

UNIVERSIDAD CATOLICA DE LA SANTISIMA CONCEPCION  
Facultad de Ingeniería  
Ingeniería Civil en Biotecnología Acuícola



**Cultivo Integrado de Chicorea de Mar (*Chondracanthus chamissoi*) y Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en un Sistema de Recirculación Acuícola (SRA), a nivel experimental en la Región del Biobío.**

**FELIPE ANDRES KOSTE HERNANDEZ**

INFORME DE PROYECTO DE TITULO PARA OPTAR AL TITULO DE INGENIERO CIVIL EN BIOTECNOLOGIA ACUICOLA

**Profesor Guía** : Pablo Venegas C. Ms Cs.

**Profesor Informante** : Christian Diaz P.

Concepción, Agosto de 2017

## Resumen

Esta investigación buscó evaluar de forma experimental la integración del alga chicorea de mar (*C. chamissoi*) en un SRA de trucha arcoíris (*O. mykiss*). Para esto, se determinó inicialmente el efecto de 3 densidades de biomasa del alga sobre la remoción de amonio disuelto ( $\text{NH}_4^+$ ) presente en el efluente del SRA de *O. mykiss*, para luego integrar al SRA la densidad que tuviera mejor resultado en cuanto a la remoción de amonio disuelto. En la primera prueba se utilizaron 10 estanques de  $0,2 \text{ m}^3$  sin conexión entre ellos, instalados al exterior y cubiertos con un 80% de sombra. Las densidades del alga evaluadas fueron:  $D_1=250 \text{ gm}^{-2}$ ,  $D_2=500 \text{ gm}^{-2}$  y  $D_3=1.000 \text{ gm}^{-2}$ . La concentración inicial de amonio presente en el efluente fue de  $1,34 \pm 0,03 \text{ mgL}^{-1}$ . Cada 6 horas se midió la concentración de amonio y se eliminó el agua cuando la remoción de  $\text{NH}_4^+$  fue del 80% respecto de la concentración inicial. En la segunda prueba se utilizó un SRA compuesto por un estanque de cultivo de peces de  $2 \text{ m}^3$ , filtración mecánica de  $80\mu$ , 4 estanques de  $0,06 \text{ m}^3$  en una zona exterior para la biomasa de algas y un filtro biológico estándar. Los resultados de la primera prueba indican que *C. chamissoi* fue capaz de remover entre el 20 y 40 % del  $\text{NH}_4^+$  presente en el efluente, siendo la densidad  $D_3$  la que obtuvo una mejor tasa de remoción ( $0,153 \pm 0,008 \text{ gm}^{-2} \text{ día}^{-1}$ ), mientras que no hubo diferencia significativa entre  $D_1$  y  $D_2$  ( $P=0,090$ ). En cuanto al alga integrada en el SRA a la densidad  $D_3$ , la remoción diaria de amonio fue entre 5 y 8 %, con una tasa promedio de remoción de  $0,20 \pm 0,03 \text{ gm}^{-2} \text{ día}^{-1}$ . Si bien *C. chamissoi* fue capaz de remover el amonio producido en el SRA, los resultados magros de remoción y crecimiento obtenidos,  $-3,4 \pm 2,1\% \text{ día}^{-1}$ , se vieron influenciados de forma negativa por la estacionalidad, temperatura, salinidad y turbidez del agua de cultivo.

## Abstract

This research aimed to experimentally evaluate the integration of seaweed (*C. chamissoi*) in a rainbow trout SRA (*O. mykiss*). For this, the effect of 3 algae biomass densities on the removal of dissolved ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) present in the *O. mykiss* RAS effluent was initially determined, and then to integrate to the RAS the density that had the best result in terms of Removal of dissolved ammonia. In the first test 10 ponds of  $0.2 \text{ m}^3$  without connection between them, installed outside and covered with 80% of shade were used. The densities of the evaluated algae were:  $D_1 = 250 \text{ gm}^{-2}$ ,  $D_2 = 500 \text{ gm}^{-2}$  and  $D_3 = 1,000 \text{ gm}^{-2}$ . The initial concentration of ammonium present in the effluent was  $1.34 \pm 0.03 \text{ mgL}^{-1}$ . The ammonium concentration was measured every 6 hours and the water was removed when  $\text{NH}_4^+$  removal was 80% of the initial concentration. The second test consisted of an SRA composed of a  $2 \text{ m}^3$  fish culture pond, mechanical filtration of  $80\mu$ , 4 ponds of  $0.06 \text{ m}^3$  in an outer zone for algae biomass and a standard biological filter. The results of the first test indicate that *C. chamissoi* was able to remove between 20 and 40% of  $\text{NH}_4^+$  present in the effluent, with  $D_3$  being the best removal rate ( $0.153 \pm 0.008 \text{ gm}^{-2} \text{ day}^{-1}$ ), Whereas there was no significant difference between  $D_1$  and  $D_2$  ( $P = 0.090$ ). As for the algae integrated in the SRA at  $D_3$  density, the daily ammonia removal was between 5 and 8%, with an average removal rate of  $0.20 \pm 0.03 \text{ gm}^{-2} \text{ day}^{-1}$ . Although *C. chamissoi* was able to remove the ammonium produced in the RAS, the lean removal and growth results obtained,  $-3.4 \pm 2.1\% \text{ day}^{-1}$ , were negatively influenced by the seasonality, temperature, salinity and turbidity of the culture water.

## **Dedicatoria y Agradecimientos**

Para iniciar, dedico este trabajo de investigación a quienes estaré agradecido toda la vida por el sacrificio, esfuerzo y su amor incondicional: mi Mamá y Papá a la vez, Juana Cristina Hernández González, a mi abuela Graciela del Transito González Lebeck, y a mis hermanas Jenny Ivonne González Hernández y Conzuelo del Carmen González Hernández.

Doy gracias a Dios y a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo económico, moral y espiritual, sin cuestionar ni criticar el porqué. Agradezco a quienes me dieron trabajo, a quienes me prestaron dinero y me alentaron de tantas formas distintas. A mis tíos: Oscar, Leyla, Angela, Manuel, Juan Ramón, Miriam, Isabel, Arturo, Mercedita y Sergio. A mis amigos de siempre, Mirko, Juan, Alejandro, Sergio, Manuel, Juan Pablo, Jorge, Walter, Nicole, Fabiola, Oscar, Alejandro Mora, Marcela, Javiera y Patricia. También agradezco a: Juan Letelier, Guillermino y Guillermina, Mercedita, Sergio, David Merino, Luis Suazo, Manuel Suazo y Arcadio Toledo.

Agradezco a mis amigos de la UCSC, Francisco Echeverría, Emerson Lagos, Manuel Almuna, Enzo Carrasco, Macarena Vera, Fernanda de la Torre, Lilian Puentes, Bárbara Altamirano, Fernanda Cisterna, Daniela González, Fernanda González, Enie Oliva, Felipe Rojas, Jennifer Martan, Vladimir Bustos, Ramón, Carolina, Gabriel y Cindy Leyva por el cariño sincero y apoyo constante en esta etapa.

Agradezco a Katherine Llancaleo, Ingrid Llancaleo y a Víctor Guzmán, ellos me ayudaron, me dieron su amistad, sus consejos, su paciencia y fueron un pilar importante para continuar durante esta dura etapa final.

