultivo Guillar F/2.....	38
8.4.3	Características morfológicas de las microalgas	40

8.4.4	Conteo celular	41
9.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	44
9.1	Crecimiento de microalgas.....	44
9.2	Análisis de las características morfológicas de <i>C. muelleri</i>	52
9.3	Análisis de densidad poblacional de las dos fases	61
10.	DISCUSIÓN	71
10.1	CONCLUSIONES	77
10.2	RECOMENDACIONES	79
	ANEXOS.....	85

Índice de Figura

Figura 1 <i>Chaetoceros muelleri</i>	14
Figura 2 <i>Conteo celular en Cámara Neubauer de acuerdo con el tamaño de células microalgales</i>	29
Figura 3 <i>Curva de crecimiento típica para una población de microalgas</i>	33
Figura 4 <i>Ubicación del laboratorio "INCAMAR"</i>	34
Figura 5 <i>Diseño experimental de cultivo de microalgas C.muelleri</i>	35
Figura 6 <i>Tasa de crecimiento (Ciclo I) C.muelleri cultivadas en un volumen de 10ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	45
Figura 7 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo I) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 150ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	46
Figura 8 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo I) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 1200 ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	47
Figura 9 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo I) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 20000 ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	48
Figura 10 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 10ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	49

Figura 11 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 150ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	50
Figura 12 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 2000ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	51
Figura 13 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 20000ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	52
Figura 14 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 10ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	63
Figura 15 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 150ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	65
Figura 16 <i>Crecimiento promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 2000ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	68
Figura 17 <i>Crecimiento Promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 20000ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol</i>	70

Índice de Tabla

Tabla 1 <i>Nutrientes esenciales para microalgas</i>	19
Tabla 2 <i>Estudios con fertilizantes agrícolas en distintas especies de microalgas</i>	24
Tabla 3 <i>Composición química de fertilizante agrícola (Stimulfol)</i>	37
Tabla 4 <i>Composición química en medios de cultivos: (Guillard F/2)</i>	39
Tabla 5 <i>Características de evaluación de la microalga C. muelleri</i>	40
Tabla 6 <i>Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo I) en medio Guillard f/2</i>	53
Tabla 7 <i>Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo I) en medio Stimulfol</i>	56
Tabla 8 <i>Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo I I) en medio Guillard F/2</i>	58
Tabla 9 <i>Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo II) en medio Stimulfol</i>	60

GLOSARIO Y TERMINOLOGÍA

Fotobiorreactores: un sistema controlado estrictamente con las condiciones ambientales (luz, temperatura, nutrientes) para producir cultivos puros y de alta calidad.

Raceways: consiste en estanques alargados en forma de pista de carreras, diseñado para la producción de grandes volúmenes de biomasa a bajos costos

Fotoperíodo: Factor ambiental que influye en el desarrollo de las microalgas, refiriéndose a los periodos de iluminación que pueden ser continuos o alternados con oscuridad.

Cinética del Crecimiento: El estudio del ciclo completo de crecimiento de una población de microalgas, el cual incluye fases como latencia, aceleración, exponencial, estacionaria y de muerte.

Biorremediación: Se utilizan para absorber o biofiltrar compuestos no deseados (como los nitrogenados y fosfatados) ayudando a purificar el agua en sistemas acuícolas.

Fotólisis del Agua: Proceso bioquímico que forma parte de la fotosíntesis, donde la molécula de agua es separada para liberar electrones, en el cual participa el manganeso

Setas Silíceas: Extensiones largas y delgadas en los extremos celulares de las microalgas que cumplen una doble función: ayudan a mantener la célula en suspensión (flotabilidad) y actúan como defensa mecánica contra organismos filtradores.

Fucoxantina: es un carotenoide natural que se encuentran en algas marinas pardas que es responsable de la pigmentación fotosintético que da como la coloración marrón-dorado

Frústulas: Paredes celulares rígidas y silíceas de las diatomeas que forman el caparazón de las algas diatomeas es fundamental para la protección y la estructura de la célula.

Cámara de Neubauer: Instrumento de laboratorio (hematocitómetro) utilizado para realizar el conteo celular directo de las microalgas bajo un microscopio óptico, permitiendo determinar la densidad poblacional.

ABREVIATURAS

Ppm = partes por millones

Cel/ml = Células/mililitro.

μm = micrómetro

°C = grados centígrados

ml = mililitros

L = litros

G = gramos

DCA = Diseño completamente al Azar

μ = La tasa de crecimiento

Ln = logaritmo natural

D = Número de divisiones por día

TD = El tiempo de duplicación

PD = La producción diaria

1. RESUMEN

En la acuicultura, el uso de microalgas como alimento vivo es fundamental para el desarrollo de larvas de peces, crustáceos y moluscos debido a su alto valor nutricional. Sin embargo, los medios de cultivo tradicionales, como el Guillard F/2, presentan costos elevados de los medios y las limitaciones asociadas a su disponibilidad de nutrientes, surge la necesidad de evaluar alternativas más económicas y funcionales. Se analizó el fertilizante agrícola comercial Stimulfol en comparación al medio F/2 en cultivo de *Chaetoceros muelleri*, bajo condiciones de laboratorio, analizando su crecimiento poblacional y características morfológicas en comparación con el medio F/2. Los bioensayos se desarrollaron en condiciones controladas de laboratorio, utilizando volúmenes de cultivo desde 10 mL hasta 20 L, con dos tratamientos: Guillard F/2 (control) y Stimulfol a 5 g/L, cada uno con tres réplicas en dos ciclos de producción. Se registraron parámetros de crecimiento como densidad celular, tasa específica de crecimiento, divisiones por día y tiempo de duplicación. Los resultados mostraron que no existieron diferencias significativas entre ambos tratamientos en ninguno de los ciclos (Ciclo I: $p > 0,52$; Ciclo II: $p > 0,62$). Sin embargo, los cultivos con Stimulfol alcanzaron mayores densidades celulares y presentaron células con morfología más robusta, incluyendo setas más definidas, lo que indica una adecuada disponibilidad y asimilación de nutrientes. No obstante, demuestran que el tratamiento con Stimulfol es una alternativa viable, funcional y de menor costo para la producción de *C. muelleri*, manteniendo la calidad morfológica y favoreciendo densidades celulares y morfología más robusta, con setas bien definidas, en comparación con el medio F/2.

Palabras Claves: *Stimulfol, densidad poblacional, Cultivo Tradicional, Convencional*

ABSTRACT

In aquaculture, the use of microalgae as live feed is fundamental for the development of fish, crustacean, and mollusk larvae due to their high nutritional value. However, traditional culture media, such as Guillard F/2, have high costs and limitations associated with nutrient availability, creating a need to evaluate more economical and functional alternatives. The commercial agricultural fertilizer Stimulfol was analyzed in comparison to F/2 medium in the culture of *Chaetoceros muelleri* under laboratory conditions, analyzing its population growth and morphological characteristics in comparison to F/2 medium. The bioassays were conducted under controlled laboratory conditions, using culture volumes from 10 mL to 20 L, with two treatments: Guillard F/2 (control) and Stimulfol at 5 g/L, each with three replicates in two production cycles. Growth parameters such as cell density, specific growth rate, divisions per day, and doubling time were recorded. The results showed no significant differences between the two treatments in either cycle (Cycle I: $p > 0.52$; Cycle II: $p > 0.62$). However, the cultures treated with Stimulfol achieved higher cell densities and exhibited cells with more robust morphology, including more defined setae, indicating adequate nutrient availability and assimilation. Nevertheless, they demonstrate that the Stimulfol treatment is a viable, functional, and lower-cost alternative for the production of *C. muelleri*, maintaining morphological quality and promoting higher cell densities and more robust morphology, with well-defined setae, compared to the F/2 medium.

Keywords: *Stimulfol, population density, traditional culture, conventional culture*

2. INTRODUCCIÓN

El cultivo de algas en Ecuador ha experimentado un crecimiento en los últimos años, impulsado por iniciativas gubernamentales que buscan mejorar la actividad económica de las comunidades costeras del Litoral (Barragan, 2024) y ha obtenido considerable atención en la industria acuícola debido a su potencial para mejorar la calidad del producto final y promover la sostenibilidad de los sistemas acuícolas (Muhammad Siddik, 2023). Entre los géneros de microalgas más utilizados en la industria acuícola como alimento directo para organismos acuáticos se destacan: *Isochrysis*, *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Rhodomonas*, *Pavlova*, *Chaetoceros*, *Nitzschia* y *Thalassiosira* (Cordero, 2010) .

Por su parte, la microalga *Chaetoceros muelleri* se ha identificado como una opción viable para el cultivo de larvas de camarón, debido a su tamaño adecuado y su perfil nutricional. Estudios recientes han demostrado que puede ser cultivada eficientemente utilizando fertilizantes agrícolas, lo que podría representar una alternativa económica y sostenible frente a métodos tradicionales (Lemus, 2023).

El uso de fertilizantes comerciales obtendría una mejora en el crecimiento celular y la calidad nutricional del alimento vivo, contribuyendo así a una mayor tasa de supervivencia en larvas de camarón, en el campo de la investigación se centra en desarrollar la optimización de técnicas y manejo específico para el cultivo de microalgas. Estas técnicas incluyen la selección de especies adecuadas, las condiciones de cultivo como la luz, temperatura, nutrientes y pH, así como el desarrollo de sistemas de cultivo eficientes y sostenibles (Zambrano & Sisalema, 2023)

Al implementar el uso de fertilizantes agrícolas se ha considerado como una alternativa económica para disminuir los altos costos en la producción comercial de microalgas en laboratorios. La importancia de la optimización del cultivo de microalgas es el uso adecuado de fertilizantes, los cuales aportan los nutrientes esenciales para maximizar el crecimiento poblacional. Sin embargo, en la búsqueda de alternativas económicas y sostenibles, la utilización de fertilizantes comerciales como Stimufol, ha ganado interés debido a su disponibilidad y menor costo en comparación con medios especializados de laboratorio como el F/2 (Suber, 2011)

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el desempeño del fertilizante Stimufol, como sustituto del medio de cultivo tradicional para el crecimiento de microalgas *Ch. muelleri*.

3. PROBLEMÁTICA

El cultivo de microalgas enfrenta varios desafíos significativos a nivel mundial; siendo uno de los principales problemas el alto costo de los medios de cultivo especializados utilizados tradicionalmente en la producción de microalgas. Estos medios, representan una proporción considerable de los costos operativos, lo que limita la viabilidad económica de la producción de cultivo (Jiménez, 2020).

Además del aspecto económico, la disponibilidad limitada de nutrientes es un factor importante para su desarrollo y productividad; sin embargo, se suma como otro factor crítico que condiciona el rendimiento de los cultivos., siendo un desafío recurrente en los sistemas de cultivo actuales. Los medios de cultivo convencionales a menudo contienen componentes de origen sintético o derivados de recursos no renovables, lo que plantea preocupaciones sobre la sostenibilidad a largo plazo de estas prácticas. Además, la composición fija de estos medios puede no ser óptima para las etapas de crecimiento de las microalgas (Gil, 2010).

La solución viable consiste en el desarrollo de medios de cultivo a base de recursos renovables, como desechos orgánicos o subproductos industriales, que podría disminuir los costos operativos. Este enfoque no sólo favorecería la

viabilidad económica de los productores, sino que también que contribuyan a la sostenibilidad ambiental a largo plazo, al reducir la dependencia de recursos no renovables y minimizar la generación de residuos, siendo sostenibles en la producción de las microalgas. Sin embargo, surge la necesidad de evaluar la efectividad y seguridad de los fertilizantes comerciales en cultivos de microalgas, debido a que estos productos, son originalmente diseñados para plantas terrestres, los cuales son capaces de promover el crecimiento.

Aunque el uso de fertilizantes agrícolas en el cultivo de microalgas es un tema que requiere atención, al ser fertilizantes más económicos, su uso no ha sido estudiado exhaustivamente si tienen algún efecto en las características morfológicas de las microalgas. Por tanto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el crecimiento poblacional, y densidad celular de *Ch. muelleri* bajo condiciones controladas con fertilizantes agrícolas de uso comercial.

4. JUSTIFICACIÓN

La investigación sobre el uso de fertilizantes agrícolas en el cultivo de *Chaetoceros muelleri* se justifica por múltiples razones: científica, económica y ambiental. El género *Chaetoceros* pertenece a un grupo de microalgas ampliamente utilizado en la acuicultura, debido a su alto valor nutricional y su capacidad para estimular el crecimiento de las especies cultivadas, en la cría de moluscos y crustáceos (Hernández, 2014). Además, poseen potencial considerable en aplicaciones biotecnológicas, como la producción de biocombustibles y la extracción de compuestos bioactivos, y su uso en proceso de biorremediación.

Este estudio busca abordar la necesidad de encontrar alternativas viables y sostenibles para el cultivo de microalgas, especialmente para mejorar la densidad celular. El uso de fertilizantes agrícolas como Stimufol representa una opción accesible y de bajo costo para los productores acuícolas, permitiéndoles mantener la producción sin recurrir a medios de cultivo costosos como el F/2 de Guillard. En contexto la viabilidad de estos fertilizantes podría ofrecer soluciones efectivas para mejorar la rentabilidad de cultivos de microalgas a gran escala.

Desde un punto de vista científico, la eficacia de los fertilizantes agrícolas comerciales en el cultivo de *Ch. muelleri* es fundamental para mejorar los métodos de cultivo y las condiciones óptimas de pH, utilizando las concentraciones adecuadas. Este reporte puede proporcionar información valiosa sobre como diferentes regímenes nutricionales que afectan el crecimiento poblacional de microalgas y la optimización los procesos de cultivo.

Económicamente, debido al alto costo de los medios de cultivo especializados representa una barrera significativa para la producción a gran escala de microalgas. Los fertilizantes agrícolas comerciales, que suelen ser más accesibles, podrían ofrecer una alternativa viable para reducir los costos de producción. Esto facilitaría la expansión y escalabilidad de la producción de microalgas, haciendo más accesible su cultivo a gran escala (Gómez, 2011).

La presente investigación tiene como objetivo evaluar la respuesta de *Ch. muelleri* a fertilizantes comerciales, con el fin de desarrollar un método de cultivo que sea económico y eficiente en términos de producción de biomasa, crecimiento poblacional y densidad celular. Sin embargo, que los fertilizantes agrícolas pueden brindar un mayor crecimiento y una composición similar a los medios especializados, lo cual garantiza la calidad de las microalgas para que sean

adecuadas como alimento en la industria acuícola. Esto contribuirá a optimizar las técnicas de cultivo, brindar información valiosa a los productores, y ofrecer soluciones para reducir costos, mejorar la eficiencia y fomentar una producción más sostenible en la acuicultura.

5. OBJETIVO GENERAL

Analizar el desempeño de un fertilizante agrícola comercial como alternativa al medio Guillard F/2 en el cultivo de *Chaetoceros muelleri* mediante el análisis de crecimiento y características morfológicas durante dos ciclos de producción

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar la densidad celular de los diferentes tratamientos experimentales a través de la cámara de Neubauer evaluando la dinámica de crecimiento de *Ch. muelleri*,
- Identificar las características morfológicas de *Ch.muelleri* entre los tratamientos experimentales, identificando diferencias en la estructura.
- Comparar la cinética de crecimiento de *C. muelleri*, bajo los efectos del fertilizante agrícola comercial durante dos ciclos de producción.

7. HIPÓTESIS

(Ho): El uso de fertilizante comerciales agrícola no incrementa la densidad celular de *Chaetoceros muelleri* en el sistema de cultivo.

8. MARCO TEÓRICO

8.1 Las microalgas y su importancia en acuicultura

Las microalgas son microorganismos unicelulares fotosintéticos que juegan un papel esencial en la producción primaria de los ecosistemas acuáticos. Son capaces de transformar dióxido de carbono en materia orgánica y oxígeno a través de la fotosíntesis, lo que las convierte en productores primarios clave en las cadenas tróficas tanto marinas como de agua dulce. Como confirma Behrenfeld (2021) que las microalgas aportan a cerca del 50% de la producción primaria global y de la producción total de oxígeno en la Tierra, siendo una fuente fundamental para la vida acuática y diversos procesos ecológicos. Esta capacidad fotosintética alta y su diversidad les permiten producir una amplia variedad de metabolitos valiosos y sostener ecosistemas acuáticos sostenibles (Richmond & Hu, 2013).

En acuicultura, las microalgas se utilizan como alimento vivo, especialmente en las etapas larvarias de peces, moluscos y crustáceos, debido a su alta concentración de nutrientes, como ácidos grasos esenciales, proteínas, vitaminas y antioxidantes, lo que contribuye a mejorar la calidad del cultivo y la supervivencia de los organismos. Además, su cultivo puede controlarse en ambientes cerrados, lo que asegura una calidad constante (Cubero, 2024).

La implementación de cultivos de microalgas en sistemas acuícolas también aporta beneficios ambientales, al actuar como la biofiltración de compuestos nitrogenados y fosfatados, ayudando a purificar el agua en sistemas de recirculación acuícola; esto promueve la sostenibilidad del cultivo, y contribuyendo a la economía circular mediante la producción de biomasa útil con bajo impacto ambiental (Smetana, 2017).

Ch. muelleri es una especie de diatomea marina, distribuida en ambientes salinos, aguas costeras y estuarios. Se caracteriza por sus células alargadas y circulares que forman cadenas, lo que contribuye a su morfología única. Prospera en aguas con altas concentraciones de nutrientes, lo que la convierte en un componente importante en la red trófica marina. Evidentemente por su alta tasa de crecimiento, *Ch. muelleri* puede reproducirse rápidamente en condiciones óptimas, lo cual es valioso para la acuicultura (Piña, et al.,2005).