Agradezco al profesor Pablo Venegas por la confianza, la paciencia y todas las ayudas concretas como persona y docente de la carrera. A la profesora Catterina Sobenes, por su actitud perseverante con todos sus alumnos a que aprendiéramos bien. A todos los profesores quienes me han hecho ser mejor persona y estudiante, en especial a los de mi querida Carrera Ingeniería Civil en Biotecnología Acuícola de la generación 2007.

Y para terminar, doy fe de que si se puede, quizás ahora no lo veas pero cuando estés en el futuro entenderás que todo esfuerzo valió la pena, que lograste tus metas y que los problemas te hicieron mejorar como persona.

<b>Índice de Contenido</b>	<b>Pág.</b>
I. Introducción.....	7
II. Objetivos.....	9
a. General .....	9
b. Específicos.....	9
III. Antecedentes Generales .....	10
3.1 Estado Actual de la Acuicultura Mundial y Nacional .....	10
3.2 Acuicultura Multitrófica Integrada (IMTA) .....	11
3.3 La industria de las macroalgas y su importancia.....	13
3.4 Uso de macroalgas como biofiltro.....	14
3.5 Cultivo de macroalgas en sistemas IMTA .....	15
3.6 Factores ambientales y biológicos que afectan la productividad de las macroalgas en sistemas IMTA.....	17
3.6.1 Variables físicas .....	18
3.6.2 Variables Químicas .....	19
3.6.3 Variables biológicas .....	20
3.6.4 Otras variables: .....	20
3.7 Uso potencial de <i>C. chamissoi</i> para el cultivo en sistemas IMTA.....	21
3.7.1 Antecedentes de <i>C. chamissoi</i> .....	21
3.7.2 Hábitat de <i>C. chamissoi</i> .....	22
3.7.3 Caracterización de las condiciones del hábitat .....	22
3.7.4 Ciclo de vida de <i>C. chamissoi</i> .....	23
IV. Metodología.....	24
4.1 Sistema SRA de <i>O. mykiss</i> para la recolección de efluente con $\text{NH}_4^+$ .....	24
4.2 Recolección, transporte, selección y aclimatación de ejemplares de <i>C. chamissoi</i> .	26
4.3 Ejecución Experimento 1 .....	28
4.3.1 Diseño experimental y configuración del experimento.....	28
4.3.2 Procedimiento operativo.....	30
4.4 Ejecución Experimento 2.....	33
4.4.1 Diseño experimental y configuración del experimento.....	33
4.4.2 Procedimiento operativo.....	35
4.5 Determinación de la tasa de crecimiento y remoción de $\text{NH}_4^+$ .....	36
4.6 Análisis estadístico de los resultados.....	37
4.6.1 Pruebas estadísticas .....	38

V.	Resultados.....	39
5.1	Resultados experiencia 1 .....	39
5.1.1	Condiciones de cultivo .....	39
5.1.2	Efecto sobre la concentración .....	39
5.1.3	Porcentaje de remoción Acumulada.....	42
5.1.4	Tasa de remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ .....	42
5.2	Resultados experiencia 2 .....	44
5.2.1	Tasa de Remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ .....	45
5.2.2	Tasa de crecimiento de <i>C. chamissoi</i> .....	46
VI.	Discusión .....	47
6.1.1	Experiencia 1 .....	47
6.1.2	Experiencia 2 .....	48
VII.	Conclusiones .....	51
VIII.	Recomendaciones .....	52
IX.	Referencias Bibliográficas.....	53

## Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de las limitantes para el cultivo de algas. ....	17
Figura 2. Ciclo de vida de la especie <i>Chondracanthus chamissoi</i> (Ávila <i>et al.</i> , 2010). ....	23
Figura 3. Esquema del sistema de recirculación acuícola de <i>O. mykiss</i> .....	25
Figura 4. Componentes para el acopio de agua para las pruebas con <i>C. chamissoi</i> . ....	26
Figura 5. Esquema representativo del diseño experimental y configuración del sistema para el primer experimento con <i>C. chamissoi</i> . ....	28
Figura 6. Diseño del sistema utilizado durante el primer experimento montado con <i>C. chamissoi</i> . ....	29
Figura 7. Diseño interior y componentes de las unidades de cultivo de <i>C. chamissoi</i> del primer experimento. ....	30
Figura 8. Algas separadas, lavadas y listas para ingresar en los estanques de prueba. ....	31
Figura 9. Unidades de cultivo con <i>C. chamissoi</i> listas para iniciar la primera experiencia. ...	32
Figura 10. Diseño del sistema utilizado durante el segundo experimento con <i>C. chamissoi</i> conectado al SRA. ....	34
Figura 11. Esquema de las componentes de las una unidad de cultivo de la segunda experiencia con <i>C. chamissoi</i> .....	34
Figura 12. Sistema de cultivo con recirculación de <i>C. chamissoi</i> , Experimento 2.....	35
Figura 13. Biomasa de <i>C. chamissoi</i> para el experimento 2, R1 réplica 1, R2 réplica 2. ....	35
Figura 14. Efecto de remoción de amonio de <i>C. chamissoi</i> a las 42 horas de cultivo en el sistema Batch probado con las los tratamientos: Control =sin algas, D1=250 g m <sup>-2</sup> , D2=500 g m <sup>-2</sup> y D3=1000 g m <sup>-2</sup> . ....	41

Figura 15. Evolución de las concentraciones promedio de $\text{NH}_4^+$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) registradas durante las pruebas realizadas en el Experimento 1 con <i>C. chamissoi</i> para los tratamientos D1, D2, D3 y Control sin algas. ....	41
Figura 16. Porcentaje de remoción acumulada, Prueba 1 con <i>C. chamissoi</i> . D1=250 $\text{gm}^{-2}$ , D2=500 $\text{gm}^{-2}$ , D3=1000 $\text{gm}^{-2}$ . ....	42
Figura 17. Tasa de Remoción de Amonio por <i>C. chamissoi</i> obtenidos en la Prueba 1. ....	43
Figura 18. Tasa de remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ de <i>C. chamissoi</i> en el sistema de prueba 2. ....	45
Figura 19. Biomasa promedio de <i>C. chamissoi</i> durante el cultivo en el sistema utilizado durante la segunda experiencia. ....	46

## Índice de Tablas

Tabla 1. Remoción de $\text{NH}_4^+$ de diferentes especies de macroalgas cultivadas bajo distintas condiciones de cultivo (R: remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ , Dc: densidad de cultivo y Q: caudal de recirculación).....	15
Tabla 2. Recopilación bibliográfica de condiciones de cultivo para <i>C. chamissoi</i> .....	22
Tabla 3. Variables de calidad de agua registradas en el Experimento 1 con <i>C. chamissoi</i> ....	32
Tabla 4. Condiciones de cultivo obtenidas durante la experiencia 1 en sistema Batch con <i>C. chamissoi</i> . .....	40
Tabla 5. Parámetros de calidad de agua en el sistema de prueba 2 con <i>C. chamissoi</i> al comienzo de la experiencia (Media= Promedio y DS= desviación estándar) .....	44
Tabla 6. Parámetros de calidad de agua en el sistema de prueba 2 con <i>C. chamissoi</i> al término de la experiencia (Media=promedio y DS= desviación estándar) .....	44

## I. Introducción.

El interés por mejorar la calidad de agua en los cultivos de peces y aumentar los niveles de producción de forma eficiente y amigable con el ambiente en la Acuicultura, han llevado a los investigadores a la búsqueda de nuevas soluciones para mitigar los daños producidos por esta actividad (Buschmann y Fortt, 2005). En la actualidad, la Acuicultura Multitrófica Integrada (IMTA) se ha planteado como una de las medidas más adecuadas para mitigar los daños producidos por la acuicultura convencional y hacer de este tipo de actividad, un cultivo más sostenible y amigable con el medio ambiente (Neori *et al.*, 2004). Este tipo de cultivo consiste en la integración de diferentes especies con distintos niveles tróficos, con la finalidad de crear un flujo adecuado de nutrientes que sea aprovechado por las mismas especies cultivadas para generar biomasa de interés, generando así un sistema de cultivo sostenible (Chopin *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004). Con este tratamiento, los efluentes pueden ser reutilizados, sin la necesidad de verterlos como residuos al medio ambiente (Buschmann *et al.*, 2001; Abreu *et al.*, 2011). Gracias a los mecanismos específicos que poseen las algas en sus células para la absorción, lo que les permiten almacenar grandes cantidades de nitrógeno (N) y fósforo (P) en sus tejidos (Lobban y Harrison, 1994).

Los autores Troell *et al.* (1997), Buschmann *et al.* (2008), Barrington *et al.* (2009), Figueroa *et al.* (2011), Macchiavello y Bulboa (2014), describen las ventajas de integrar algas a los sistemas de cultivos de peces, entre las que se destacan: i) pueden reducir los niveles de compuestos nitrogenados; ii) disminuir el nivel de tratamiento del agua y recirculación; iii) mejorar el rendimiento de biomasa de algas debido a la riqueza de nutrientes del efluente; iv) reducir los niveles de contaminante descargados al ambiente; v) se facilita la cosecha de algas y el aumento de los ingresos.

Dentro de los géneros de algas más utilizados para el tratamiento de efluentes, se encuentran el de las Rodófitas o comúnmente conocido como “Algas Rojas”. Es un género de gran importancia comercial, ya que corresponden a una fuente directa de alimento para consumo humano o fuente de carragenanos, que se extraen de estas algas, y que sirven como base para producir cosméticos y alimento (Buschmann *et al.*, 2001). Varias especies de algas rojas como: *Gracilaria pacifica*, *Gracilaria chilensis*, *Gracilaria foliifera*, *Agardhiella subulata*, *Cladophora montagneana*, *Enteromorpha compressa* y *Gracilaria cervicornis*, han

demostrado la capacidad para remover compuestos nitrogenados como el amonio disuelto  $\text{NH}_4^+$  presente en aguas residuales de los sistemas de cultivo de peces (Carneiro *et al.*, 2011).

Se han realizado experiencias de cultivo integrado con algas en sistemas abiertos y de reuso parcial con el fin de evaluar los beneficios del cultivo integrado con algas, los cuales presentan mayores beneficios ecológicos, económicos y sociales cuando se les compara con sistemas tradicionales de cultivo acuícolas (Buschmann *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004; Barrington *et al.*, 2009). Sin embargo, a pesar de que existe evidencia en que se han utilizado ampliamente los sistemas IMTA (Acuicultura Multitrófica Integrada), las especies evaluadas en este tipo de sistemas son pocas; afectando la diversificación de especies cultivadas. Además, no se tiene información que indique bajo qué condiciones operacionales se logra una integración adecuada de especies y tampoco existe información de la biomasa adecuada de las especies co-cultivadas para permitir un flujo constante y equilibrado de nutrientes. Las especies que integran este tipo de cultivo deben ser de alto valor comercial para hacer el cultivo más rentables, debido a la baja productividad que poseen este tipo de sistemas (Buschmann *et al.*, 2001).

En la actualidad existe un creciente interés en el mercado asiático por *C. chamissoi* para el consumo humano directo, que ha dado lugar a un aumento de la demanda y ha generado precios más altos, ya que es un producto comestible (Bulboa *et al.*, 2013). Esta creciente demanda es uno de los grandes impactos, y se ha observado una notable disminución en las algas cosechadas a nivel nacional, pasando de 25.000 t en 2000 a sólo 2125 t en 2016 (Sernapesca, 2016). Por ejemplo, en la VIII región de Chile, se ha observado una disminución en las últimas décadas de los desembarques de 4993 t en 2000 a 947 t en 2016 toneladas (Sernapesca, 2016). Así, considerando la necesidad de buscar sistemas de cultivo más sustentables y sostenibles en el tiempo y fomentar la biodiversidad de especies de alto valor para la acuicultura, el presente estudio evaluó la capacidad del alga *Chicorea de mar* (*Chondracanthus chamissoi*) para remover el amonio  $\text{NH}_4^+$  presente en el agua residual de un cultivo de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) a nivel experimental.

## II. Objetivos

### a. General

Evaluar la integración de Chicorea de Mar (*Chondracanthus chamissoi*) en un cultivo de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) con tecnología de recirculación de agua (SRA), a nivel experimental en la Región del Biobío.

### b. Específicos

Determinar el efecto que produce la densidad de cultivo *C. chamissoi* sobre la tasa de remoción de amonio disuelto  $\text{NH}_4^+$  presente en el agua residual de un cultivo de *O. mykiss* con tecnología de recirculación de agua SRA.

Determinar la tasa de crecimiento que puede alcanzar *C. chamissoi*, al ser integrada en un cultivo SRA de *O. mykiss* a nivel experimental.

### III. Antecedentes Generales

#### 3.1 Estado Actual de la Acuicultura Mundial y Nacional

La acuicultura es un sector que ha experimentado un gran auge en las últimas décadas. Este hecho se debe al aumento en la demanda de proteína animal que ha generado el aumento de la población y las dificultades de los demás sectores de abastecerla. Convirtiendo esta actividad en un gran pilar económico y de gran importancia en muy poco tiempo, debido a que es una alternativa al uso de los recursos pesqueros que son cada vez más escasos (Ortega y Ochoa, 2009; Buschmann *et al.*, 2013). En el año 2014, la producción mundial de animales acuáticos procedentes de la acuicultura ascendió a 73,8 millones de toneladas, con un valor de primera venta estimado de 160.200 millones de USD. Para el mismo año, los mayores productores fueron China con el más del 60% de la producción mundial, India, Viet Nam, Bangladesh y Egipto, mientras que en Chile, la producción acuícola total creció desde 32.447 toneladas el año 1990 a 1.045.790 toneladas el año 2015 (FAO, 2016).

Las proyecciones de esta actividad hacia un futuro se hacen más evidentes, ya que el consumo aparente de productos marinos per cápita a nivel mundial registró un aumento de un promedio de 9,9 kg en la década de 1960 a 14,4 kg en la década de 1990 y 19,7 kg en 2013, con estimaciones preliminares que apuntan a que seguirá aumentando hasta superar los 20 kg en 2016 y 2018 (FAO, 2016). Sin embargo, las proyecciones de crecimiento y diversificación de esta actividad deberán enfrentar una serie de desafíos debido al uso de espacios que ella ocupa y a los diversos problemas ambientales que ha ido generado a través de los años (Badiola *et al.*, 2012).