Su capacidad de adaptarse a diferentes niveles de salinidad resalta su resiliencia ecológica. Además, de su importancia ecológica, *Ch. muelleri* es una fuente rica en ácidos grasos esenciales y carotenoides, en particular ácido eicosapentaenoico (EPA) y fucoxantina, los cuales son beneficiosos tanto para la salud humana como para la acuicultura. Estos compuestos mejoran el perfil

nutricional de los alimentos destinado a peces y mariscos, favoreciendo un mejor crecimiento y salud en los sistemas acuícolas. Sumado a lo anterior las investigaciones indican que esta microalga absorbe eficazmente los nutrientes, lo que la hace adecuada para aplicaciones de biorremediación (Rabiee, 2021).

8.2 Características de *Chaetoceros muelleri*

Taxonomía

Reino: Chromista

Filo: Bacillariophyceae

Clase: Mediophyceae

Orden: Chaetocerotales

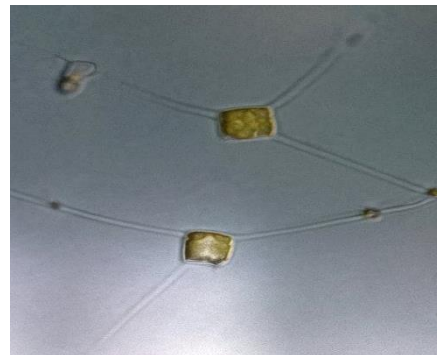
Familia: Chaetocerotaceae

Género: *Chaetoceros*

Especie: *muelleri*

Figura 1

Chaetoceros muelleri



Ch. muelleri pertenece al grupo de las Bacillariophyceae (diatomeas), ampliamente utilizada en acuicultura por su perfil nutricional y adaptabilidad.

Presenta células de forma elíptica con frústulas silíceas, que contienen pigmentos como la clorofila a, c y fucoxantina, responsables de su coloración amarillo-marrón (Piña, 2005).

Una de sus características distintivas es la presencia de setas largas en sus extremos, que ayudan a evitar la depredación por organismos filtradores y facilitan su suspensión en la columna de agua. Su tamaño celular según Robles (2007), *C. muelleri* es una diatomea marina se caracteriza por presentar células individuales o solitarias, con una pared celular que contienen pocas sílices, tienen forma elíptica y mide entre largo 4.5, y 20 μm ancho 4 a 15 μm , su coloración es amarillo-marrón, la frústula posee cuatro setas alargadas, las setas tienen forma circular a subcircular en la sección transversal y la longitud de las setas varían entre 15 μm a 35 μm , es ideal para el consumo por larvas de camarón y moluscos (Medina, 2021).

Esta especie se cultiva con facilidad tanto en laboratorio y sistemas abiertos, mostrando un crecimiento rápido y en condiciones óptimas. Además, contiene altos niveles de ácidos grasos esenciales como el EPA, que es fundamental para el desarrollo de larvas en acuicultura (Rabiee Khatami, 2021).

8.2.1 Pigmentos fotosintéticos y coloración

Los pigmentos predominantes en *Ch. muelleri* incluyen clorofila a, clorofila c y fucoxantina. Estos pigmentos permiten la absorción eficiente de luz en el rango azul-verde, adaptándose bien a condiciones de baja luminosidad en ambientes acuáticos. La fucoxantina, en particular, es la responsable del color marrón-dorado característicos de esta microalga (Borowitzka, 2018).

8.2.2 Presencia de setas silíceas

Una de las características morfológicas más distintivas de esta especie es la presencia de setas largas y delgadas (extensiones silíceas en los extremos celulares), que cumplen una doble función: ayudan a mantener la célula en suspensión, aumentando la superficie para flotabilidad, y actúan como defensa mecánica frente a organismos filtradores como rotíferos y copépodo (Miranda, 2022).

8.2.3 Reproducción

La microalga *Ch. muelleri*, perteneciente al grupo de las diatomeas, se reproduce principalmente de forma asexual mediante división celular binaria, en la que cada célula origina dos células hijas que conservan las características morfológicas de la especie. En condiciones favorables, esta reproducción rápida permite el establecimiento de altas densidades celulares en poco tiempo, lo que la convierte en una especie muy utilizada en acuicultura como alimento vivo para larvas de peces, camarones y moluscos. En menor medida, también puede presentar reproducción sexual cuando las células alcanzan un tamaño crítico mínimo, lo que garantiza la regeneración del ciclo celular y la variabilidad genética (Müller Navarra, et al., 2000).

8.2.4 Tamaño celular y compatibilidad con larvas

El tamaño celular, según Steven Purcell (2012), *Ch. muelleri* oscila entre 4.5 a 20 μm de largo, lo cual es óptimo para la alimentación de larvas de bivalvos, peces y especialmente postlarvas de *Penaeus vannamei* (camarón blanco). Su pequeño tamaño facilita la ingestión y digestibilidad por organismos en estadios larvarios tempranos (Huerlimann, 2015).

8.3 Composición nutricional y valor en acuicultura

Ch. muelleri es rica en ácidos grasos poliinsaturados, en particular el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3), que es fundamental para el desarrollo del sistema inmunológico, la formación de membranas celulares y el crecimiento larvario. También contiene proteínas, vitaminas del complejo B y antioxidantes como β -caroteno, lo cual la convierte en un alimento de alta calidad en hatcheries (Huerlimann, 2015).

8.3.1 Nutrientes esenciales para el cultivo de microalgas

El desarrollo adecuado de microalgas depende de la disponibilidad de nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo, silicio, hierro y micronutrientes como el zinc, cobre y manganeso. En la Tabla 1, se presentan las funciones principales en las que participan estos elementos. Entre las funciones se mencionan: procesos bioquímicos fundamentales, incluyendo la fotosíntesis, síntesis de proteínas y división celular (Saratale, 2022).

Las diatomeas, como *Ch. muelleri*, requieren además silicio para formar sus frústulas. En condiciones de deficiencia, el crecimiento se ve afectado y la morfología celular puede alterarse. Por tanto, los medios de cultivo deben estar cuidadosamente formulados para garantizar el suministro balanceado de estos nutrientes.

La adición de vitaminas, como la tiamina (B1), biotina y cianocobalamina (B12), estos nutrientes son muy importante para muchas microalgas, ya que estas vitaminas actúan como cofactores en reacciones enzimáticas vitales. En medios comerciales como el F/2, estos nutrientes se añaden en concentraciones específicas que aseguran el crecimiento óptimo (Piñera, 2001).

Tabla 1

Nutrientes esenciales para microalgas

Nutriente	Función principal en las microalgas
Carbono (C)	Elemento importante para formar carbohidratos, lípidos y proteínas a través de la fotosíntesis.
Nitrógeno (N)	Síntesis de proteínas, enzimas, ácidos nucleicos y clorofila, influye en el crecimiento y desarrollo de la célula
Fósforo (P)	Componente de ATP, ácidos nucleicos y fosfolípidos necesario para la estructura de membranas celulares y ayuda con el metabolismo energético

Azufre (S)	Componentes de ciertos aminoácidos (cisteína, metionina) y coenzimas para procesos metabólicos.
Silicio (Si)	Formación de frústulas (pared celular de sílice) que favorecen en la protección y estructura de la célula.
Hierro (Fe)	Transporte de electrones en fotosíntesis y síntesis de clorofila.
Manganeso (Mn)	Participa en la fotólisis del agua en la fotosíntesis y actúa como liberador de oxígeno
Zinc (Zn)	Activación de varias enzimas y síntesis de proteínas, que participan en la síntesis del ADN y la división celular.
Cobre (Cu)	Cofactor enzimático en la fotosíntesis y metabolismo energético, es importante para la formación de pigmentos
Molibdeno (Mo)	Permite la fijación y metabolitos de nitratos en formas de nitrógenos asimilables por la célula.
Boro (B)	Estabilidad de membranas y el transporte de azúcares dentro de la división celulares.
Vitamina B ₁ (Tiamina)	Reacciones metabólicas para la producción de energía
Vitamina B ₁₂ (Cobalamina)	Síntesis de ADN y contribuyen con el proceso del crecimiento celular
Biotina	Síntesis de ácidos grasos y aminoácidos esenciales.

Nota: En esta tabla muestra como los nutrientes actúan en varios factores del crecimiento de las microalgas

8.3.2 Uso de fertilizantes agrícolas en el cultivo

En algunos casos, los fertilizantes agrícolas (como nitrato de amonio, urea o fosfato monopotásico) pueden utilizarse como sustitutos económicos de medios estándar como el f/2 de Guillard. Sin embargo, el uso de fertilizantes requiere un control riguroso de la concentración, ya que excesos pueden alterar la calidad nutricional de la microalga o favorecer la proliferación de contaminantes (Becker, 2013).

8.3.2.1 Fertilizantes NPK

Los fertilizantes NPK han sido ampliamente probados como sustitutos parciales o medios convencionales. En *Isochrysis galbana*, la aplicación de NPK 20-20-20 soluble permitió obtener biomasa comparable al medio f/2, pero con menor costo de producción (Bustos, 2022). De igual manera, Silva Benavides (2015) cultivo *Chlorella sorokiniana* usando como nutrientes NPK 20-20-20 y NPK 22-10-7 alcanzó un mayor número de células, mayor biomasa y concentración de clorofila, lo cual favoreció la eficiencia fotosintética.

8.3.2.2 Fertilizantes nitrogenados y fosfatados simples

Desde la posición de Bhatnagar et al. (2017) *Scenedesmus* sp., inventó una combinación de urea, sulfato de amonio y superfosfato, que logro generar mayor densidad celular y biomasa que el medio BG-11. Asimismo, Collahuazo-Reinoso et al. (2019). el empleo conjunto de urea y superfosfato en *Nostoc* sp., *Anabaena doliolum*, *Westiellopsis* sp., *Chlorella minutissima* y *Scenedesmus* sp. permitió alcanzar un buen peso seco de biomasa, confirmando su viabilidad en sistemas cerrados.

8.3.2.3 Fertilizantes foliares completos

El uso de fertilizantes foliares también han mostrado resultados positivos de acuerdo con Soto (2022); la aplicación de un fertilizante completo 9-9-7 diluido al 3 % promovió un incremento en biomasa y crecimiento celular de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp., al aportar tanto macronutrientes como micronutrientes esenciales (Soto, 2022). De forma similar, en *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana*, desde el punto de vista de Panta Vélez (2017) el fertilizante foliar Stimufol resultó más efectivo que Complefol, consolidándose como una opción viable de bajo costo frente al medio Guillard f/2.

8.3.2.4 Otras formulaciones agrícolas

En *Chlorella pyrenoidosa* y *Botryococcus braunii*, fertilizantes como Gandasil D (NPK con microelementos) y Growmore 20-20-20 como plantea Piña (2023) que logró a obtener una producción de biomasa estable de aproximadamente 0,19–0,20 g/L. Según Kuo et al (2023) en *Chlorella* sp. se observó una mayor producción de luteína, cultivada en medios agrícolas a base de urea, también representa costos reducidos.

Por otra parte, en *Nannochloropsis* sp. se evaluaron Bayfolan Forte, Grogreen y Nitrofoska, encontrándose que Bayfolan Forte como afirma Aguillar et al (2020) fue el fertilizante más eficiente en la generación de altas concentraciones celulares, mientras que los otros dos mostraron menores rendimientos. En la Tabla 2 se presenta un resumen de la revisión bibliográfica del uso de fertilizantes agrícolas como fuente de nutrientes para el crecimiento de microalgas.

Tabla 2*Estudios con fertilizantes agrícolas en distintas especies de microalgas*

Especie Microalga	Fertilizante Usado	Resultados Principales	Autor/Año
<i>Isochrysis aff. Galbana</i>	NPK 20-20-20 (soluble)	Biomasa equivalente a f/2, menor costo	Bustos & Roncarati, 2022
<i>Scenedesmus</i> sp.	Urea, Sulfato de amonio, Superfosfato simple	Mayor densidad celular y biomasa que BG-11	Bhatnagar et al., 2017
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> , <i>Botryococcus braunii</i>	Gandasil D (NPK + microelementos), Growmore 20-20-20	Producción de biomasa estable (~0.19-0.20 g/L)	Piña, 2023
<i>Chlorella</i> sp.	Urea (y medio agrícola)	Mayor producción de luteína, costos reducidos	Kuo et al., 2023
<i>Microalgas varias</i>	Urea, NPK 20-20-20	Medios simples, sin trazas/vitaminas, crecimiento aceptable	Ana Parraga, 2019
<i>Nostoc</i> sp., <i>Anabaena doliolum</i> , <i>Westiellopsis</i> sp., <i>Chlorella minutissima</i> , <i>Scenedesmus</i> sp	Urea + Superfosfato	Buen peso seco de biomasa, viable en sistemas cerrados	Collahuazo-Reinoso & Araujo-Abad, 2019
<i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp.	Fertilizante foliar completo 9-9-7 diluido al 3%	Biofertilizante con macronutrientes y micronutrientes, mayor crecimiento y biomasa	Soto, 2022

<i>Nannochloropi</i> sp	Bayfolan Forte , Grogeen , Nitrofoska	Bayfolan Forte obtuvo mayor concentración celular; los demás fertilizantes mostraron menor rendimiento	Aguilar Guadalupe , 2020
<i>Chlorella</i> <i>sorokiniana</i>	NPK 20-20-20 ;NPK 22-10-7	Mayor número de células, mayor biomasa y concentración de clorofila	Silva Benavides, 2015
<i>Chaetoceros</i> <i>gracilis</i> ; <i>Isochrysis</i> <i>galbana</i>	Complefol, Stimufol	Stimufol, representan una alternativa viable y de bajo costo para el cultivo de microalgas	Panta Vélez Rodolfo, 2017

8.4 Condiciones ambientales

Durante muchos años, se han estudiado a las microalgas y técnicas para su cultivo tratando de mantener las condiciones óptimas establecidas por la naturaleza. Las primeras investigaciones de cultivos realizados fueron bajo las condiciones estáticas. Sin embargo, el crecimiento para obtener un desarrollo óptimo de los cultivos de microalgas depende de múltiples factores que influyen en su desarrollo. Para obtener un cultivo de microalgas en fase crecimiento activo, es preciso mantener los elementos esenciales como: inóculo viable de tamaño adecuado,

suministro de nutrientes, micro y macronutrientes, y las condiciones adecuadas químicas (como el pH) y físicas (incluyendo luz, aireación, temperatura, salinidad).

La luz es la fuente de energía que activa las reacciones fotosintéticas en las algas y donde influye la intensidad, la calidad espectral, y el fotoperíodo. Sus periodos de exposición a ésta pueden ser continuos (mediante luz artificial), discontinuos (periodos de iluminación alternados con periodos de oscuridad, también con luz artificial) o en el ciclo natural de día y de noche, según Hoff & Snell (2008) con una intensidad 8000-10000 (Lux) (Richmond, 1986).

La temperatura es una variable importante en los cultivos de microalgas, aunque esto puede variar según la composición del medio de cultivo. Según Gualtieri (2006) para varias especies de diatomeas, la temperatura óptima oscila entre 15-30°C. Cuando existen temperaturas bajas puede provocar una disminución de crecimiento, y en temperaturas altas provocaría que las microalgas colapsaran.

El pH según Hoff & Snell (2008) para las especies de algas más cultivadas es de un rango de intervalo de 7 y 9, con la gama óptima de 8.2-8.7, aunque hay especies que habitan en medios más ácidos o básicos (Borowitzka, 2018).

La salinidad varía según la especie, en cultivos interiores (el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera) no es controlado y se maneja la salinidad

de 20-35 ppm. Sin embargo, en cultivo a exterior (el cultivo está en contacto con la atmósfera). La salinidad se convierte en un parámetro importante de control para la optimización del crecimiento de la microalga (Tan, 2020)

8.5 Tipos de cultivo

El cultivo de *C. muelleri* puede desarrollarse en sistemas abiertos o cerrados, según el propósito de producción y los recursos disponibles. Los cultivos abiertos, como estanques o raceways, permiten producir grandes volúmenes de biomasa con bajo costo, por lo que resultan adecuados para hatcheries y centros de cultivo que requieren alimento vivo en grandes cantidades. Sin embargo, presentan un mayor riesgo de contaminación por bacterias, protozoos u otras microalgas, lo cual puede comprometer la calidad y la disponibilidad del producto final (Mata, 2010).

8.5.1 Cultivos Cerrados

Este cultivo se realiza en dispositivos como los fotobiorreactores, garrafas o bolsas plásticas, donde controlan las condiciones de temperatura, salinidad, nutrientes y luz estrictamente. Aunque son más costosos, permiten mantener cultivos puros y de alta calidad, lo que los convierte en la mejor alternativa para la producción de inóculos y la conservación de cepas madre. Este control resulta esencial para evitar contaminación (Fernández, 2014).

8.5.2 Cultivo Semicontinuo

En este sistema se retira periódicamente una fracción del cultivo y se reemplaza con medio fresco, logrando prolongar la fase exponencial de crecimiento y mantener una producción constante de células de alta calidad. Esta técnica se emplea en laboratorios y centros de producción larvaria, asegurando un suministro continuo sin necesidad de reinicios frecuentes del cultivo (Becker, 2013).