El cultivo intensivo de peces en zonas costeras (salmónidos) requiere de la incorporación de alimento en forma exógena, a partir del cual se liberan grandes cantidades de nitrógeno y fósforo (Naylor *et al.*, 2000; Buschmann y Fortt, 2005). Cerca de un 75% del alimento suministrado se pierde en forma de alimento no capturado, fecas y elementos inorgánicos disueltos, y solo un 25% se recupera en forma de biomasa (Folke *et al.*, 1998; Buschmann y Fort, 2005). En consecuencia la incorporación de estos residuos al medio ambiente genera eutrofización de la columna de agua y fondo marino, alteran la diversidad específica de la zona, desequilibran las relaciones tróficas entre organismos, incrementando la intensidad y

frecuencia en la proliferación de microalgas y dinoflagelados, afectando negativamente la estructura y función de los ecosistemas costeros, su calidad de agua y biodiversidad de especies (Buschmann y Fortt, 2005). Bajo este contexto, la acuicultura deberá crecer y desarrollarse de acuerdo a principios sustentables y más amigable con el medio ambiente, reduciendo los impactos ambientales, económicos y sociales que esta conlleva (Buschmann y Fortt, 2005, Barrington *et al.*, 2010; Badiola *et al.*, 2012).

### **3.2 Acuicultura Multitrófica Integrada (IMTA)**

En el contexto de la sustentabilidad y biodiversidad, la Acuicultura Multitrófica Integrada (IMTA) ha sido una de las opciones que se han investigado a nivel mundial (Buschmann *et al.*, 2001; Chopin *et al.*, 2001). Esta actividad se basa en la integración del cultivo de diferentes especies con la finalidad de crear un sistema donde el flujo de nutrientes excretado por la producción de peces sea aprovechado por otras especies de interés comercial como las algas, además del aprovechamiento de la materia orgánica por parte de otros organismos filtradores de interés, como los moluscos, generando así un sistema de cultivo sostenible (Chopin *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004;). Con este tratamiento, los efluentes pueden ser devueltos a los tanques de cultivo de peces, sin necesidad de verterlos como residuos y conseguir así un sistema de recirculación cerrado (Buschmann *et al.*, 2001; Abreu *et al.*, 2011).

Este enfoque de acuicultura integrada, se ha venido practicando a través de experimentos de ensayo y error hace cientos de años, considerando la acuicultura como una actividad que se podía integrar con la agricultura (Edwards, 1993). China fue el primer país del mundo en cultivar peces mediante la integración con la agricultura, remontándose este tipo de cultivo hasta el siglo XI (Liu y He, 1992 en Dong *et al.*, 2013). Los primeros registros de la integración en este país se remontan a 220-265 DC, cuando se informó la relación mutuamente rentable entre la “carpa de hierba” y “el arroz”. En China se utilizó una frase común que decía que "una carpa de hierba alimenta a tres carpas de plata”, frase que sigue siendo popular en el país. Lo que significa que la carpa de hierba alimenta a la carpa plateada y la alimentación residual puede ser filtrada por la carpa plateada o puede promover el crecimiento del fitoplancton en los estanques. Más tarde en la década de los 70 se iniciaron algunos cultivos integrados a gran escala en las provincias de Shandong y Fujian donde

utilizaron simultáneamente mejillones y algas marinas a lo largo de una gran parte de la costa de esas ciudades (Fu, 1979; Xie, 1981; Dong *et al.*, 2013). Luego en los años 80, los exitosos cultivos de algas marinas, vieiras y pepinos cuyos permitieron la amplia aplicación en bahías más expuestas y también en tanques en tierra. Como por ejemplo los cultivos: camarones-almejas, camarones-lucio y camarones-algas (Zhu, 1980 en Dong *et al.*, 2013).

Actualmente, se ha desarrollado gran interés por aplicaciones de cultivo integrado en países como Taiwán, Canadá, Suecia, Estados Unidos, España, Israel y Chile. De preferencia el cultivo integrado con algas por su capacidad de funcionar como biofiltro para las aguas residuales del cultivo de peces y camarones, tanto en sistemas abiertos en mar como en tierra (Chopin *et al.*, 2001; Troell *et al.*, 2003, Matos *et al.*, 2006). En Chile, Noruega e Israel se han estudiado cultivos integrados con macroalgas marinas en condiciones de sistema abierto en mar, en sistema flotante cerrado, y en sistema puestos en tierra (Buschmann *et al.*, 2001). Desde cultivos integrados simples como el de carpa y arroz hasta variaciones múltiples como: peces/moluscos/algas/anélidos, el enfoque de la acuicultura integrada ha evolucionado a través del tiempo, conociendo actualmente como AMTI o IMTA (Chopin *et al.*, 2001; Buschmann *et al.*, 2001; Nobre *et al.*, 2010; Samocha *et al.*, 2015).

Los sistemas de cultivo IMTA presentan una serie de ventajas: i) permiten el aprovechamiento de las excreciones generadas por los cultivos de peces, ii) ofrecen un subproducto a la acuicultura muy interesante al servir de alimento para otras especies del cultivo, iii) disminuye la necesidad de renovación de agua en sistemas de cultivo acuícolas, cosa que permitiría realizarlos independientemente de la influencia del medio, iv) reduce la carga contaminante a través del reciclado de nutrientes, v) mejora la calidad de agua de los organismos co-cultivados, vi) incrementa la producción del sistema, vii) diversificación de especies y productos, viii) acceso a múltiples mercados, ix) reducción en los costos de producción al reducir la renovación de agua, x) permite el desarrollo sustentable de la actividad al controlar de forma exhaustiva los desechos, otros (Angel y Freeman, 2009; Machado, 2015). Sin embargo, para llevar a cabo con éxito esta integración en la acuicultura tradicional, es necesario seguir diferentes directrices. Tales como i) la utilización de especies de cultivo adaptadas a las diferentes áreas de producción, que aseguren unas tasas de crecimiento elevadas, una producción durante todo el año y tengan un valor de mercado

como subproducto de la acuicultura; y ii) el desarrollo de una legislación que regule este ámbito dando flexibilidad a prácticas experimentales e innovadoras a escala pre industrial (Chopin *et al.*, 2001). Además, según el LBAAF, 2017 (Land Based Aquaculture Assesment Framework) algunas de las principales desventajas de este tipo de cultivo, es que los nutrientes deben estar debidamente equilibrados para el flujo constante de nutrientes entre las especies co-cultivadas por lo que la productividad es baja comparada con los monocultivos (cultivo de una sola especie), surgen problemas de seguridad alimentaria (coliformes y parásitos), surgen problemas de percepción pública, limitaciones de cantidad de especies aptas y de alto valor comercial para hacer más rentable este tipo de cultivos y se desconoce el tipo de tecnología adecuada para desarrollar estos cultivos por lo que se requiere mayor gestión para equilibrar los insumos requeridos y los flujos de nutrientes.