8.5.3 Cultivo Continuo

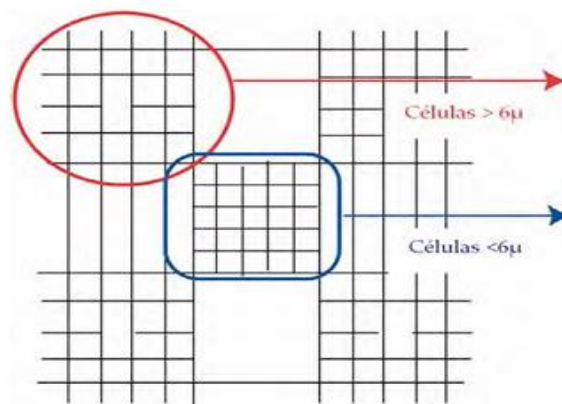
Consiste en el suministro permanente de medio fresco y la extracción automática del excedente de biomasa. Este sistema mantiene condiciones ambientales estables y permite una productividad uniforme y sostenida. Aunque requiere mayor inversión y conocimientos técnicos para su manejo, es considerado uno de los métodos más eficientes para la producción industrial de microalgas, tanto para la acuicultura como para aplicaciones en bioenergía y biotecnología (Urbano, 2017).

8.6 Conteo celular

Para la determinación de la densidad celular se realiza bajo un microscopio utilizando un hematocitómetro o cámara de Neubauer, En la (Figura 2) se muestra el patrón del conteo del hematocitómetro, las células que se encuentran en las cuadrículas A, B, C y D son contadas dependiendo de micrómetro celular, el volumen del agua en cada cuadrado es de 1/10000 en un milímetro.

Figura 2

Conteo celular en Cámara Neubauer de acuerdo con el tamaño de células microalgales



Autor: Ynga y Niño (2019)

El monitoreo de la densidad poblacional de *C. muelleri* se realiza mediante conteo celular directo en cámara de Neubauer o Sedgwick-Rafter bajo microscopio óptico, y en algunos casos con fluorimetría (clorofila-a). El conteo diario o

periódico facilita el seguimiento del ciclo de crecimiento y permite detectar anomalías en la cinética celular.

A partir de los datos obtenidos del conteo, se pueden calcular parámetros clave como la tasa de crecimiento específica (μ), el número de divisiones celulares por día, y el tiempo de duplicación. Estos cálculos relacionados al crecimiento de microalgas se llevan a cabo mediante modelos matemáticos, entre los que destaca el modelo exponencial logarítmico, que utiliza logaritmos naturales para analizar el crecimiento durante la fase exponencial. Además, en algunas investigaciones también se ha empleado el modelo de Monod, que relaciona la velocidad de crecimiento de microalgas con la disponibilidad de nutrientes, este modelo nos ayuda permitiendo entender el comportamiento celular en función de la concentración limitante de sustratos (Voltolina, 2007).

8.7 Cinética del crecimiento

La curva de crecimiento celular se representa en seis fases clásicas: latencia (adaptación inicial), aceleración (incrementación celular), exponencial (máxima tasa de división celular), desaceleración (la tasa de división celular disminuye, aunque, en vista del alto número de células) estacionaria (equilibrio entre división y muerte celular) y muerte (agotamiento de nutrientes o acumulación de desechos) (Figura 3). El conocimiento de esta cinética es esencial para cosechar la microalga

en fase exponencial, momento en el que presenta mayor calidad nutricional para su uso en acuicultura Arredono et al. (2007).

8.7.1 Fase de Lag

El comportamiento depende inicialmente del cultivo, de las que también en gran medida de las células del inóculo. Cuando las células del inóculo ya que si no se encuentran en condiciones metabólicas adecuadas se presenta una fase retardo del crecimiento por la cual habrá un retardo en el crecimiento, otro de los factores que pueden causar retardo son las condiciones de temperatura, iluminación y pH.. (Mata, 2010).

8.7.2 Fase de aceleramiento

Se obtiene de diferentes componentes estructurales que se incrementan mediante secuencias, iniciando con RNA (ácido ribonucleico) seguido de las proteínas y el peso individual. La concentración celular generalmente suele medirse en la última muestra en crecimiento, lo cual desarrolla y se refleja el estado del cultivo de microalgas (Morales, 2023).

8.7.3 Fase exponencial

Durante esta fase, la tasa de crecimiento tiene alcanzar su valor máximo y se mantiene constante, en vista de la falta de factores limitantes, permanece aproximadamente constante. Por esta razón, la concentración celular aumenta rápidamente, aunque no se alcanzan valores muy elevados (Becker, 2013).

8.7.4 Fase de desaceleración

En esta fase se empieza a notar el efecto de una menor disponibilidad de uno de los factores que regulan el crecimiento, por lo cual las condiciones de cultivo son subóptimas. En consecuencia, la tasa de división celular es reducido, aunque también la concentración celular alcanza su máximo valor debido a que el alto número de células presente. En esta fase la composición bioquímica de la biomasa cambia de manera opuesta a la mencionado durante la fase de aceleración Arredondo, et al. (2007).

8.7.5 Fase estacionaria

En esta fase las condiciones de cultivo limitan el crecimiento y la tasa de natalidad es igual a la mortalidad, haciendo que la concentración celular y los

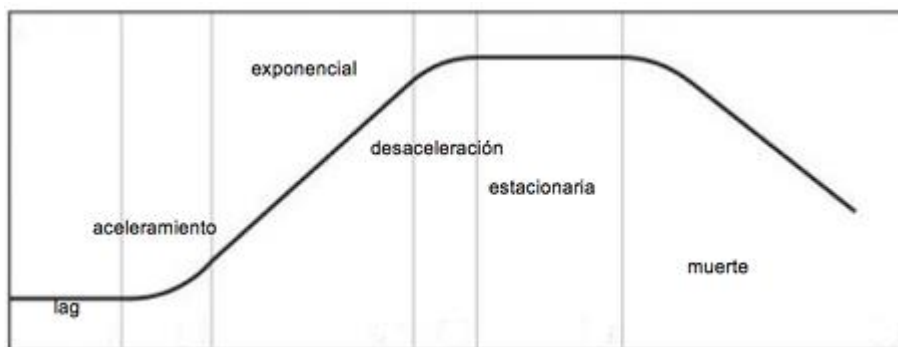
componentes de la biomasa permanecen estables. Este comportamiento suele ser causado por las bajas concentración de algunos de los nutrientes de alto valor del pH, con consiguiente poca disponibilidad de sustrato fotosintético, o a una excesiva concentración de oxígeno, aunque con frecuencia el motivo más importante es la pobre penetración de la luz causada por la alta concentración celular (efecto de autosombreado). (Hernández, 2014).

8.7.6 Fase de muerte

La tasa de mortalidad suele por lo general ser mayor que la natalidad, por lo que provoca una disminución en la concentración celular. Esto también ocasiona, una baja biomasa unitaria como resultado de un incremento en la proporción entre respiración y fotosíntesis ya a la falta de nutrientes, que conlleva a la muerte o lisis celular (Gómez, 2011).

Figura 3

Curva de crecimiento típica para una población de microalgas



Autor Arredondo y Voltolina (2007)

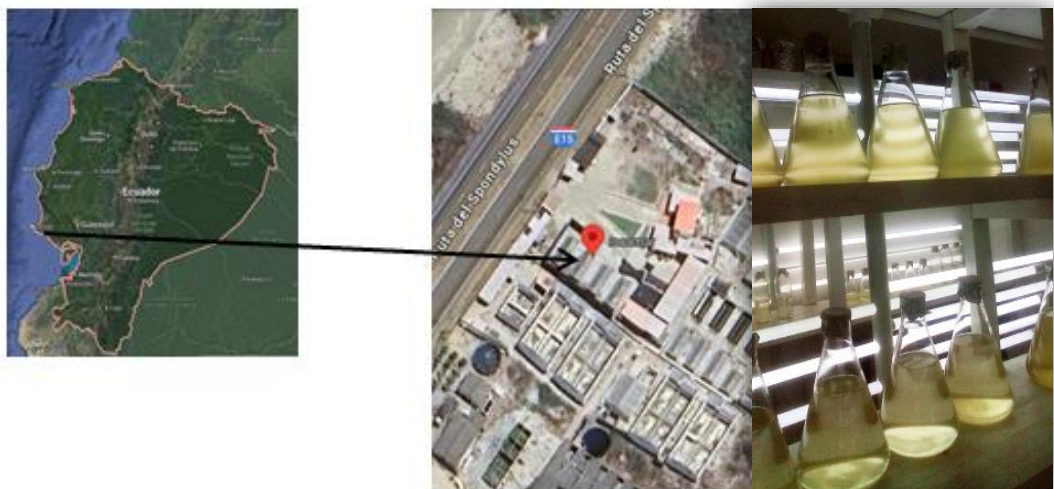
9. METODOLOGÍA

9.1 Área de estudio

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio INCAMAR, ubicado en la comuna San Pablo, Provincia de Santa Elena, Ecuador, es una instalación especializada en la producción de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) con una trayectoria destacada en el campo de la larvicultura. Posee 3 departamentos: Área de microalgas, artemia, y larvas de camarón (Figura 4).

Figura 4

Ubicación del laboratorio "INCAMAR"



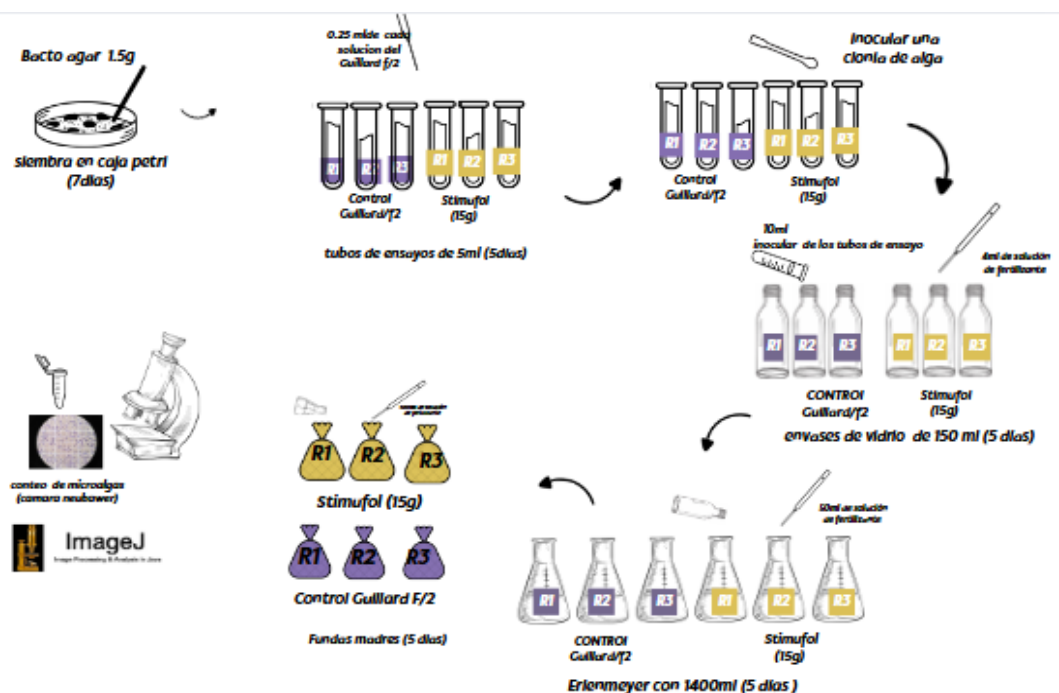
Nota: Las imágenes fueron obtenidas por Google Earth (2024)

9.2 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) en el cultivo de microalgas *C.muelleri*, con 2 tratamientos experimentales los cuales son, el medio Guillard/F2 servirá como control, y fertilizante Stimulfol, (Figura 5). Este diseño se aplicó en dos ciclos de producción de microalgas

Figura 5

Diseño experimental de cultivo de microalgas C.muelleri



Nota: Fase de cultivo de microalga *C. mulleri* en medio de cultivo fertilizante agrícola (Stimulfol y Guillard f/2).

9.3 Mantenimiento de las cepas

Se obtuvo la cepa pura de *Chaetoceros muelleri* de una colección de cultivos de algas del laboratorio. Las cepas fueron mantenidas en cajas Petri, y se realizó un escalamiento de volumen del cultivo desde tubos de 10 ml hasta 20 L, con medio de cultivo de los diferentes fertilizantes: (A) Medio Guillard F/2 (B), Stimulfol con tres réplicas. Se conservaron en condiciones controladas de parámetros físicos químicos: salinidad (25 ppm), luz continua, temperatura de 20-27°C, con un pH entre un rango 7 y 9. Se evaluó la densidad poblacional durante los dos ciclos de producción.

9.3.1 Cultivos

Se preparó una disolución de 5g en 500ml, con la misma concentración ajustando la cantidad para adicionar según el volumen de agua, es decir en tubos de ensayo de 10 ml se aplicó 0,25 ml de la disolución, envases de 150 ml, se adiciono 4ml, envases de 2 L, se incorporó 50 ml, y finalmente en carboys de 20 L, se añadió 500 ml. Cada tratamiento fue replicado tres veces, lo que resultó un total de 6 unidades experimentales, por cada volumen de agua, que conformaron un sistema de cultivo por 31 días, para efectuar el conteo celular.

9.4 Preparación de soluciones

9.4.1 Fertilizantes

Para la preparación de la solución de fertilizantes se utilizó el producto comercial Stimulfol, agregando 5 g por cada 500 ml de agua destilada. La preparación fue homogenizada y autoclavada a 121°C, para su posterior adición a los medios de cultivos (Tabla 3).

Tabla 3

Composición química de fertilizante agrícola (Stimulfol)

Componentes	Fórmula	Peso (g)
Fertilizante agrícola A		
Nitrato de sodio	NaNO ₃	77.16
Nitrato	NO ₃	7.8
Amonio	NH ₄	7.8
Fosforo	CO(NH ₂) ₂	16.4
Sílice	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	
EDTA férrico	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ NaFeO ₈	5.00
Sulfato de zinc	ZnSo ₄ ·7H ₂ O	22.00
Cloruro de manganoso	MnCl ₂ ·4H ₂ O	180.00

9.4.2 Medio de cultivo Guillard F/2

El medio de cultivo Guillard F/2 se preparó a partir de agua de mar filtrada y esterilizada a 15 psi de presión, a la que se añadieron los nutrientes en concentraciones de acuerdo con la descripción a continuación:

9.4.2.1 Solución 1 (nitratos):

Los macronutrientes necesarios son medidos en función a la (Tabla 2) para el medio Guillard F/2, el nitrato de sodio (NaNO_3), el fosfato de sodio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), el sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y el sulfato de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Se añadieron los compuestos previamente medidos en 500 ml de agua destilada en un recipiente para reactivos. los componentes, fueron autoclavada a 121°C durante 1 horas para esterilizar la reactiva madre o solución 1.

9.4.2.2 Solución 2 (cloruro férrico)

El componente Cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) fue diluido en 500ml de agua destilada para garantizar su correcto posteriormente autolavado a 121°C y 15 psi de presión durante 1 horas, según en función a la Tabla 4.

Tabla 4*Composición química en medios de cultivos: (Guillard F/2)*

Componentes	Fórmula	Peso (g)
Nitrato de sodio	NaNO ₃	75.00
Fosfato de sodio	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	5.00
Metasilicato de sodio	NaSiO ₃ .9H ₂ O	30.00
EDTA férrico	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ NaFeO ₈	5.00
Sulfato cúprico	CuSO ₄ .5H ₂ O	9.80
Sulfato de zinc	ZnSO ₄ .7H ₂ O	22.0
Cloruro de cobalto	CoCL ₂ .4H ₂ O	10.00
Cloruro de manganoso	MnCl ₂ .4H ₂ O	180.00
Molibdato de sodio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	6.30
biotina	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	0.05
cianocobalamina (B12)	C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ P	0.05
Tiamina clorhídrica (B1)	C ₁₂ H ₁₇ CIN ₄ OS	0.01

9.4.2.3 Solución 3 (vitaminas - metales traza)

Los metales traza necesarios, como Sulfato de zinc (ZnSO₄·7H₂O), Sulfato cúprico (CuSO₄·5H₂O), Cloruro de cobalto (CoCl₂·6H₂O), y Paramolibdato de amonio tetrahidratado NH₄Mo₇O₂₄·4H₂O, fueron diluidos en 500 ml de agua destilada. Una vez ajustado el pH, se completó el volumen de la solución a 150 ml con agua destilada. Se autoclavo la solución, una vez ocurrido el periodo de

esterilización la solución se conservó en refrigeración y cubierta para no perder las propiedades vitamínicas de la solución.

9.4.3 Características morfológicas de las microalgas

Para la evaluación de las características morfológicas de las microalgas se siguió los criterios que, de acuerdo con Robles (2007) son: tamaño, forma celular, setas y coloración (Tabla 5). Para aquello, se realizó observación microscópica y se tomaron fotografías, las cuales fueron ingresadas al programa Image J para la medición de las estructuras señalada.

Tabla 5

Características de evaluación de la microalga C. muelleri

Característica	Descripción
Tipo de célula	Células individuales o solitarias
Pared celular	Contiene poca sílice
Forma celular	Elíptica
Tamaño (largo)	4.5 – 20 μm
Tamaño (ancho)	4 – 15 μm
Coloración	Amarillo – marrón
Frústula	Presenta cuatro setas alargadas
Setas – forma en sección transversal	Circular a subcircular
Setas – longitud	15 – 35 μm

9.4.4 Conteo celular

Para la determinación de la concentración de algas por unidad de volumen en los diferentes tratamientos, se utilizó la técnica de numeración directa a través del microscopio usando un hematocitómetro o cámara de Neubauer (Votolina, 2007).

9.4.4.1 Contaje celular en microalgas

La concentración celular (C , cél·mL⁻¹) se calculó utilizando la siguiente ecuación

$$C = N * 10^4$$

Dónde:

N : número de células presentes en 1mm². El número de células se dividen de acuerdo con el número de cuadrantes contados.

10^4 : factor de conversión de 0.1 µL a 1 ml

DC : densidad celular

La tasa de crecimiento (μ): Se calculó con base en los conteos celulares utilizando las formula Louis Pasteur, Monod (1960) se basa en los modelos clásicos de crecimiento poblacional y microbiología.

$$\text{Tasa de crecimiento} = \frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{(T_2 - T_1)}$$

μ : tasa de crecimiento (divisiones/día)

X_2 : densidad celular T_2

X_1 : densidad celular T_1

Ln: logaritmo natural

Número de divisiones por día (D): Para convertir la tasa de crecimiento específica (μ), se calculó con la expresión anterior, a número de divisiones por día (D), se divide entre el logaritmo natural de 2.

$$D = \frac{\mu}{\ln(2)}$$

D = Número de divisiones por día

μ = Tasa de crecimiento específica

El tiempo de duplicación (TD): Es el valor recíproco del número de divisiones por día y se calculó como sigue:

$$TD = \frac{1}{D}$$

TD = Tiempo de duplicación en días

D = Divisiones por día

La producción diaria (PD): Se calculó en base a la diferencia del número de células producidas entre el tiempo t_1 y el tiempo t_2

$$PD = \frac{C1 - C2}{T1 - T2}$$

PD = Producción diaria

C2= producción diaria de células al tiempo.

C1= producción diaria de células al tiempo (t).

T₁ y T₂= tiempo inicial y final en día

Análisis Estadístico

Para tabulación y análisis de datos se utilizó hojas de cálculo de Microsoft Excel 2010 y software PAST versión 4.03, que permitió ejecutar de comparación entre los tratamientos.

Se estableció la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Al comprobar la normalidad de datos se determinó la no normalidad y se procedió a utilizar la Kruskal Wallis. Para determinar el tratamiento que presenta mejores resultados se utilizó la prueba de comparación de Tukey.

10. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Las condiciones físico-químicas que se mantuvieron en los cultivos de microalgas *C.muelleri* fueron los siguientes: temperatura promedio (en niveles de 10 ml hasta 20 L) fue de 21-25 °C, salinidad de 25 ppt, y pH fue de 7,1 a 9,0 .

10.1 Crecimiento de microalgas

CICLO I

El crecimiento de la microalga *C. muelleri*, en la Ciclo I fueron determinados mediante el conteo celular diario, por el lapso de 5 días como se observa en la Figura 6. En volumen de 10 ml el crecimiento inicial con medio de cultivo de Guillard F/2 el valor promedio fue de $9,58 \times 10^5$ cel/ml, así mismo el medio con fertilizante agrícola inició con $6,61 \times 10^5$ cel/ml.

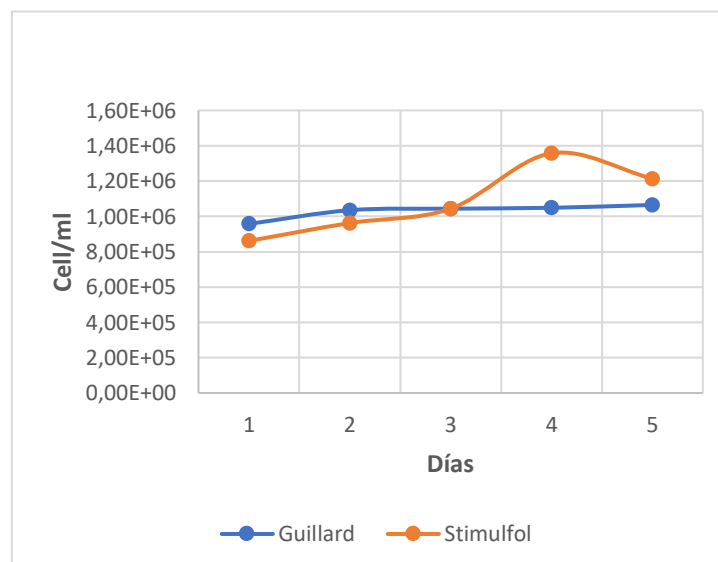
Tanto en los cultivos de medio Guillard F/2 como Stimulfol, en la fase inicial, las células debieron adaptarse al nuevo ambiente; por lo que, entre los días

0 y 1 se presentó la fase lag más amplia, en la que la población ajustó para aprovechar los nutrientes del medio y, tuvo una duración de 48 horas como demostró con una tasa de crecimiento de cultivos fue (5,98), como se evidencia en la Figura 6, así como el número de división celular por día con (0,11).

A partir del día 1 y 2 comenzó la fase exponencial, caracterizada por un aumento progresivo de la densidad celular, posteriormente el tercer y cuarto día una la tasa comenzó a estabilizarse en el medio Guillard f/2, en el quinto día se obtuvo un crecimiento con una producción diaria $7,75 \times 10^4$ cel/ml. En el cultivo de Stimulfol, la densidad celular y en la producción diaria (PD) se obtuvieron al tercer día de cultivo, registrando biomasa de 162×10^4 cel/ml y en el cuarto día de cultivo para Stimulfol $2,56 \times 10^5$ cel/ml. Mediante la prueba de Kruskal – Wallis, el valor $p > 0,87$ se observa que no hay diferencia significativa en la densidad poblacional en comparación de Guillard con Stimulfol.

Figura 6

Tasa de crecimiento (Ciclo I) C.muelleri cultivadas en un volumen de 10ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol

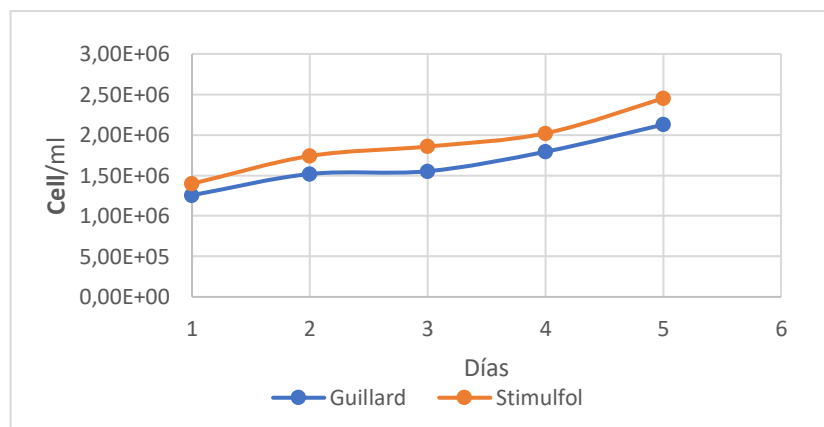


En los cultivos de volumen en 150 ml, la densidad celular inicial promedio para medio Guillard f/2 fue de 1.26×10^6 y Stimulfol de 1.40×10^6 cel/ml, respectivamente. En este nivel, se presentó un bajo crecimiento desde el inicio de los cultivos, con una duración de 48 horas y fue en este periodo del cultivo donde registró una tasa de crecimiento específica (μ) (6,29 y 6,25) y el número de divisiones por día (2,14 y 3,40) para el medio f/2 y fertilizantes agrícolas correspondientemente (Figura 7).

Posteriormente, se presentó una la tasa baja de crecimiento específica (μ) y en el tiempo de duplicación moderado (TD). La máxima producción diaria (PD) se obtuvo al cuarto día para el medio f/2 ($2,41 \times 10^4$ cel/ml) en tanto que, para el medio con fertilizantes agrícolas $1,63 \times 10^5$ cel/ml. La máxima densidad celular se observó al quinto día de cultivo, con ($2,13 \times 10^6$ y $2,45 \times 10^6$ cel/ml) para los cultivos con medio F/2 y Stimulfol, mediante la prueba de kruskal-Wallis el valor de $p > 0,26$, demostrando que no existen diferencias significativas en la densidad poblacional.

Figura 7

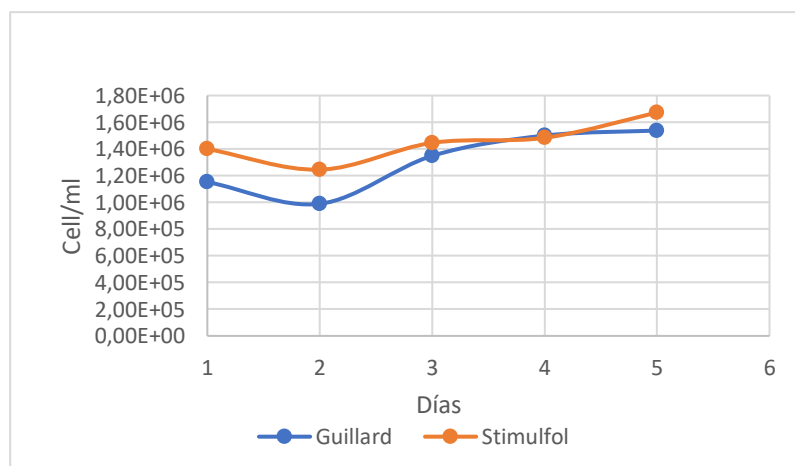
Crecimiento Promedio (Ciclo 1) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 150ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol



A nivel de fernbach, el cultivo de volumen en 2 L, la densidad celular inicial promedio fue de 1.15×10^6 cel/ml para Guillard F/2 y 1.40×10^6 cel/ml para Stimulfol. En este nivel se presentó un aumento crecimiento desde el inicio de los cultivos (Figura 8), con una duración de 48 horas y fue en este periodo del cultivo donde se registró una tasa de crecimiento específica (μ) (6,10 y 6,17) y el menor número de divisiones por día (3,60 y 3,47) para el medio f/2 y fertilizantes agrícolas respectivamente. Después se presentó en fase estacionaria la tasa de crecimiento moderada específica (μ) y un aumento en el tiempo de duplicación (TD). La máxima producción diaria (PD) se obtuvo al tercer día para el medio Guillard f/2 ($3,59 \times 10^5$ cel/ml), por lo tanto, para el medio Stimulfol se obtuvo al cuarto día de cultivo $2,01 \times 10^5$ cel/ml. La máxima densidad celular se registró al quinto día de cultivo, con 1.54 y 1.67×10^6 cel/ml para ambos cultivos. Mediante la prueba de Kruskal -Wallis se comprobó el resultado de $p > 0,631$, mostraron que no hay diferencia significativa en la densidad poblacional.

Figura 8

Crecimiento Promedio (Ciclo I) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 2000 ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol

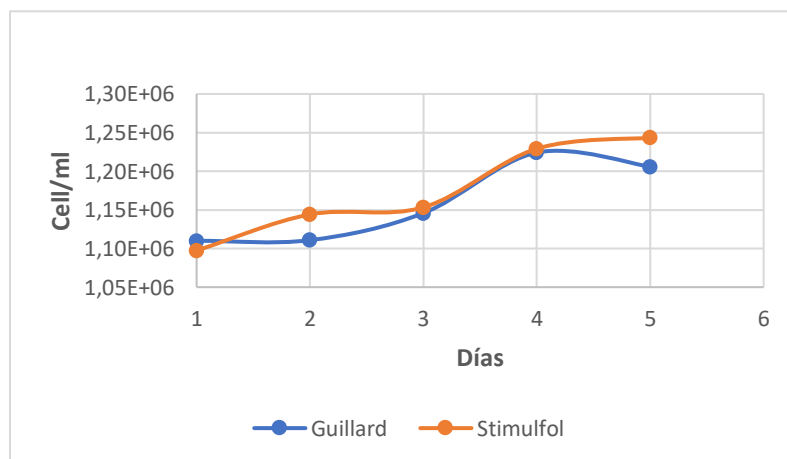


A nivel de volumen en 20 L, la densidad celular inicial promedio fue de 1.11×10^6 cel/ml para Guillard F/2 y 1.10×10^6 cel/ml para Stimulfol, como se observa en la Figura 9. En este nivel, se obtuvo una fase de constante crecimiento con una duración de 48 horas y en este periodo del cultivo se registró una tasa de crecimiento específica de 6,06 y 6,08 para ambos cultivos y el número de divisiones por día (3,38 y 3,40) para el medio f/2 y fertilizantes agrícolas, respectivamente.

La tasa de crecimiento moderada específica (μ) y en el tiempo de duplicación (TD) fue de 0,16. La máxima producción diaria (PD) se obtuvo al cuarto día para el medio Guillard f/2 (7.83×10^4 a 7.58×10^4 cel/ml). Al quinto día, presentó un declive y se registró la densidad (1.21 y 1.24×10^6 cell/ml) para los cultivos con medio f/2 y fertilizantes agrícolas, respectivamente. En base a la prueba de prueba de Kruskal-Wallis el resultado del valor de $p > 0,628$ indica que no hay diferencia significativa de la densidad.

Figura 9

Crecimiento Promedio (Ciclo I) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 20000 ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol

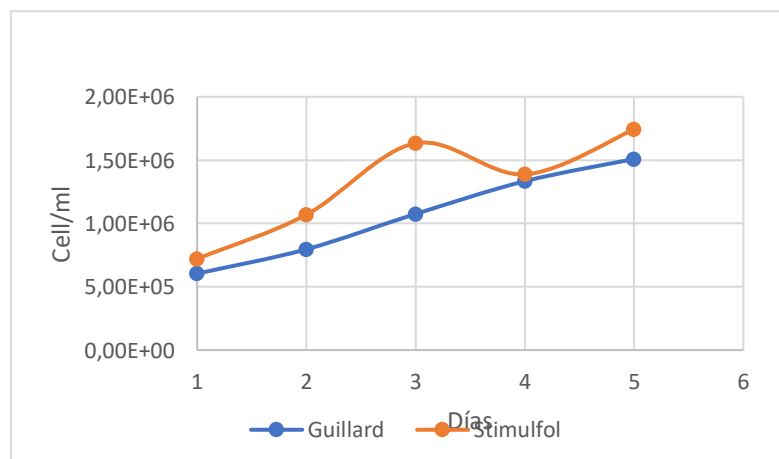


Ciclo II

El crecimiento de la microalga *C. muelleri*, en el Ciclo II se siguió la misma metodología que la primera fase, mediante el conteo celular diario, por el lapso de 5 días como se observa en la (Figura 10). En volumen de 10 ml la densidad celular inicial promedio fue de 6.04×10^5 cel/ml para Guillard F/2 y 7.20×10^5 cel/ml para Stimulfol respectivamente. Se presentó crecimiento contante desde el inicio de los cultivos, con una duración de 48 horas y fue en este periodo del cultivo donde se registró una tasa de crecimiento específica (μ) (5,78 y 6,02) el número de divisiones por día (3,99 y 7,60) para el medio f/2 y fertilizantes agrícolas respectivamente (Figura 10). Para el medio Stimulfol en el tercer día hubo una densidad de cultivo bajo en comparación del medio f/2. La máxima densidad celular se observó al quinto día de cultivo, con $1,51$ y $1,74 \times 10^6$ cel/ml para los cultivos con medio f/2 y fertilizantes agrícolas respectivamente. Mediante Kruskal – Wallis el resultado de valor $p > 0,26$ mostraron que no existe diferencias significativas entre los dos medios de cultivos

Figura 10

Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 10ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol

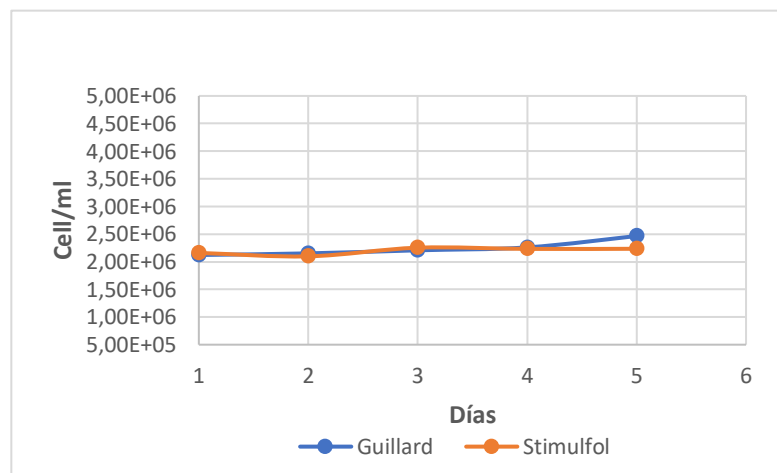


En los cultivos de volumen en 150 ml, la densidad celular inicial promedio 1.26×10^6 cel/ml para Guillard F/2 y 1.40×10^6 cel/ml para Stimulfol. Se presentó un bajo crecimiento desde el inicio de los cultivos, con una duración de 48 horas y fue en este periodo del cultivo donde se registró una tasa de crecimiento específica (μ) (6,33) y el con un número de divisiones por día (3,37 y 3,44) el medio f/2 y fertilizantes agrícolas respectivamente (Figura 11).