### **3.3 La industria de las macroalgas y su importancia**

El cultivo de algas se ha convertido en una parte muy importante de la producción acuícola. Se estima que el 70% de las algas marinas utilizadas proceden de sistemas de producción (FAO, 2016). Estos llegan a representar el 50% de la acuicultura marina. Las diferentes técnicas de cultivo han ido variando durante los últimos años y el crecimiento experimentado ha sido muy notable. Las algas presentan diferentes aspectos que facilitan mucho su cultivo, como la ausencia de diferenciación de tejidos, aspecto que facilita la propagación vegetativa, la maleabilidad de sus ciclos de reproducción y la variabilidad de su metabolismo, con capacidad de producir diferentes componentes dependiendo del sistema de cultivo empleado (Machado, 2015).

La industria de las macroalgas ha aumentado mucho en las últimas décadas, ya que estas son excelentes captadores de nutrientes del agua, en especial de N y P. Son también de gran utilidad para evitar problemas de eutrofización en ecosistemas costeros (Neori *et al.*, 2004). Se estima que este sector presenta el crecimiento más rápido en cuanto a producción de alimentos del mundo. En el año 2012 se produjeron casi 23,8 millones de toneladas de algas a nivel mundial con un incremento de producción del 116% respecto a los 9,3 millones de toneladas producidas diez años antes (FAO, 2016). El cultivo de plantas acuáticas, mayoritariamente de algas marinas, ha crecido rápidamente y actualmente se practica en unos 50 países. Resulta importante desde el punto de vista de la seguridad alimentaria y el

medio ambiente el hecho de que la mitad de la producción acuícola mundial de animales y plantas proceda de especies no alimentadas (FAO, 2016).

Las algas y otras plantas acuáticas, representan un recurso de gran valor para la humanidad, ya que pueden ser consumidas como alimento; siendo consumidas crudas: cocidas o procesadas, o también en forma de productos cosméticos y farmacéuticos generados a partir de su contenido en polisacáridos como agares, carragenanos y alginatos (Critchley y Ohno, 1998). La importancia del cultivo de algas no radica tan solo en el beneficio económico sino que también, en el beneficio ambiental que se puede lograr, ya que el cultivo de algas en conjunto con otras especies permite eliminar varias toneladas métricas de nitrógeno que anualmente son producidos en otros cultivos y que las algas pueden utilizar como fuente de nutrición, mitigando el problema de eutrofización de los ambientes acuáticos (Troell *et al.*, 2003). Esto hace que tengan un importante papel en el desarrollo de biofiltros para aguas residuales, ya procedan de industrias, de explotaciones acuícolas o de explotaciones agrícolas (Cole *et al.*, 2014). Con la biofiltración mediante macroalgas de los nutrientes como N y P, se consigue una elevada proporción de proteína en éstas que permite su utilización en la fabricación de piensos (Neori *et al.*, 2004). Además, también son capaces de acumular algunos contaminantes como metales pesados, siendo de utilidad para tratar efluentes de diferentes industrias (Machado, 2015).

### **3.4 Uso de macroalgas como biofiltro**

La eficiencia de las algas para absorber desechos del cultivo de peces como compuestos nitrogenados y fosfatos, hace que estas puedan ser útiles como biofiltros en sistemas con peces en tierra, pudiendo eliminar también CO<sub>2</sub> y residuos inorgánicos de los efluentes. Lo que permite reducir la concentración de contaminantes en las descargas de los sistemas de cultivo al ambiente permitiendo también reutilizar el agua de desecho (Troell *et al.*, 2003; Nobre *et al.*, 2010; Macchiavello y Bulboa, 2014; Samocha *et al.*, 2015).

Para interpretar la función de biofiltro de las algas se deben tener claros dos conceptos: “eficiencia de remoción” y “tasa de remoción” de nutrientes. La eficiencia de remoción o porcentaje de remoción se define como la reducción de nutrientes en el agua del cultivo expresada en porcentaje y la tasa de captación o tasa de remoción de nutrientes se define

como la cantidad de nutrientes eliminados por unidad de área (Buschmann *et al.*, 2001). Ambos conceptos son importantes y variarán dependiendo de las condiciones de cada cultivo tales como la profundidad, la luz, la densidad de población, las tasas de rotación de agua y de las propiedades específicas de la especie de alga utilizada (Troell *et al.*, 2003).

En un cultivo integrado con algas, es necesario optimizar la disponibilidad de nutrientes para que las algas puedan alcanzar niveles aceptables tanto en su tasa de absorción de nutrientes como de la eficiencia de remoción (Buschmann *et al.*, 1994). La Tabla 1, muestra eficiencias de remoción y tasas de remoción que han obtenido algunos autores con especies de *Gracilaria* utilizando distintos caudales de recirculación y densidades de cultivo de algas.

**Tabla 1.** Remoción de  $\text{NH}_4^+$  de diferentes especies de macroalgas cultivadas bajo distintas condiciones de cultivo (R: remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$ , Dc: densidad de cultivo y Q: caudal de recirculación).

Especie	Referencia	R (% día <sup>-1</sup> )	R (g m <sup>-2</sup> día <sup>-1</sup> )	Dc (g m <sup>-2</sup> )	Q (L min <sup>-1</sup> )	Sistema
<i>G. chilensis</i>	Buschmann <i>et al.</i> , 1996	51,5	0,71	1500	20,0	Paso abierto
<i>G. bursa pastoris</i>	Matos <i>et al.</i> , 2006	75,4	1,61	5000	2,55	Recirculacion
<i>G. vermiculophyla</i>	Abreu <i>et al.</i> , 2011	50,0	1,30	5000	1,70	Recirculacion
<i>G. arcuata</i>	Hadeft <i>et al.</i> , 2012	66,5	0,55	3000	3,70	Recirculacion
<i>G. tikvahiae</i>	Samocha <i>et al.</i> , 2015	62,1	0,80	2000	10,0	Recirculacion

**Fuente:** Elaboración Propia.

### 3.5 Cultivo de macroalgas en sistemas IMTA

El cultivo de macroalgas se desarrolla ampliamente en mar y en tierra (Machado, 2015). Es un sistema de cultivo muy caro y con la necesidad de mano de obra muy calificada. Tiene la ventaja de que todos los parámetros de cultivo están muy controlados y todos los procesos mecanizados. Este hecho provoca un gran interés en el desarrollo de sistemas de cultivos para algas con el objetivo de poder integrarlo al cultivo de peces tanto en mar como en tierra, buscando conseguir un sistema equilibrado donde se tenga un balance de nutrientes, un mayor control de los residuos y que haga de la acuicultura un sistema de producción mucho más sostenible (Buschmann *et al.*, 1996; Troell *et al.*, 2003; Nobre *et al.*, 2010).