En el cultivo Stimulfol hubo una concentración del cultivo leve al tercer día con una densidad de $1,9 \times 10^6$ cel/ml, posteriormente se presentó un moderado crecimiento como se observa en la figura 12, en cambio en Guillard f/2 su crecimiento fue constante. La máxima producción diaria (PD) , al quinto día para Guillard F/2 ($2,13 \times 10^4$ y $2,45 \times 10^5$ cel/ml). Los dos tratamientos de cultivos de Guillard f/2 y Stimulfol en comparación de la prueba de Kruskal-Wallis el valor $p > 5,02$ nos indica que no presentaron diferencias significativas en la densidad poblacional

Figura 11

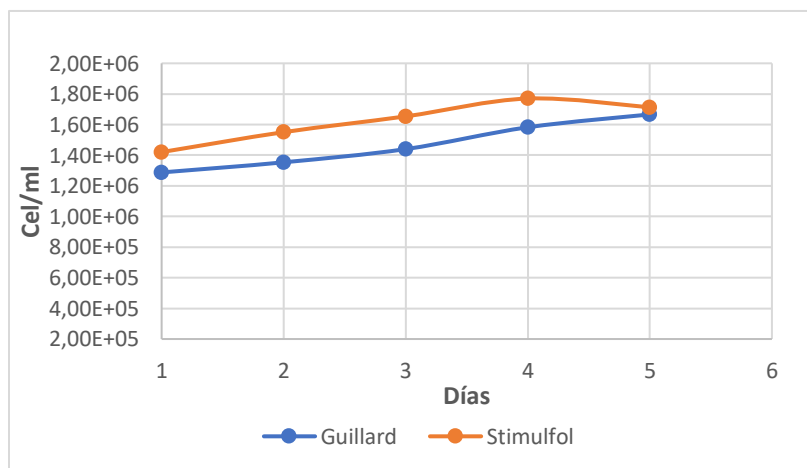
Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 150ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol



Para el cultivo de volumen en 2 L, la densidad celular inicial promedio fue de 1.29×10^6 para medio f/2 y $1,42 \times 10^6$ cel/ml para fertilizante agrícola. En este nivel, se presentó un constante crecimiento desde el inicio de los cultivos, con una duración de 48 horas y fue en este periodo del cultivo donde se registró una tasa de crecimiento (μ) (6,13 y 6,20), en ambos cultivos y divisiones por día (3,45 y 3,49) para el medio f/2 y fertilizantes agrícolas. La máxima producción diaria (PD) se obtuvo al cuarto día para Guillard F/2 fue de $1,42 \times 10^5$ cel/ml, en cuanto para Stimulfol fue de $1,16 \times 10^5$ cel/ml. En el quinto día, se observa un declive (Figura 12) en medio Stimulfol con una baja densidad ($1,71 \times 10^6$); esto se debe a la falta de nutrientes, sin embargo, en el cultivo en medio f/2 se tuvo un crecimiento moderado continuo con una producción diaria de 1.67×10^6 cel/ml. El p valor obtenido fue de $p > 5,02$, que determina no existen diferencias significativas en ambos cultivos.

Figura 12

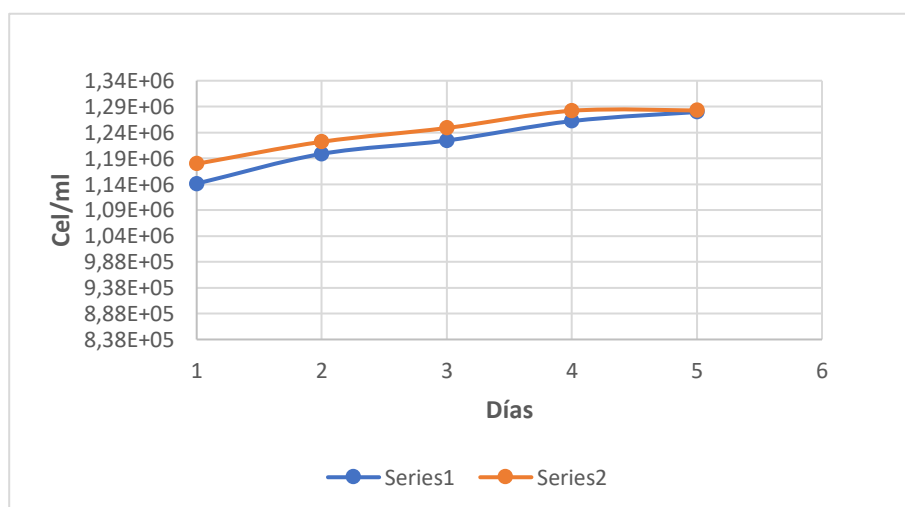
Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 1200ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol



En volumen en 2L, la densidad celular inicial promedio fue de 1.14×10^6 y $1,18 \times 10^6$ cel/ml para medio Guillard f/2 y Stimulfol, para cada fase se tuvo en cuenta la densidad inicial y final de los tratamientos. En este nivel se obtuvo una fase de constate crecimiento con una duración de 48 horas y fue en este periodo del cultivo donde se registró una tasa de crecimiento específica de 6,06 y 6,09 y divisiones por día (3,23 y 3,50) para el medio f/2 y fertilizantes agrícolas respectivamente (Figura 13). Respecto a la producción diaria (PD) se obtuvo en el cuarto día para el medio f/2 (3.75×10^4 cel/ml) y en el medio de cultivo Stimulfol ($3,33 \times 10^4$ cel/ml), sin embargo, en el quinto día se observó una producción baja tanto para Guillard f/2 y Stimulfol fue de (1.28×10^6 cel/ml). La prueba de Kruskal-Wills mostró un valor de $p > 5,21$, reportando que no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Figura 13

Crecimiento Promedio (Ciclo II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 20000ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol






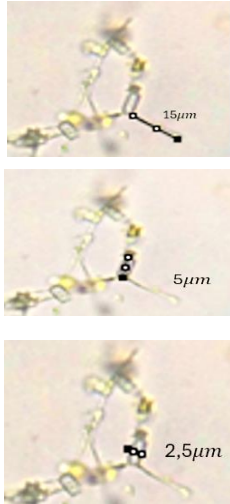
Ciclo I

Durante el Ciclo I, el cultivo en medio Guillard f/2 presentó variaciones morfológicas de *C. muelleri* fueron notables conforme aumentó el volumen de cultivo como se observa en la Tabla 5. En volúmenes menores de 10 ml, las células se evidenció una coloración amarillo-dorado y la forma celular de la célula es circular, con un largo promedio de 2 μm y un ancho de 2 μm . Sin embargo, en el volumen de 150 ml, el color se observó que la tonalidad y estructura celular, se mantuvo del color amarillo-dorado, mientras la forma de la célula es rectangular, en este volumen, el tamaño celular se incrementó a 8 μm de largo y 4 μm de ancho. Al igual que el volumen de 10ml se observó las setas completas no visibles.

En volumen mayores el cultivo de 2 L, la tonalidad se mantuvo amarillo-dorado y las células conservaron su morfología rectangular características de *C.muelleri*. A diferencia de volumen menores, en este nivel se evidenció que las setas alcanzaron una longitud aproximada de 12 μm , con dimensiones celulares de 6 μm de largo por 3 μm de ancho, esto se relaciona a los nutrientes del Guillard F/2. Finalmente, en el volumen de 20 L, se observó un cambio en la coloración celular, adquiriendo un tono amarillo-marrón, manteniendo la forma rectangular, las setas midieron alrededor de 15 μm , mientras que las células alcanzaron 5 μm de largo y 2,5 μm de ancho.

Tabla 6

Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo I) en medio Guillard f/2

Guillard f/2				
Volumen (ml)	10	150	2000	20000
Coloración	Amarillo-Dorado	Amarillo-Dorado	Amarillo-Dorado	Amarillo-Dorado
Forma celular	Circular	rectangulares	Rectangulares	Rectangulares
Setas (μm)	Completas	Completas	12	15
Largo (μm)	2	8	6	5
Ancho (μm)	2	4	3	2,5
Imágenes				

Nota: Las células mantuvieron sus setas completas, en los volúmenes pequeños no se evidenciaron en la toma de foto.

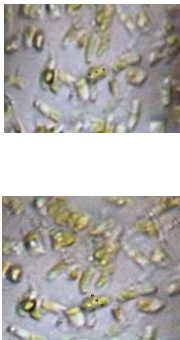
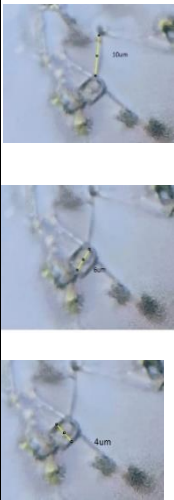
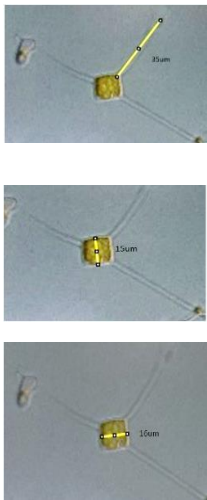
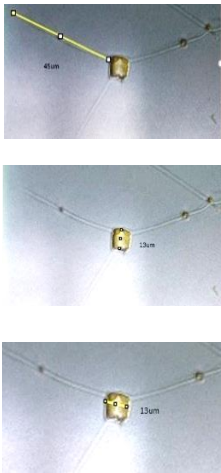
En el medio Stimulfol presentó variaciones morfológicas de *C. muelleri*, que son notables conforme aumentó el volumen de cultivo se observó que su forma es rectangular. En el volumen de 10 ml, las células mostraron una coloración amarillo-dorado y una forma rectangular, las setas completas, con un largo

promedio de 2 μm y un ancho de 1 μm (Tabla 6). Al incrementar al volumen de 150 ml, el color observado fue amarillo, característico de *C. muelleri*, las células se mantuvieron en una forma rectangular definidas y setas completas formadas, con una longitud aproximada de μm 10. En este volumen, el tamaño celular también mostro un incremento a 6 μm de largo y mientras que de ancho 4 μm .

En volumen del cultivo de 2 L, la tonalidad se mantuvo amarillo-dorado, las setas obtuvieron una longitud aproximada de 35 μm , con dimensiones celulares de 15 μm de largo por 16 μm de ancho, característico de la microalga en condiciones saludables y adecuada disponibilidad de nutrientes, las células conservaron su morfología rectangular. Finalmente, en el volumen de 20 L, el color celular paso un tono amarillo-marrón, manteniendo la forma rectangular. A diferencia de volumen menores, en este nivel se evidenció que las setas al medirla se registró al alrededor de 35 μm , mientras que las células alcanzaron 13 μm de largo y 16 μm de ancho.

Tabla 7

Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo I) en medio Stimulfol

Stimulfol				
Volumen (ml)	10	150	2000	20000
Coloración	amarillo-dorado	Amarillo	Amarillo-dorado	amarillo-marrón
Forma celular	rectangulares	rectangulares	rectangulares	Rectangulares
Setas (μm)	Completas	10	35	35
Largo (μm)	2	6	15	13
Ancho (μm)	1	4	16	16
Imágenes				

Ciclo II

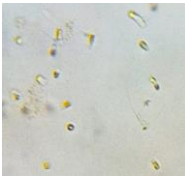

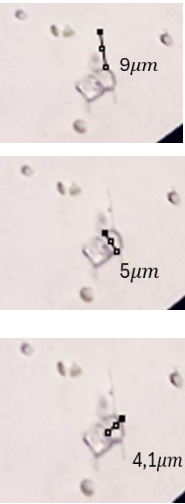

En el Ciclo II, en el cultivo Guillard F/2, *C. muelleri*, presentó variaciones morfológicas notables conforme aumentó el volumen de cultivo (Tabla 7). En el volumen de 10 ml, las células mostraron una coloración amarillo-dorado y una forma rectangular, las setas se encontraban completas, con un largo promedio de 2 μm y un ancho de 1 μm . Al incrementar a un volumen de 150 ml, se observó cambios morfológicos importante de *C. muelleri*, manteniéndose una tonalidad amarilla, características de la microalga las células adoptaron una forma rectangular. Aunque las setas no fueron visibles están completas, al igual que el anterior volumen. En este volumen, se registró el tamaño celular se incrementó a 6 μm de largo y 4 μm de ancho.

En los volúmenes mayores como es el cultivo de 2 L, la tonalidad se cambió a amarillo- dorado, las células conservaron su forma rectangular, pero se observó un desarrollo notable en las setas, las cuales alcanzaron una longitud aproximada de 12 μm , mostrando su morfología más completa. Además, el tamaño celular con dimensiones de 15 μm de largo por 16 μm de ancho. Finalmente, en volumen de 20 L, la coloración celular presento cambió hacia un tono amarillo-marrón, a pesar de este cambio, las células mantuvieron la forma rectangular típica de *C. muelleri*, las setas midieron alrededor de 25 μm , lo que nos indica un desarrollo estructural y una

morfología completa. No obstante, las células alcanzaron 5 μm de largo y 3 μm de ancho

Tabla 8

Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo I I) en medio Guillard F/2

Guillard f/2				
Volumen (ml)	10	150	2000	20000
Coloración	amarillo-dorado	Amarillo	Amarillo-Dorado	Amarillo-Dorado
Forma celular	rectangulares	rectangulares	Rectangulares	Rectangulares
Setas (μm)	Completas	Completas	9	20
Largo (μm)	2	8	5	5
Ancho(μm)	1	5	4	3
Imágenes				


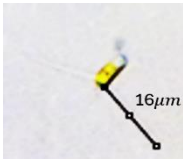


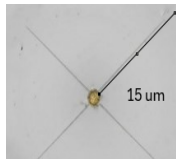
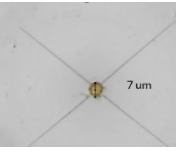
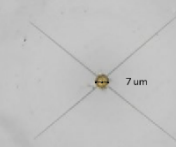
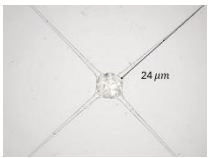

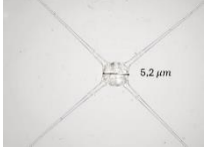
Nota: Las células mantuvieron sus setas completas, en los volúmenes pequeños no se evidenciaron en la toma de foto.

En Stimulfol se observó en su forma celular: rectangular y circular, y variaciones según conforme aumentó el volumen de cultivos, como se observa en la Tabla 8. En el volumen menores como de 10 ml, las células mostraron una coloración amarillo-dorado y una forma rectangular, las setas se encontraban completas, con un largo promedio de 2 μm y un ancho de 1 μm . Al pasar a un volumen de 150 ml, el color observado fue amarillo- dorado, las células presentaron una morfología de forma rectangular. Así mismo se registró el tamaño celular se incrementó a 7 μm de largo y 2,8 μm de ancho, acompañado de setas completas una longitud de 16 μm , lo cual evidencio un desarrollo adecuado de la microalga.

En el cultivo de 2 L, se evidenció un cambio notable en la coloración del medio pasando a un tono amarillo-marrón, las células adoptaron su morfología circular, distintas a lo observado en los volúmenes anteriores, lo que podría relacionarse a los micro y macros nutrientes del fertilizante, las setas alcanzaron una longitud aproximada de 15 μm , con dimensiones celulares de 7 μm de largo por 7 μm de ancho. Finalmente, en el volumen de 20 L, las células mantuvieron su tonalidad amarillo-marrón, indicando que la microalga continuó desarrollándose en un estado similar al volumen de 2 L, manteniendo la forma rectangular, en este volumen las setas midieron alrededor de 24 μm , mientras que las células alcanzaron 5,6 μm de largo y 5,2 μm de ancho.

Tabla 9

Características morfológicas de C. muelleri (Ciclo II) en medio Stimulfol

Stimulfol				
Volumen (ml)	10	150	2000	20000
Coloración	Amarillo-Dorado	Amarillo-Dorado	Amarillo – Marrón	Amarillo-Marrón
Forma celular	Rectangulares	Rectangulares	Circular	Rectangulares
Setas (µm)	Completas	16	15	24
Largo (µm)	2	7	7	5,6
Ancho(µm)	1	2,8	7	5,2
Imágenes		  	  	  

10.3 Análisis de densidad poblacional de los dos ciclos

Durante la Ciclo I cultivo de *C. muelleri* en medio Guillard F/2 volumen 10ml, con una densidad poblacional de $9,58 \times 10^5$ a $1,07 \times 10^6$ cel/ml, también se evidenció una tasa de crecimiento de aumento progresivo cual fue de 5,98 a 6,03, con divisiones diarias de 3,62 y un tiempo de duplicación de 0,16, lo cual evidencia un crecimiento lento y controlado. Entre el día 1 se presentó la fase lag más amplia, en la que la población ajustó para aprovechar los nutrientes del medio (Figura 14). A partir del día 1 y 2, se inició la fase exponencial, caracterizada por un aumento constante de la densidad celular de $1,04 \times 10^6$ cel/ml. Sin embargo, al llegar los días 4 y 5, comenzó a estabilizarse, señalando el paso a la fase estacionaria, donde el crecimiento se equilibra debido al agotamiento parcial de nutrientes disponibles en el medio de cultivo.

En el ciclo II, aunque la densidad poblacional varió entre $6,04 \times 10^5$ a $1,51 \times 10^6$ cel/ml en comparación con la fase I, se observó un progreso notable en la cinética, evidenciada por el aumento de las divisiones diarias a 4,05 y el tiempo de duplicación disminuyó a solo 0,16. Entrando a la fase lag desde los primeros días y entrando rápidamente en la fase exponencial desde el día 1 y 2 la densidad poblacional va aumentando de $7,96 \times 10^5$ a $1,51 \times 10^6$ cel/ml. Posteriormente en los

4 y 5 día paso a la fase estacionaria en con un tiempo de duplicación 0,16. Además, la producción diaria aumentó de 2.59×10^5 cel/ml, demostrando una respuesta más eficiente del cultivo.

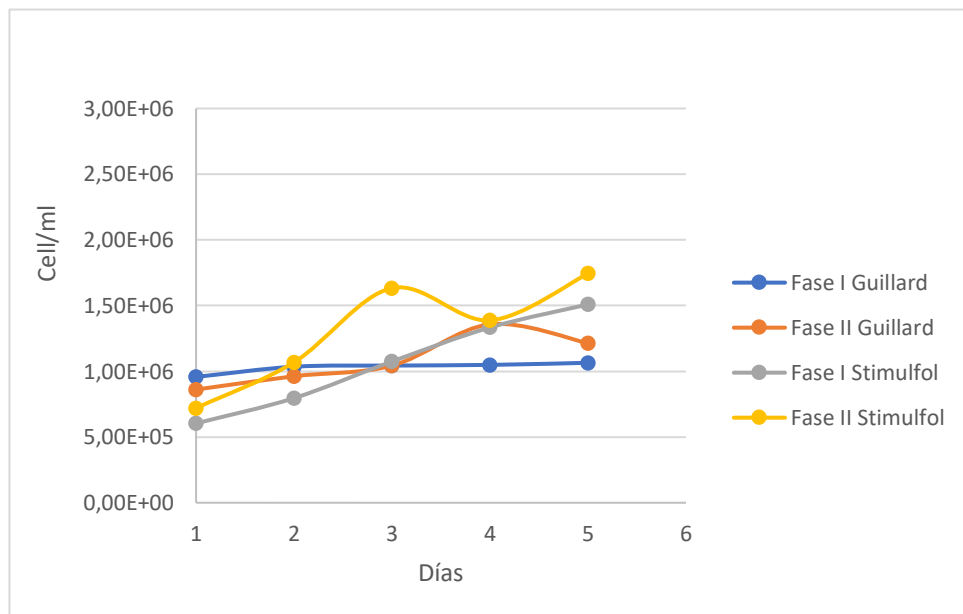
En el caso del medio Stimulfol, los resultados muestran un comportamiento más activo, en el ciclo I, la densidad poblacional fue de 8.61×10^5 a $1,21 \times 10^6$ cel/ml, con un valor de divisiones por día 3,83 y un tiempo de duplicación de aproximadamente 0,164, lo cual revela un crecimiento mucho más acelerado que en el medio Guillard. Durante los primeros días se presentó una fase lag corta, seguida por una fase exponencial muy evidente entre los días 2 y 4, donde la tasa de la densidad poblacional aumento de $9,63 \times 10^5$ a $1,36 \times 10^6$ cel/ml, estos resultados nos indica que el medio Stimulfol ofreció nutrientes de fácil asimilación. Sin embargo, el quinto día la tasa comenzó a estabilizarse, dando paso a la fase estacionaria, posiblemente por la limitación de nutrientes (Figura 14)

En el Ciclo II, la densidad poblacional al comparar el Ciclo I, se obtuvo un incremento ligeramente de $7,20 \times 10^5$ a $1,74 \times 10^6$ cel/ml, con divisiones diarias de 7,60 y un tiempo de duplicación de 0,16, mostrando una cinética aún más eficiente. Desde el inicio, el cultivo prácticamente no presentó fase lag, lo que indica una adaptación inmediata a los nutrientes del ciclo anterior, posteriormente entro a la

fase exponencial fue más intensa y prolongada, con tasas de crecimiento superiores a 6,19 y una producción diaria de $4,16 \times 10^5$ cel/ml, más del doble de la obtenida en el primer ciclo (Figura 14).

Figura 14

Crecimiento Promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 10ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol



Como se muestra en la figura 14, la densidad poblacional de *C. muelleri*, en comparación con la Ciclo I y Ciclo II, con los resultados de la prueba de Kruskal – Wallis, el valor fue de $p > 0,87$, se observa que no hay diferencia significativa en la fase I en los días 1,2. En la fase II el valor de $p > 0,26$ nos indica que no hay diferencia significativa en el día 3 en los medios de cultivo de Guillard F/2 con Stimulfol.

En cultivo de volumen 150 ml durante el Ciclo I, la microalga *C. muelleri* en medio Guillard f/2 se obtuvo una densidad inicial y final de ($1,26 \times 10^6$ a $2,13 \times 10^6$ cell/ml), una tasa de crecimiento osciló entre (6,29 a 6,25), con un número de división por día de (2,15 a 3,94) y un tiempo de duplicación (0,15 a 0,16) durante los cinco días de observación, la fase exponencial empezó desde el día 1 a 4 y la densidad inicial de $1,26 \times 10^6$ a $1,79 \times 10^6$ cel/ml, el crecimiento fue constante en esta fase, la tasa de crecimiento de 6,19 la división por día promedio fue de 3,46 y un tiempo de duplicación 0,161, (Figura 15).

En el Ciclo II, se observa un mismo comportamiento, al del Ciclo I, se obtuvo una densidad poblacional de $2,12 \times 10^6$ a $2,47 \times 10^6$ cel/ml, la tasa de crecimiento fue de (6,32 a 6,44) con una división por día de (3,64), y el tiempo de duplicación de (0,15), desde el día 1 y 3, entra rápidamente en la fase exponencial, con una densidad de ($2,12 \times 10^6$ a $2,21 \times 10^6$ cel/ml) y con un aumento de tasa de crecimiento de 6,17, un. A partir del día 4 el cultivo entra a la fase estacionaria donde la densidad fue de ($1,50 \times 10^6$ cel/ml), lo que se evidencia falta de nutrientes, en el 5 día se mostró una recuperación parcial.

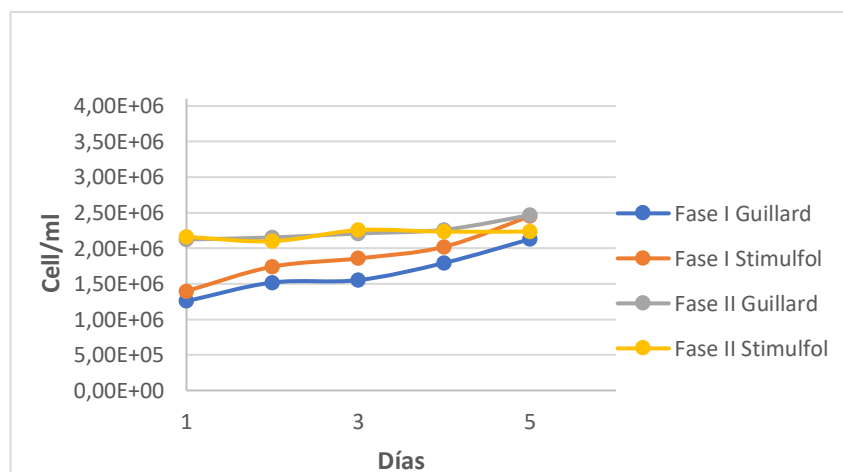
En medio Stimulfol Ciclo I la densidad poblacional fue de ($1,40 \times 10^6$ a $2,45 \times 10^6$ cel/ml), con una baja tasa de crecimiento (6,29 a 6,25), con un tiempo de duplicación de (0,16) con una producción diaria de ($3,42 \times 10^5$ cel/ml). Durante el día 0 se observa el inicio de la fase lag, posteriormente en los días 1 y 3, entra a la

fase exponencial, en cuanto a la densidad es de $1,74 \times 10^6$ a $2,0 \times 10^6$ cel/ml, la tasa de crecimiento aumento desde (6,24 a 6,30), el número de divisiones varían entre (4,14 a 3,61) el tiempo de duplicación es de (0,158), en el 4 y 5 día se observa que entra a la fase estacionaria, se debe a que los nutrientes comienzan a agotarse.

En el Ciclo II la densidad poblacional es de ($2,16 \times 10^6$ a $2,24 \times 10^6$ cel/ml), donde se registró una tasa de crecimiento específica (μ) (6,32 a 6,44) y el con un número de divisiones por día (3,23) y En el cuarto día el cultivo hubo una caída con una densidad de $2,23 \times 10^6$ cel/ml, posteriormente al quinto día presento densidades celulares, con ($2,24 \times 10^6$ cel/ml). Mediante la prueba de Kruskal-wallis, en el Ciclo I el valor de $p > 0,26$, y en el Ciclo II el valor de $p = < 0,74$, nos indica que en ambos no existen diferencia significativa en la densidad poblacional.

Figura 15

Crecimiento Promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 150ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol



Durante el ciclo I, el cultivo de *C. muelleri* en medio Guillard F/2 volumen 2 L, presentó una densidad celular inicial de $(1,15 \times 10^6$ a $1,54 \times 10^6$ cel/ml), evidenciando un crecimiento sostenido a lo largo de los cinco días de observación. La tasa de crecimiento osciló entre 6,06 a 6,19; mientras que, el número de divisiones por día varió de 2,66 y el tiempo de duplicación se mantuvo entre 0,16 días.

En el día 1 al día 4, fase exponencial se desarrolló con densidades que aumentaron progresivamente de $1,15 \times 10^6$ a $1,50 \times 10^6$ cel/ml, lo que demuestra un crecimiento constante y equilibrado. Posteriormente, al día 5 el cultivo mostró un crecimiento moderado, alcanzando una densidad de $1,54 \times 10^6$ cel/ml, lo que indica que el cultivo entró a una etapa de estabilidad celular, tal como se observa Figura 16.

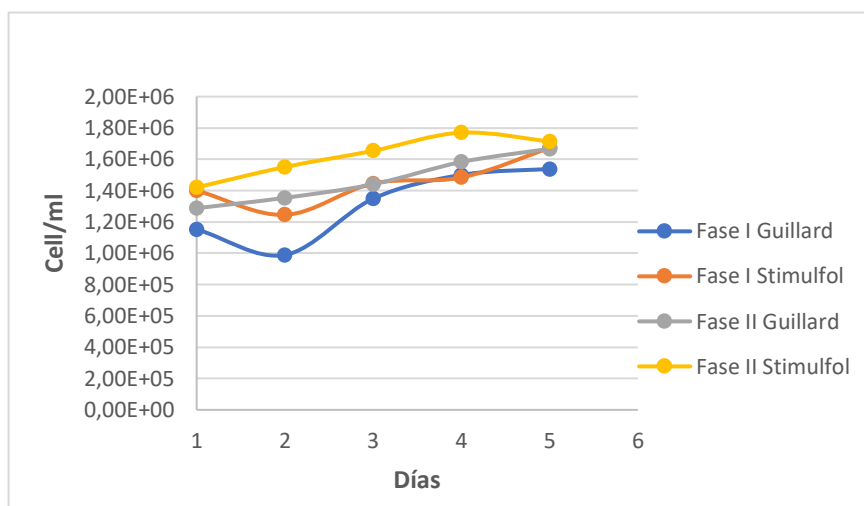
Durante el ciclo II, medio Guillard F/2 presentó una densidad celular inicial de $1,29 \times 10^6$ cel/ml y una final de $1,67 \times 10^6$ cel/ml, la tasa de crecimiento específico (μ) osciló entre 6,09 y 6,20, mientras que el tiempo de duplicación se mantuvo entre 0,16, lo que refleja una adaptación de la microalga al medio de cultivo. La fase exponencial se dio desde el día 1 hasta el día 4, con un incremento constante de la densidad celular de $1,29 \times 10^6$ a $1,58 \times 10^6$ cel/ml, posterior al día 5, la densidad alcanzó $1,67 \times 10^6$ cel/ml, lo que sugiere el inicio de una fase de estabilización del cultivo, por falta de nutrientes

En el Ciclo I, Stimufol presentó una densidad inicial de $(1,40 \times 10^6$ a $1,67 \times 10^6$ cel/ml), la tasa de crecimiento específico se mantuvo entre 6,09 y 6,23, con un número de divisiones por día de 2,95 a 3,39, y un tiempo de duplicación promedio de 0,16 días, valores que reflejan una buena adaptación celular al medio fertilizado con Stimufol. Durante la fase exponencial los días 2 hubo una decaída la densidad fue de $1,25 \times 10^6$. Posteriormente en el día 5, se alcanzó la mayor densidad de $1,67 \times 10^6$ cel/ml, lo que indica que el medio Stimufol favoreció un incremento de densidad.

Durante el Ciclo II, medio Stimufol registró una densidad ($1,42 \times 10^6$ a $1,71 \times 10^6$ cel/ml), indicando un crecimiento constante a lo largo del periodo experimental. La tasa de crecimiento específico se mantuvo entre 6,15 y 6,23, y el tiempo de duplicación oscila 0,160 días, reflejando una fase de crecimiento activo y sostenido. La fase exponencial se observó entre los días 1 y 4, con densidades que aumentaron de $1,42 \times 10^6$ a $1,77 \times 10^6$ cel/ml, sin embargo, el día 5 se registró disminución una densidad de $1,71 \times 10^4$ cel/ml, lo cual podría ser el agotamiento de nutrientes, señalando el inicio de la fase estacionaria (Figura 16). Se obtuvo un valor de $p > 0,63$.

Figura 16

Crecimiento promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 1200ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimulfol



Durante el Ciclo I, en cuanto a volumen de 20 L, el crecimiento de la microalga fue moderado en ambos tratamientos. En el Ciclo I, para medio Guillard f/2 presentó una densidad inicial de $1,11 \times 10^6$ cel/ml y una final de $1,21 \times 10^6$ cel/ml, con una tasa de crecimiento específico que varió entre 6,05 y 6,10, mientras que el tiempo de duplicación comprendido entre 0,163 y 0,165 días, refleja una fase de crecimiento activo y estable en el medio de cultivo. Posteriormente inicio la fase exponencial se observó entre los días 1 y 4, donde las densidades celulares aumentaron de $1,11 \times 10^6$ a $1,22 \times 10^6$ cel/ml, Sin embargó el día 5, densidad disminuyó leve, demostrando un desempeño estable y eficiente del medio.

En el ciclo II en el medio Guillard F/2 presentó una densidad inicial de ($1,14 \times 10^6$ cel/ml a $1,28 \times 10^6$ cel/ml), con una tasa de crecimiento específico varió entre (6,046 a 6,19), mientras que el tiempo de duplicación fue (1,64) lo que indican una fase de crecimiento activo y estable bajo las condiciones del medio. La fase exponencial se observó entre los días 1 y 4, con un aumento en la densidad celular de ($1,14 \times 10^6$ a $1,26 \times 10^6$ cel/ml), sin embargo, al quinto día, se registró que la densidad aumento constantemente fue de $1,28 \times 10^6$ cel/ml.

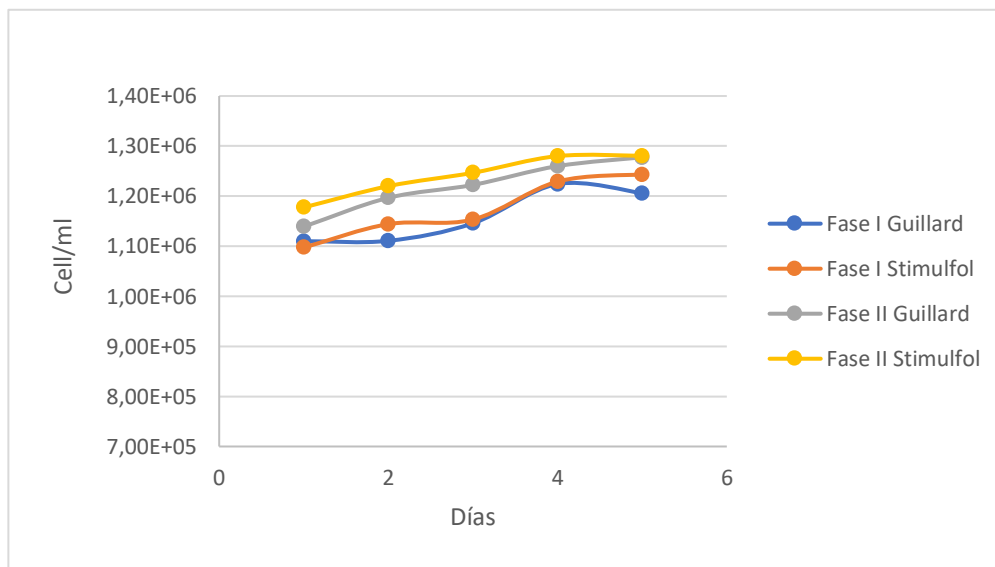
En medio Stimufol Ciclo I, presentó una densidad inicial de $1,10 \times 10^6$ a de $1,24 \times 10^6$ cel/ml tasa de crecimiento se mantuvo entre 6,05 y 6,09, con un tiempo de duplicación entre 0,16 días, lo que refleja un crecimiento sostenido y equilibrado en este medio. La fase exponencial se presentó entre los días 1 y 4, con un aumento de densidad de ($1,10 \times 10^6$ a $1,23 \times 10^6$ cel/ml),. Sin embargo, el día 5, se observó un crecimiento moderado en la densidad de $1,24 \times 10^6$ cel/ml, posiblemente agotamiento parcial de nutrientes o acumulación de metabolitos, marcando el comienzo de la fase estacionaria.

En Stimufol, en el Ciclo II, registró una densidad inicial de ($1,18 \times 10^6$ cel/ml y una final de $1,28 \times 10^6$ cel/ml), mostrando un crecimiento constante, la tasa de crecimiento específico osciló entre 6,06 y 6,19, mientras que el tiempo de duplicación se situó entre 1,62, reflejando un crecimiento sostenido y equilibrado. La fase exponencial se presentó entre los días 1 y 4, (Figura 17), con densidades

que aumentaron de $(1,18 \times 10^6$ a $1,28 \times 10^6$ cel/ml), lo que demuestra la eficiencia del medio Stimufol en la promoción del crecimiento celular. Posterior al 5 día , indicó una leve disminución en la velocidad de crecimiento, agotamiento de nutrientes. Estadísticamente, no existen diferencias significativas ($p > 0,62$).