A mediados de los años setenta comienza el desarrollo de métodos intensivos utilizando algas marinas y bivalvos con el fin de tratar los residuos contenidos en aguas residuales de

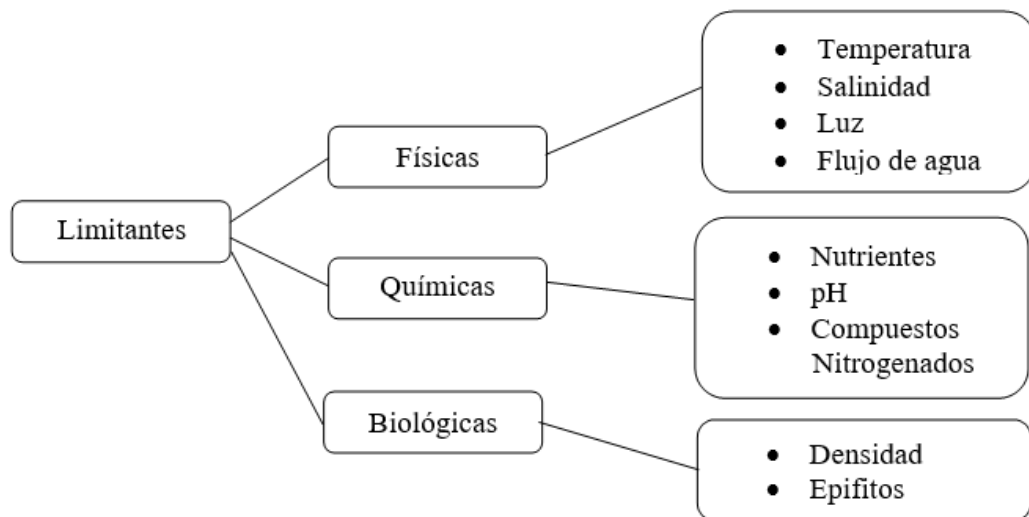
los sistemas acuícolas cerrados en tierra (Bardach *et al.*, 1972; Haines, 1975). Más tarde durante los años noventa, la rápida expansión de los sistemas de cultivo intensivo (pisciculturas y centros para cultivar camarón) y la preocupación por los efectos negativos sobre el medio ambiente renovaron y aumentaron la investigación sobre el desarrollo de técnicas integradas con algas marinas para hacer frente a esta situación. La mayoría de los estudios demostraron que las aguas residuales de la acuicultura intensiva y semi-intensiva podían ser una fuente adecuada de nutrientes para la producción intensiva de algas marinas, reduciendo así la descarga de nutrientes disueltos al ambiente (Cohen y Neori, 1991; Haglund y Pedersen, 1993; Buschmann *et al.*, 1994; Krom *et al.*, 1995; Neori, 1996; Troell *et al.*, 1997; Neori y Shpigel, 1998; Chopin *et al.*, 2001). En algunos casos, los cultivos integrados en tierra también se desarrollaron con el fin de incluir combinaciones adicionales de especies de diferentes niveles tróficos. Ejemplos de tales sistemas son: camarón-bivalvo; peces-bivalvos; algas y moluscos (Troell *et al.*, 2003). En China, la especie *Laminaria japonica*, cultivadas en long-lines (cuerdas de palangre) en aguas costeras, constituye más de la mitad de la producción mundial de plantas acuáticas (Wang y Chiang, 1994; Fei *et al.*, 1998; Fei *et al.*, 2000). En Estados Unidos y Canadá se cree que los cultivos de especies de importancia comercial como las especies *Porphyra* y *Laminaria* que tienen un potencial para escalar cultivos viables en mar y cultivos integrados en tierra (Chopin *et al.*, 2001). En Canadá, la investigación y el desarrollo de cultivos exitosos han llevado a la generación de biomasa de algas comestibles, como el musgo irlandés *Chondrus crispus*, en tanques y estanques fertilizados en tierra (Craigie y Shacklock, 1995). En Chile, se han hecho avances significativos en la producción comercial de *Chondracanthus chamissoii* y *Callophyllis variegata* como productos alimenticios para el mercado japonés (Buschmann *et al.*, 2001).

Actualmente, los sistemas IMTA con macroalgas se llevan a cabo sobre todo de manera experimental, dada su baja productividad, pero presenta unas perspectivas de futuro muy alentadoras para la acuicultura debido a que las algas poseen, como hemos comentado anteriormente, un potencial muy interesante como biofiltro en efluentes con un alto contenido de nutrientes (Troell *et al.*, 2003; Nobre *et al.*, 2010; Samocha *et al.*, 2015). Aunque la viabilidad del cultivo de algas puesto en tierra ha sido desarrollada en Florida, Israel, y Chile, la tecnología no se ha implementado a una escala comercial, debido al aumento en los costos de producción que implica trasladar el cultivo desde el mar a tierra, lo

que hace que no sea viable económicamente ya que aumenta el costo de inversión y operación por la compra de unidades de cultivo, el aumento en el consumo eléctrico por el bombeo de agua y aireación, además se debe comprar alimento en forma de nutrientes esenciales para las algas (Hanisak y Samuel, 1987; Friedlander y Levy, 1995; Buschmann *et al.*, 1996; Chow *et al.*, 2001). Sin embargo, el costo de inversión y operación requerido para el cultivo, puede ser contrarrestado si se integran algas eficientes en la remoción de compuestos provenientes como sistema de tratamiento del agua residual del cultivo de peces, en donde se ha demostrado que al integrar algas al sistema de cultivo, estas pueden utilizar los desechos como fuente de nutrición (Buschmann *et al.*, 1996; Buschmann *et al.*, 2008).

### 3.6 Factores ambientales y biológicos que afectan la productividad de las macroalgas en sistemas IMTA.

La idoneidad de una especie de alga marina para realizar un cultivo integrado, depende principalmente de las condiciones de cultivo y de las condiciones ambientales locales (Buschmann *et al.*, 2001; Chopin *et al.*, 2001). Por esa razón antes de iniciar un cultivo integrado con algas, es recomendable considerar unas series de variables, físicas, químicas y biológicas que están implicadas en el rendimiento y evolución del cultivo (Fig. 1) (Friedlander y Levy, 1995).



**Figura 1.** Esquema de las limitantes para el cultivo de algas.

### 3.6.1 Variables físicas

La temperatura puede afectar el metabolismo de las algas y su actividad enzimática dentro de las células. Un aumento o disminución de la temperatura puede influir en específico el transporte activo, en forma directamente proporcional a la velocidad de la absorción, como se ha demostrado en la especie *Gracilaria chilensis*, donde la captación de nitrógeno se ve disminuida (Ambler *et al.*, 1988). Entre los 0 y 27°C es el rango donde se registra la mayor actividad metabólica biológica en el océano, por debajo de este rango la actividad se ve disminuida notablemente. Las temperaturas óptimas para la productividad se encuentran entre los 15 y 20°C, lo que a su vez coinciden con el óptimo para la fotosíntesis (Edding *et al.*, 2006).

La salinidad del agua de mar puede verse alterada por la proximidad a los cursos de aguas continentales. Estas variaciones pueden afectar a las algas, viéndose obligadas a adaptar su fisiología y morfología para sobrevivir en el ambiente que habitan en (Littler y Littler , 1980; Edding *et al.*, 2006). Algunos cambios morfológicos en las algas pueden condicionar variaciones en cuanto a la capacidad de realizar fotosíntesis como en el caso de la especie polimórfica *Caulerpa*, quien ve disminuida su productividad cuando aumenta su complejidad morfológica (Edding *et al.*, 2006) . En algas como la filamentosa *Rhizoclonium* que habita en un amplio rango de salinidades (10-40 ppm), no afectan su crecimiento y maduración pero salinidades extremas de 0 y 40 ppm pueden afectar su tasa fotosintética (Edding *et al.*, 2006). Las características vegetativas también pueden verse alteradas por cambios en la salinidad, como ocurre con la especie *Fucus vesiculosus*, quien muestra una disminución en la capacidad vegetativa, a medida que la salinidad desciende de 24 a 2 psu (Edding *et al.*, 2006). Otros procesos como la reproducción y germinación de esporas son procesos que también pueden verse alterado en algas por la influencia de la salinidad (Santelices, 2002; Sousa *et al.*, 2007).

La luz puede influir en la absorción de nutrientes como el  $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_4^+$  que son particularmente importantes en la nutrición de las algas, siendo el nitrato más dependiente que el amonio (Lobban y Harrison, 1994).

El movimiento del agua tiene un efecto en el metabolismo de las algas, en especies como *Ulva sp.* y *Colpomenia sp.* la fotosíntesis varía de acuerdo al movimiento del agua (Littler, 1980; Edding *et al.*, 2006). En general, el movimiento del agua facilita el transporte de iones desde y hacia la célula, mientras que la falta de movimiento en el agua puede afectar negativamente el crecimiento. La especie *Gracilaria parvispora*, ve disminuida sus tasas de crecimiento cuando se cultiva en lagunas con velocidades menores entre 3 y 11 cm (Ryder *et al.*, 2004; Edding *et al.*, 2006). Flujos de agua altos en los estanques pueden afectar negativamente el rendimiento de las algas (Buschmann *et al.*, 1994). La mayor eficiencia de absorción estaría relacionada con la menor tasa de recambio de agua (Chopin *et al.*, 2001; Macchiavello y Bulboa, 2014).

### **3.6.2 Variables Químicas**

Los requerimientos de nutrientes de las algas se dividen en tres categorías, macronutrientes (Por ejemplo: N, P, C, etc.), micronutrientes o elementos traza (Por ejemplo: Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, etc.) y vitaminas (B<sub>12</sub>, Thiamina y Biotina). La mayoría de los elementos esenciales para el crecimiento están relativamente en bajas concentraciones en el agua de mar con respecto a la concentración en sus tejidos. Por ejemplo, el N y P están concentrados cerca de 100000 veces por las algas, mientras que el C está concentrado cerca de 10000 veces por debajo de las concentraciones en ambientes con agua de mar (Harrison y Hurd, 2001). La captación de estos nutrientes (en forma de iones) por las células de las algas es dependiente de las concentraciones en las que se encuentran, del flujo de agua, la temperatura, la salinidad y también de las reservas que estén almacenadas en las algas previamente a la incorporación intracelular (Edding *et al.*, 2006). El término “Nutriente-Limitante” se remonta hace 100 años de la ley del mínimo del gran Lie, quien afirma que el nutriente que se encuentra disponible en la cantidad más pequeña con respecto a los demás nutrientes requeridos por el alga, limitará la tasa de crecimiento, asumiendo que todos los demás factores son óptimos (Harrison y Hurd, 2001). La concentración del nutriente en el agua de mar está determinado por el balance entre la tasa de suministro del nutriente (mezcla de la columna de agua, regeneración de nutrientes, etc.) y la demanda de nutrientes por las algas (absorción). Por lo tanto una muy baja concentración de nutrientes en el agua de mar, no determinara si el alga esta levemente, moderadamente o severamente limitada de nutrientes (Edding *et al.*, 2006).

### 3.6.3 Variables biológicas

La densidad de cultivo es un factor importante a considerar, tiene incidencia directa en la productividad y en la eficiencia de absorción de nutrientes en los sistema de biofiltración (Chopin *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004; Macchiavello y Bulboa, 2014). Teniendo una relación inversamente proporcional a la absorción de nutrientes, una alta densidad afecta de forma negativa, impidiendo un acceso adecuado a la luz mediante la sombra entre individuos y a su vez limita la capacidad de fotosíntesis, que también interviene en la productividad y demanda de nutrientes por las algas (Matos *et al.*, 2006). Es posible determinar que la densidad máxima permitida para garantizar la mayor absorción de nutrientes en *U. lactuca* es  $1900 \text{ gm}^{-2}$ , similar a la densidad de carga descrito por Andersson *et al.* (1996) para esta misma especie. Esta densidad de población también ha sido recomendada para *G. chilensis*, a pesar de que la eficiencia de absorción se mantiene incluso en densidades de 2600 y 3200  $\text{gm}^{-2}$  (Macchiavello y Bulboa, 2014).

La aparición de epífitos (malezas) en el cultivo de tanques intensivos de algas como el género *Gracilaria*, se puede presentar como un problema importante, ya que estos pueden proliferar en las paredes de los estanques, en el medio acuoso o incluso en las algas como interferentes, alimentándose del contenido de nitrógeno disponible para la especie principalmente cultivada en el sistema. Bajas densidades de cultivo y altas temperaturas es la condición adecuada para la proliferación de estos epífitos (Friedlander y Levy, 1995).

### 3.6.4 Otras variables:

El grosor de la capa limítrofe en la superficie de las algas; la ubicación en la columna de agua; la turbidez de la columna de agua; la desecación y la trasplatación de un lugar a otro, también pueden considerarse como relevantes para el cultivo.

- a) El grosor de la capa limítrofe, puede perturbar el ingreso de nutrientes a través de la membrana celular y disolverse en la capa lipídica. Algas que se encuentran en ambientes de gran movimiento y que posean una capa limítrofe más delgada, les facilitaría la incorporación de los iones. Por el contrario si el ambiente es calmo, la capa limítrofe en las algas dificultaría el ingreso de iones (Lobban y Harrison, 1994; Edding *et al.*, 2006).

- b) La ubicación de las algas en la columna de agua se puede considerar importante debido a que pequeñas variaciones en la profundidad pueden marcar una diferencia relativa en el crecimiento de las algas. Se ha registrado que algas ubicadas en la superficie con luz directa pueden ganar menos biomasa en comparación con algas ubicadas más profundas, esto puede ser debido a la deshidratación y el exceso de luz. La profundidad en ambientes eutróficos es un factor relevante en la productividad de las algas (Oliveira *et al.*, 2012).
- c) En el caso de la turbidez, deshidratación y la trasplantación, pueden afectar en diferente medida, una alta turbidez en los estanques impediría que la luz solar penetre la columna de agua, afectando la fotosíntesis y restringiendo el crecimiento de las algas (Marinho-Soriano *et al.*, 2009). En cambio la deshidratación podría relacionarse con la pérdida de biomasa como el caso de *Ulva reticulata* que puede mostrar pérdida en la biomasa húmeda de la especie por efecto de la deshidratación (Msuya y Neori, 2002 en Oliveira *et al.*, 2012). Con respecto al trasplante de algas de un ambiente a otro, Cuomo *et al.* (1993) en Edding *et al.* (2006) menciona que el trasplante de algas puede modificar su metabolismo y morfología, lo que puede alterar sus tasas de crecimiento y de absorción de nutrientes.