Figura 17

Crecimiento Promedio (Ciclo I, II) de C.muelleri cultivadas en un volumen de 20000ml con medio Guillard f/2 y fertilizante agrícola Stimufol



11. DISCUSIÓN

El cultivo de microalga *C.muelleri* se mantuvo en condiciones ambientales con intervalo de pH 7 entre 9, con una salinidad de 25 ppm , temperatura de 21°C en los primeros niveles de cultivo y 25 °C en carboys. Es importante considerar los factores como el pH, la temperatura y la salinidad pueden causar la precipitación del medio de cultivo, afectando las condiciones para el desarrollo optimo de las microalgas. De acuerdo con Luna (2007), las condiciones empleadas mostraron similitudes especialmente en el pH, que generalmente se mantiene entre 7.5 y 8.5 para evitar la precipitación del medio. Asimismo, investigaciones con otras microalgas marinas como *Tetraselmis* y *Thalassiosira* emplean condiciones ambientales muy parecidas, particularmente en cuanto a salinidad y temperatura.

Durante el Ciclo I, el cultivo de *Chaetoceros muelleri* en medio Guillard F/2 en nivel de 10 ml, se registró una tasa de crecimiento promedio cercana a 6,07, lo que refleja una cinética estable y controlada. El cultivo presentó una fase de adaptación inicial (lag) entre los días 0 y 1, seguida de una fase exponencial marcada durante los días 1 y 2, hasta alcanzar la etapa estacionaria hacia los días 4 y 5. Andersen (2005) señala que, en cultivos de diatomeas, cultivado en Guillard F/2 suele presentar una fase de adaptación más marcada debido a la disponibilidad

gradual de nitrógeno y silicio, lo que prolonga la fase lag en comparación con medios enriquecidos. En contraste, el medio con fertilizante Stimulfol mostró densidades que partieron de $8,61 \times 10^5$ cel/ml y alcanzaron valores máximos de $1,21 \times 10^6$ cel/ml, indicando una mayor asimilación de nutrientes y un crecimiento más acelerado. Este comportamiento coincide con lo que describe González et al. (2020) y Quijije et al. (2022), quienes mencionan que los fertilizantes agrícolas incrementan la biomasa de *Chaetoceros* debido a la presencia de macro y micronutrientes de rápida absorción.

Durante el Ciclo II, el cultivo en Guillard mantuvo una tasa promedio similar ($\approx 6,00$), lo que demuestra que las células conservaron su adaptación fisiológica. No obstante, el uso de Stimulfol incrementó el máximo de densidad celular hasta $7,20 \times 10^5$ cel/ml, superando ampliamente los resultados del ciclo anterior. Este patrón de readaptación caracterizado por una reducción de la fase lag y un aumento de la biomasa en ciclos sucesivos, también fue observado por Valenzuela et al. (2019) y Hernández et al. (2021). En general, los resultados en tubos evidencian que Stimulfol favorece que las células se adapten rápido a los nutrientes en pequeños volúmenes, mientras que Guillard F/2 ofrece un crecimiento constante y reproducible.

En el nivel de 150, correspondiente a un volumen intermedio, Ciclo I mostró que el medio Guillard F/2 mantuvo tasas de crecimiento cercanas a 6,29, lo que refleja un crecimiento equilibrado y sin variaciones abruptas. La fase exponencial se presentó entre los días 1 y 3, seguida de una estabilización hacia el 5 día del cultivo. Además, con el fertilizante Stimulfol se registraron densidades iniciales más elevadas $1,40 \times 10^6$ cel/ml a $2,45 \times 10^6$ cel/ml, evidenciando una producción de biomasa significativamente mayor. Esto coincide con lo descrito por Castro et al. (2020) y Quijije et al. (2022), quienes demostraron que los fertilizantes agrícolas ayudan a mejorar la productividad algal por la disponibilidad inmediata de nitrógeno y fósforo.

Durante el Ciclo II, Guillard continuó un aumento de densidades mostrando tasas de crecimiento estables, mientras que Stimulfol mantuvo densidades poblacionales más altas que en el ciclo anterior. Este comportamiento confirma una adaptación positiva del cultivo a los nutrientes esenciales, así como también mencionan Hernández et al. (2021), al señalar que la continuidad del uso de fertilizantes agrícolas reduce la duración de la fase lag y mejora la eficiencia metabólica. Mientras que Guillard tiene a un crecimiento uniforme y predecible.

En el nivel 2 L, durante el Ciclo I, el medio Guillard presentó una densidad promedio de entre $1,15 \times 10^6$ a $1,54 \times 10^6$ cel/ml, reflejando un crecimiento moderadamente rápida y constante. Andersen (2005) señala que en cultivos de diatomeas, el F/2 suele presentar una fase de adaptación más marcada debido a la disponibilidad gradual de nitrógeno y silicio, lo que prolonga la fase lag en comparación con medios enriquecidos, de acuerdo con Guillard & Ryther (1962), quienes demostraron que las diatomeas mantienen tasas de crecimiento similares bajo una disponibilidad suficiente de nitrógeno, fósforo y silicio. A diferencia, del medio con Stimulfol mostró densidades iniciales y máximas más altas entre ($1,40 \times 10^6$ a $1,67 \times 10^6$ cel/ml), lo que indica que, incluso con mayor volumen, la disponibilidad de nutrientes del fertilizante agrícola favorece la biomasa producida. Este resultado coincide con los estudios de González et al. (2020) y Castro et al. (2020), quienes demostraron que el control adecuado de la relación N:P y la oxigenación mantienen altos rendimientos en cultivos a escala de litros.

Durante el Ciclo II, el comportamiento del cultivo en Guillard se mantuvo estable, mientras que Stimulfol se lograron obtener densidades superiores y una fase exponencial más prolongada. Esta mejora se puede atribuirse a la aclimatación celular entre ciclos, lo cual reduce la fase lag y acelera la división celular, tal como señalaron Valenzuela et al. (2019). En conjunto, estos resultados evidencian que Stimulfol es una opción más eficiente para incrementar la producción de biomasa a

escala de litro, siempre que se controle la posible limitación de silicio o micronutrientes en etapas avanzadas del cultivo.

En el nivel 20 L, en el Ciclo I mostró que el medio Guillard F/2, densidad de promedio de $1,11 \times 10^6$ a $1,21 \times 10^6$ cell/ml, similares a las observadas en otros niveles, lo que indica que la cinética de *Chaetoceros muelleri* se mantiene constante a diferentes volúmenes. En el caso del fertilizante Stimulfol, las densidades variaron entre $1,10 \times 10^6$ y $1,24 \times 10^6$ cel/ml, reflejando una mayor producción de biomasa que en Guillard. Estos resultados son consistentes con lo descrito por Hernández et al. (2021) y Quijije et al. (2022), quienes dicen y destacan que los fertilizantes agrícolas fomentan la productividad de *Chaetoceros* en cultivos de mayor escala.

Durante el Ciclo II, el uso de Stimulfol mantuvo un constante crecimiento, con una densidad a $1,18 \times 10^6$ cel/ml, lo que indica que tuvieron un aprovechamiento más eficiente de los nutrientes y una adaptación celular óptima. Este mismo comportamiento fue descrito por Valenzuela et al. (2019) y Castro et al. (2020), quienes atribuyen que el aumento de productividad y disponibilidad residual de nutrientes.

Aunque, mediante la prueba de comparación de Kruskal-Wallis se evidencio que no existen diferencia significativa en la respuesta de crecimiento entre aquellas microalgas cultivadas en Guillard F/2 y aquellas producidas en un medio a base de un fertilizante agrícola Stimulfol.

Las características morfológicas de *C. muelleri* durante las Fases I y II evidenció que tanto el medio Guillard F/2 como el fertilizante agrícola Stimulfol permiten un desarrollo estructural adecuado, pero a diferencia del Stimulfol tiende a presentar una estructura de la célula robusta en las setas con cuerda con Petrucciani et. al, (2023) reveló que las características morfológicas controla los movimientos y flotación celular. Sin embargo, Miguel Guevara et al. (2006), menciona que, en un sistema continuo, discontinuo el tamaño celular no varía en los dos sistemas longitud similares.

11.1 CONCLUSIONES

El cultivo de *Chaetoceros muelleri* mostró un incremento progresivo de la densidad celular en ambos medios. El medio Guillard F/2 presentó un crecimiento estable, con fases Lag más prolongadas y un ascenso exponencial moderado. En contraste, Stimulfol promovió mayores tasas de crecimiento, mayor densidad celular y tiempos de duplicación más cortos. No obstante, estadísticamente no se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos en los dos ciclos de producción.

Las características morfológicas de *C. muelleri* en ambos medios de cultivo, durante los ciclos I y II, mostraron variaciones en el tamaño celular y en la longitud de las setas. No obstante, las células cultivadas con Stimulfol presentaron setas más largas y una coloración más uniforme, lo que sugiere que la disponibilidad de macro y micronutrientes en este fertilizante favorece una morfogénesis más robusta y estructuras mejor adaptadas para enfrentar condiciones ambientales variables.

En los dos ciclos de producción y en los distintos niveles de escalonamiento no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la cinética de crecimiento. Sin embargo, el medio Stimulfol en volumen de 150 L alcanzó la mayor densidad poblacional y la más alta producción diaria, evidenciándose como una alternativa eficiente, económica y sostenible para el cultivo de *C. muelleri*.

11.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda analizar la densidad poblacional con fertilizantes agrícolas, bajo diferentes intensidades de luz, temperatura y salinidad, que faciliten el crecimiento de otras especies de microalga.

Se recomienda considerar el uso de fertilizantes agrícolas en cultivo de microalgas *C. muelleri*, debido a que han demostrado un mejor rendimiento en comparación al Guillard f/2, permitiendo que no presente efecto en la morfología celular .

Se recomienda utilizar fertilizantes agrícolas con otras formulaciones y que se apliquen en tratamientos en escalas pequeñas y grandes con diferentes concentraciones, permitiendo sostener densidades celulares elevadas con una significativa reducción en los costos operativos, de las unidades de producción, especialmente en la acuicultura.

Se recomienda realizar investigaciones a futuras en la composición bioquímica de la biomasa producida con Stimufol, es necesario confirmar que la calidad nutricional, específicamente del perfil de ácidos grasos esenciales (como el EPA), sea comparable a la de las microalgas cultivadas en medio F/2.

BIBLIOGRAFÍA

- Arredondo, & Voltolina (2007). *Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. Capítulo*. México.
- Barragan, A. (2024). *Vlir Network*. Algas marinas en Ecuador: Materia prima subutilizada: <https://vlirnetworkecuador.com/investigacion/algas-marinas-en-ecuador-materia-prima-subutilizada>
- Borowitzka. (2018). *Microalgae in aquaculture: Applications and potential*. In Richmond, A., & Hu, Q. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology (2nd ed., pp. 615–627). Wiley Blackwell.
- Cordero, A. (2010). *Efecto de las microalgas Chaetoceros Gracilis, Tetraselmis sp.e Isochrysis Galbana sobre la reproducción y desarrollo naupliar en copepodos calanoideos marinos tropicales, acartia spp.*
- Cubero, V. (2024). *Microalgas: la clave para una acuicultura sostenible y eficiente*. Fundación Grupo Cajamar.
- Fernández, J. (2014). *Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas*. Microalgal Biotechnology.
- Gil, P. A. (2010). *Facultad de Ingeniería en Biotecnología. ESPE. Sede Sangolquí*. Evaluación del rendimiento de producción de aceite en cuatro Microalgas nativas de las Provincias ecuatorianas de Orellana, Esmeraldas, Imbabura y Pichincha en diferentes condiciones de iluminancia y de medio de cultivo a

nivel de laboratorio:

<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/427/1/T-ESPE-029605.pdf>

Gómez, O. (2011). *Polyalgal culture (Chaetoceros gracilis, Chlorella sp. And Tetraselmis chuii) IN*. Venezuela: Saver.

Gualtieri, L. B. (2006). *Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press.

Hernández, A. (2014). *Alexis Hernández-Pérez*. Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 49, N°2: 157-173, agosto 2014 DOI 10.4067/S0718-19572014000200001.

Hoff, S. (2008). *Plankton culture manual*. Florida Aqua Farms Inc.

Huerlimann, K. H. (2015). *Chapter 3 - Microalgal Classification: Major Classes and Genera of Commercial Microalgal Species*. Aquaculture. <https://doi.org/25-91>

Jiménez, R. C. (2020). *Uso de fertilizante comercial en la cinética celular de Desmodesmus opoliensis (Chlorophyceae), reporte preliminar*. Colombia: Revista Orinoquia.

Lemus, N. &. (2023). *Crecimiento y perfil bioquímico de Chaetoceros muelleri cultivado en sistemas discontinuos y semicontinuo*. Ciencias Marinas, 32.

Luna, G. (2007). *Microalgas: Aspectos e cológicos y biotecnológicos*. Revista Cubana de Química, XIX (2,2007), .3-20. <https://doi.org/https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543707001>

- Medina, c. B. (2021). *Crecimiento y composición bioquímica de la diatomea Chaetoceros muelleri Lemmerman, mantenida en cultivo estático con un medio comercial.*
- Miguel Guevara, A. B. (2006). *Crecimiento y perfil bioquímico de C. muelleri cultivada en sistema discontinuo y semicontinuos.* Ciencias Marinas.
- Miranda, V. (2022). *Características macromoleculares y propiedades bioactivas de polisacáridos sulfatados de Chaetoceros muelleri.* Centro de investigación en alimentación y desarrollo, AC.
- Morales. (2023). *Modos de cultivo de las microalgas.* Ciencias Ambientales.
<https://doi.org/9-124>
- Muhammad Siddik, M. S. (2023). Ampliación del uso de microalgas en los alimentos acuícolas a nivel mundial. *Aquaculture*, 2.
- Petruciani A, M. P. (2023). *Efectos integradores de la morfología, la silicificación y la luz en los movimientos verticales de las diatomeas.* Front. Plant Sci.
- Piña, R. -B.-O. (2005). *Survival, growth and feeding efficiency of Litopenaeus vannamei protozoa larvae fed different rations of the diatom Chaetoceros muelleri.* Aquaculture.
- Piñera, R. (2001). *Manual para el cultivo de microalgas.* UABCS.
- Rabiee Khatami, J. S. (2021). *Diatoms with invaluable applications in nanotechnology, and biomedicine: recent advances.* Biomaterial's science & engineering. <https://doi.org/3053-3068>

- Richmond, A. (1986). *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press.
- Richmond, A., y Hu, Q. (2013). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Wiley Blackwell.
- Saratale, R. G. (2022). *Estrategias de cultivo de microalgas utilizando fuentes de nutrientes rentables: actualizaciones recientes y avances hacia la producción de biocombustibles*. Elsevier. <https://doi.org/361>
- Smetana. (2017). *Sustainability of microalgae production as future feed and food: Life cycle assessment perspective*. Journal of Cleaner Production, 163, 109–117.
- Suber, O. G. (2011). *cultivo polialgal (Chaetoceros gracilis, Chlorella sp. y Tetraselmis chuii) en medios nutritivos no convencionales*. *sable. Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 1.
- Tan, J. S. (2020). *A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids*. Bioengineered.
- Urbano, T. (2017). *Cultivo de microalgas: en que consiste, métodos y ventajas*. Agrotendencia.
- Valenzuela, E., Lafarga-De la Cruz, F., Millán-Núñez, R., y Núñez-Cebrero. (2019). *Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de Rhodomonas sp. cultivada con medio*. Ciencias Marinas. <https://doi.org/79-89>

Voltolina, D. (2007). *Concentraciòn, recuento celular y tasa de crecimiento*.

México: CIBNOR.

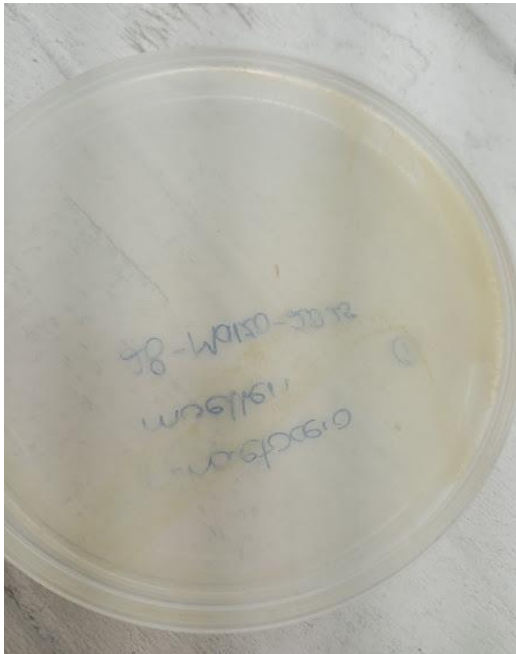
Zambrano, K., y Sisalema, D. (2023). *UPS*. Implementaciòn de un sistema de

cultivo automàtico de microalgas:

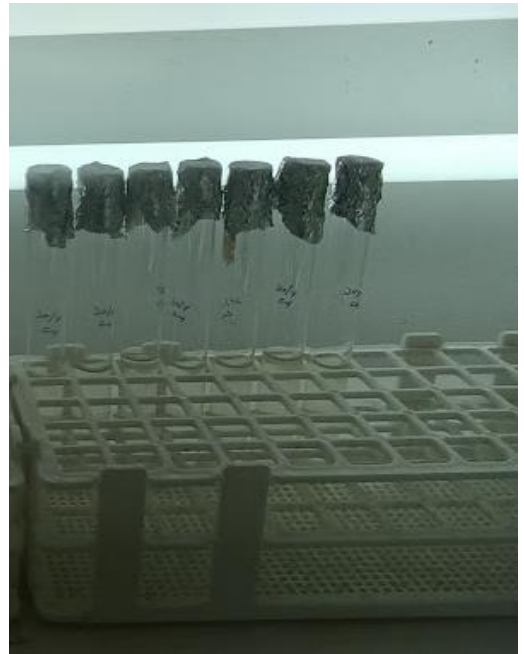
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/25772/1/UPS->

GT004502.pdf

ANEXOS



Anexo 1 Cultivo en caja Petri



Anexo 2 Cultivo de 10 ml



Anexo 3 Cultivo de 150 ml



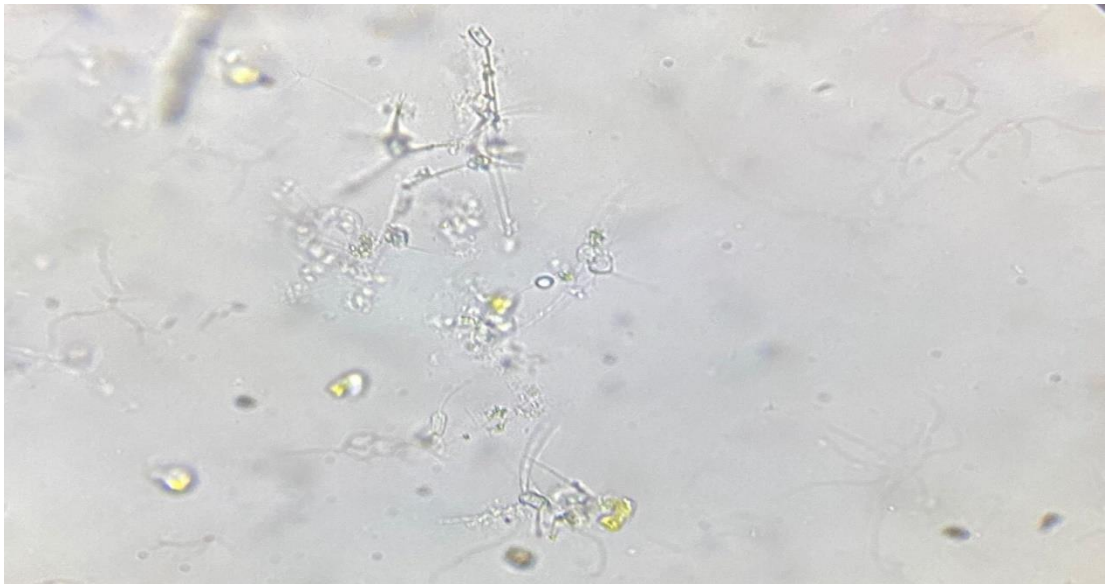
Anexo 4 Cultivo de 2 L



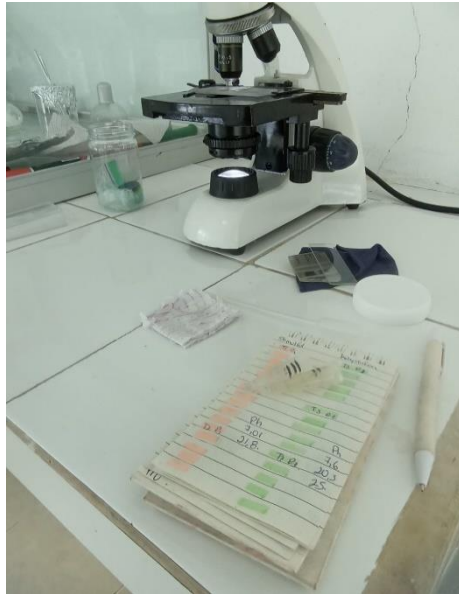
Anexo 5 Cultivo de 20 L



Anexo 6 Medición de ph



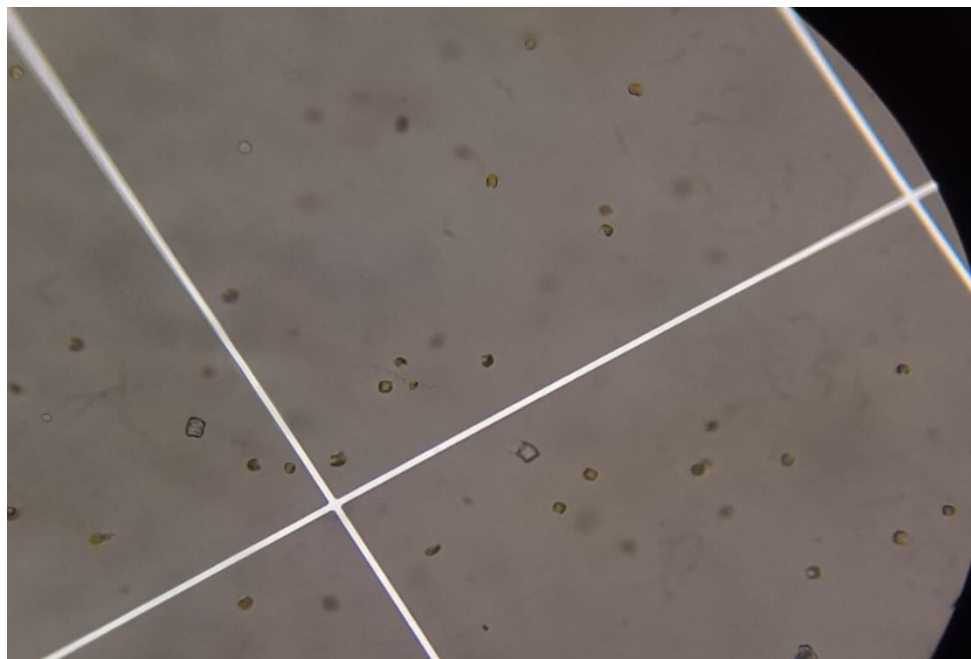
Anexo 7 *Chaetocero muelleri*



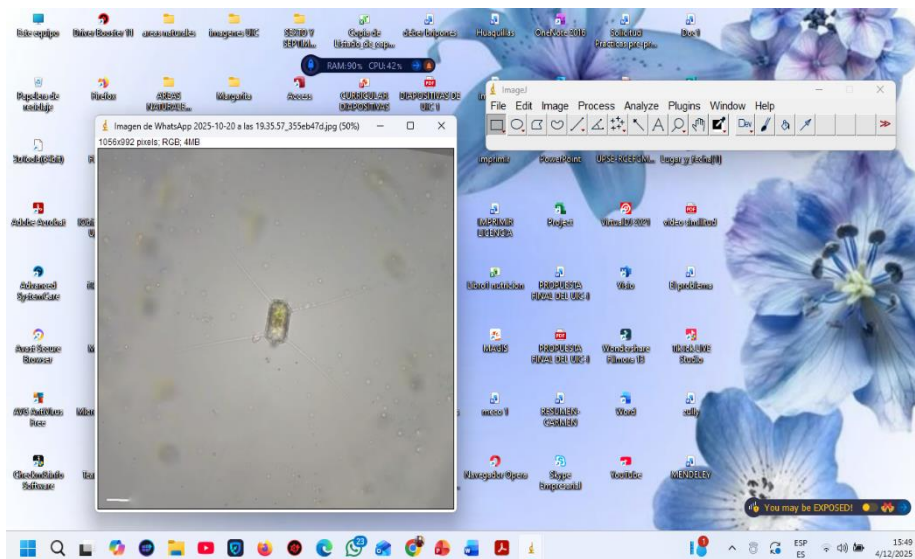
Anexo 8 Conteo de microalgas



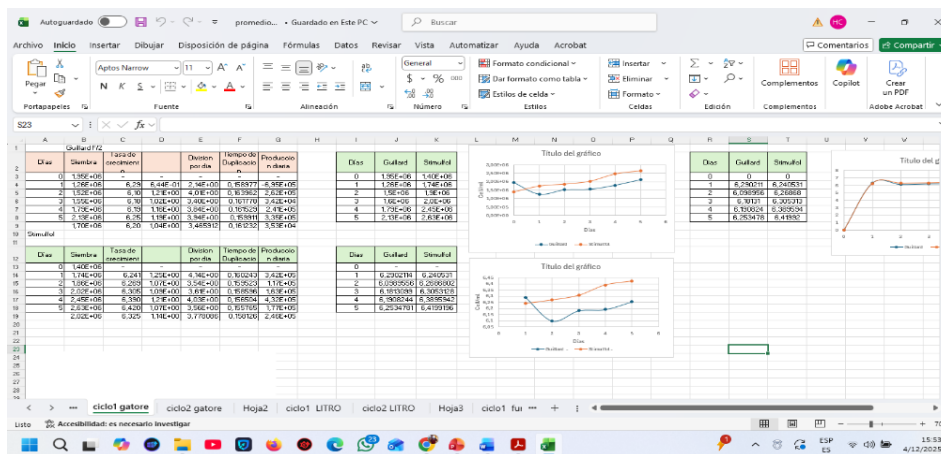
Anexo 9 Preparación de Fertilizante



Anexo 10 *C. muelleri* en cámara Neubauer



Anexo 11 Uso de programa y software para análisis de datos (Image J)



Anexo 12 Uso de programa y software para análisis de datos (Excel y Fasta)

Anexo 13 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 10 ml con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo 1

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	9,58e+05	-	-	-	-
2	1,04e+06	5,98	3,59e+00	0,16719007	7,75e+04
3	1,04e+06	6,02	3,35e+00	0,16623368	8,75e+03
4	1,05e+06	6,02	3,34e+00	0,16611846	5,00e+03
5	1,07e+06	6,02	3,37e+00	0,16608418	1,62e+04
Promedio	1,03e+06	6,01	3,41e+00	0,1664066	2,69e+04

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	6,61e+05	-	-	-	-
2	9,63e+05	5,983	4,84e+00	0,16712959	3,01e+05
3	1,04e+06	6,019	3,60e+00	0,16615374	8,12e+04
4	1,36e+06	6,133	4,32e+00	0,16305978	3,14e+05
5	1,61e+06	6,208	3,95e+00	0,16108735	2,56e+05
Promedio	1,13e+06	6,086	4,18e+00	0,16435761	2,38e+05

Anexo 14 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 10 ml con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo II

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	6,04e+05	-	-	-	-
2	7,96e+05	5,78	4,38e+00	0,17298381	1,92e+05
3	1,08e+06	5,90	4,48e+00	0,16946076	2,79e+05
4	1,33e+06	6,03	4,12e+00	0,1657981	2,59e+05
5	1,51e+06	6,13	3,76e+00	0,16326238	1,75e+05
Promedio	1,06e+06	5,96	4,19e+00	0,16787626	2,26e+05

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	7,20e+05	-	-	-	-
2	1,07e+06	6,029	4,93e+00	0,16586421	3,49e+05
3	1,63e+06	6,213	5,07e+00	0,16095119	5,64e+05
4	1,39e+06	6,142	2,82e+00	0,16280658	-2,46e+05
5	1,74e+06	6,242	4,18e+00	0,16021552	3,57e+05
Promedio	1,31e+06	6,156	4,25e+00	0,16245938	2,56e+05

Anexo 15 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 150 ml con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo I

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,26e+06	-	-	-	-
2	1,52e+06	6,10	4,01e+00	0,1639625	2,62e+05
3	1,55e+06	6,18	3,40e+00	0,16177801	3,42e+04
4	1,79e+06	6,19	3,84e+00	0,16152938	2,41e+05
5	2,13e+06	6,25	3,94e+00	0,15991101	3,35e+05
Promedio	1,65e+06	6,18	3,80e+00	0,16179522	2,18e+05

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,40e+06	-	-	-	-
2	1,74e+06	6,241	4,14e+00	0,16024277	3,42e+05
3	1,86e+06	6,269	3,54e+00	0,15952321	1,17e+05
4	2,02e+06	6,305	3,61e+00	0,15859641	1,63e+05
5	2,45e+06	6,390	4,03e+00	0,15650446	4,32e+05
Promedio	1,89e+06	6,301	3,83e+00	0,15871672	2,64e+05

Anexo 16 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 150 ml con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo II

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	2,12e+06	-	-	-	-
2	2,15e+06	6,33	3,37e+00	0,15805117	2,92e+04
3	2,21e+06	6,33	3,41e+00	0,157905825	5,58e+04
4	2,26e+06	6,34	3,40e+00	0,157628716	5,25e+04
5	2,47e+06	6,35	3,62e+00	0,157377722	2,06e+05
Promedio	2,24e+06	6,34	3,45e+00	0,157740858	8,58e+04

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	2,16e+06	-	-	-	-
2	2,10e+06	6,322	3,23e+00	0,158178367	-6,17e+04
3	2,25e+06	6,353	3,57e+00	0,157407306	1,56e+05
4	2,23e+06	6,349	3,29e+00	0,157503023	-2,17e+04
5	2,24e+06	6,347	3,33e+00	0,157561259	2,50e+03
Promedio	2,20e+06	6,343	3,35e+00	0,157662489	1,87e+04

Anexo 17 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 2 L con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo I

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,15e+06	-	-	-	-
2	9,89e+05	6,06	2,85e+00	0,16497283	-1,63e+05
3	1,35e+06	6,00	4,53e+00	0,16679566	3,59e+05
4	1,50e+06	6,13	3,70e+00	0,16313645	1,52e+05
5	1,54e+06	6,18	3,40e+00	0,16191038	3,75e+04
Promedio	1,31e+06	6,09	3,62e+00	0,16420383	9,62e+04

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,40e+06	-	-	-	-
2	1,25e+06	6,095	2,95e+00	0,16406329	-1,55e+05
3	1,45e+06	6,160	3,86e+00	0,16233535	2,01e+05
4	1,48e+06	6,171	3,41e+00	0,16204634	3,75e+04
5	1,67e+06	6,224	3,75e+00	0,16068001	1,90e+05
Promedio	1,45e+06	6,162	3,49e+00	0,16228125	6,83e+04

Anexo 18 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 2 L con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo II

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,29e+06	-	-	-	-
2	1,35e+06	6,11	3,49e+00	0,163670413	6,62e+04
3	1,44e+06	6,13	3,53e+00	0,163089306	8,62e+04
4	1,58e+06	6,16	3,65e+00	0,162379681	1,42e+05
5	1,67e+06	6,20	3,50e+00	0,161305464	8,37e+04
Promedio	1,47e+06	6,1498	3,54e+00	1,63e-01	9,47e+04

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,42e+06	-	-	-	-
2	1,55e+06	6,190	3,63e+00	0,161539819	1,30e+05
3	1,65e+06	6,218	3,54e+00	0,160812822	1,03e+05
4	1,77e+06	6,248	3,56e+00	0,160053278	1,16e+05
5	1,71e+06	6,234	3,21e+00	0,160417368	-5,75e+04
Promedio	1,62e+06	6,223	3,48463398	0,160705822	7,30e+04

Anexo 19 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 20 L con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo I

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,11e+06	-	-	-	-
2	1,11e+06	6,05	3,3244	0,1652	8,32e+02
3	1,15e+06	6,05	3,4266	0,1654	3,50e+04
4	1,22e+06	6,06	3,5490	0,1650	7,83e+04
5	1,21e+06	6,09	3,2722	0,1643	-1,83e+04
Promedio	1,16e+06	6,0613	3,3931	0,1650	23957,3534

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,10E+06	-	-	-	-
2	1,14E+06	6,058	3,46E+00	0,16506119	4,67E+04
3	1,15E+06	6,061	3,35E+00	0,16498129	9,17E+03
4	1,23E+06	6,090	3,54E+00	0,16421627	7,58E+04
5	1,24E+06	6,094	3,36E+00	0,16409159	1,42E+04
Promedio	1,17E+06	6,076	3,428071506	0,16458758	3,65E+04

Anexo 20 Densidad celular, parámetros poblacionales promedio y de *Chaetocero muelleri* cultivados en 2 L con medio f/2 (A) y fertilizantes agrícolas: Stimulfol (B). Los parámetros que describen el crecimiento son: tasa de crecimiento específico (μ), tiempo de duplicación (TD), divisiones por día (D) y producción diaria (PD) Ciclo II

A

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	Tiempo de duplicación	Producción diaria
1	1,14e+06	-	-	-	-
2	1,20e+06	6,06	3,49e+00	1,65e-01	5,75e+04
3	1,22e+06	6,08	3,39e+00	1,65e-01	2,58e+04
4	1,26e+06	6,09	3,42e+00	1,64e-01	3,75e+04
5	1,28e+06	6,10	3,37e+00	1,64e-01	1,75e+04
Promedio	1,22e+06	6,0805	3,42e+00	1,64e-01	34582,3615

B

Días	Siembra	Tasa de crecimiento	División por día	tiempo de duplicación	Producción diaria
0	1,18e+06	-	-	-	-
1	1,22e+06	6,086	3,44e+00	0,16430569	4,25e+04
2	1,25e+06	6,096	3,39e+00	0,16405487	2,67e+04
3	1,28e+06	6,107	3,41e+00	0,1637458	3,33e+04
4	1,28e+06	6,095	3,32e+00	0,16406447	4,99e+02
Promedio	1,24e+06	6,096	3,39258545	0,16404271	2,57e+04