### **3.7 Uso potencial de *C. chamissoi* para el cultivo en sistemas IMTA**

#### **3.7.1 Antecedentes de *C. chamissoi***

La Chicorea de mar corresponde a un recurso endémico de la costa del Pacífico de América del Sur (5-40° S), cuyos hábitats silvestres han sido históricamente explotados por pescadores debido a su importancia comercial como fuente para la extracción de carragenanos (base de cosméticos y alimento). En la actualidad existe un creciente interés en el mercado asiático por *C. chamissoi* para el consumo humano directo, que ha dado lugar a un aumento de la demanda y ha generado precios más altos, ya que es un producto comestible (Bulboa *et al.*, 2013). Esta creciente demanda es uno de los grandes impactos, y se ha observado una notable disminución en las algas cosechadas a nivel nacional, pasando de 25.000 t en 2000 a sólo 2125 t en 2016 (Sernapesca, 2016). Por ejemplo, en la VIII región de Chile, se ha observado una disminución en las últimas décadas de los desembarques de

4993 a 947 toneladas (Sernapesca, 2016). Esta situación afecta a varias áreas de cosecha de Chile y los planes de manejo ineficientes de los lechos silvestres han permitido el desarrollo de especies oportunistas como *Ulva* y *Codium frálgile* (Bulboa *et al.*, 2013). En base a los antecedentes presentados, la especie de interés para esta investigación corresponde a *C. chamissoi*, anteriormente conocida como *Gigartina chamissoi*. Esta es una luga endémica de las costas de Chile y Perú. Se distribuye desde Paita (Perú) hasta Ancud, décima región en Chile (Otaíza y Cáceres, 2015).

### 3.7.2 Hábitat de *C. chamissoi*

Algunas láminas crecen en pozas ubicadas en la parte baja de la zona intermareal, pero con mayor abundancia en la zona submareal rocosa. Entre los 4 y 6 metros de profundidad, aunque se ha reportado que puede alcanzar hasta los 15 metros de profundidad (Otaíza y Cáceres, 2015).

### 3.7.3 Caracterización de las condiciones del hábitat

*C. chamissoi* puede crecer en sustratos duros como rocas, conchas de molusco y ocasionalmente en peñas de piure, aunque varios estudios demuestran que puede crecer en otros tipos de sustrato, como cuerdas de propileno, plástico, vidrio y cerámicos (Otaíza y Cáceres, 2015). Las láminas de *C. chamissoi* abundan en sustratos bien iluminados, pero el exceso de luz podría afectarlas. En relación a la temperatura, se ha indicado que el crecimiento de láminas en laboratorio es menor a 10° C que a 15°C o 20° C. En cuanto al flujo de agua, estas se ubican en áreas de amplio rango de flujo de agua (Otaíza y Cáceres, 2015). La tabla 2 muestra algunos parámetros de cultivo de *C. chamissoi* recopilados.

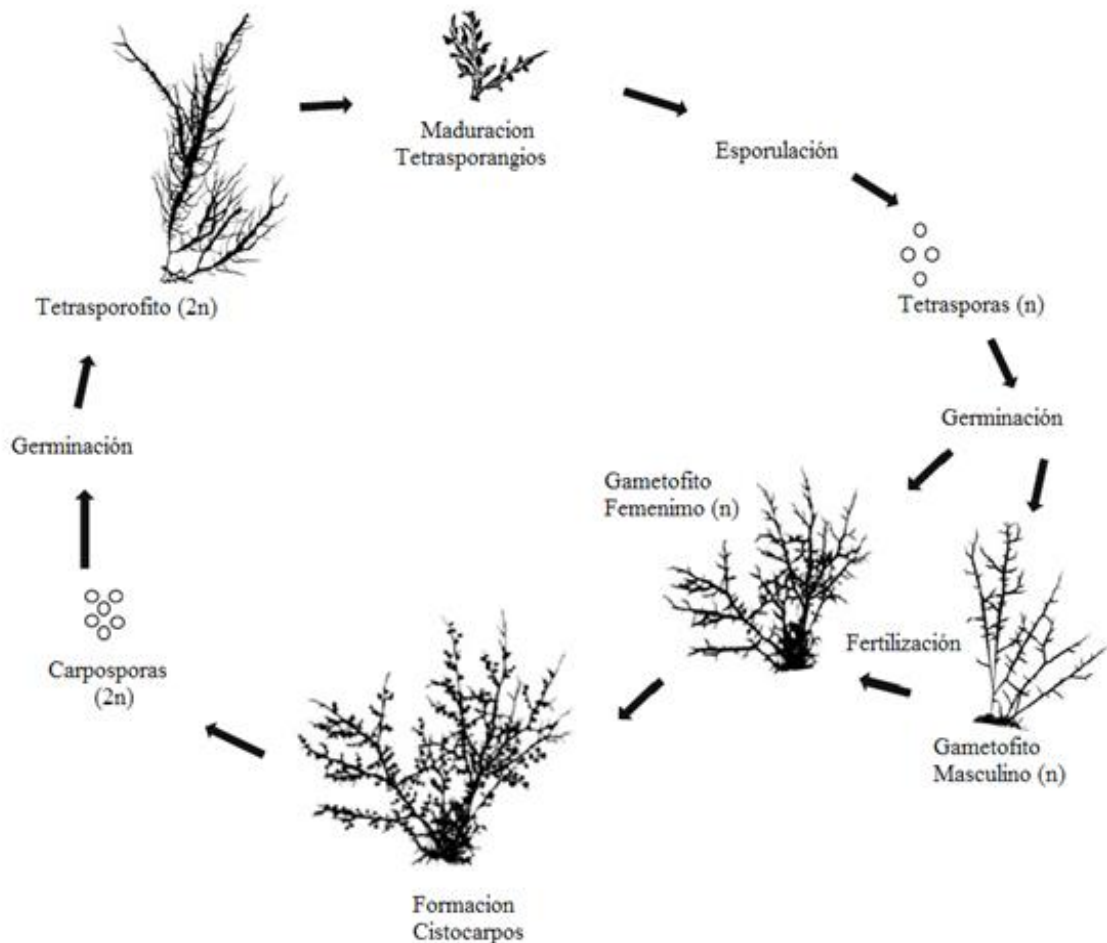
**Tabla 2.** Recopilación bibliográfica de condiciones de cultivo para *C. chamissoi*.

Condiciones de Cultivo		
Parametro	Valor	Fuente
Flujo de agua (L/min)	4	Paez, 2004
Rango de Temperatura(° C)	15-20	Avila et al., 2010
Densidad de cultivo (gr/m <sup>2</sup> )	512-1108	Romo et al, 2008
Salinidad (ppm)	25-33	Avila et al, 2009
pH	6,5-7,0	Avila et al, 2010
Iluminacion (umol photon/m <sup>2</sup> *s)	40-70	Paez, 2006
Medio de cultivo Provasoli	10 ml/L	Piel, 2013

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.7.4 Ciclo de vida de *C. chamissoi*

Al igual que otras especies de lugas rojas, *C. chamissoi* presenta un ciclo de vida trifásico. Sus fases (Fig. 2) son la Tetrasporofítica, la Gametofítica y la Carposporofítica. Los individuos de la fase Tetrasporofítica cuando están maduros presentan manchas oscuras redondeadas o elípticas, denominadas “Soros tetrasporangiales o tetrásporas. Cada soro produce miles de esporas llamadas tetrásporas, las que son liberadas al agua y dispersas por las corrientes marinas. Una vez fijada a los sustratos, ya sea roca o estructuras calcáreas, germinan formando un disco, el que luego genera pequeñas láminas gametofíticas. En la fase Gametofítica, los gametofitos crecen a partir de tetrásporas. Se producen dos tipos de gametofitos, los masculinos y femeninos, siendo las láminas masculinas de un color más claro comparado con las láminas femeninas, sus estructuras reproductivas no son visibles en esta etapa. La reproducción sexual se da entre estos gametofitos (Otaíza y Cáceres, 2015).



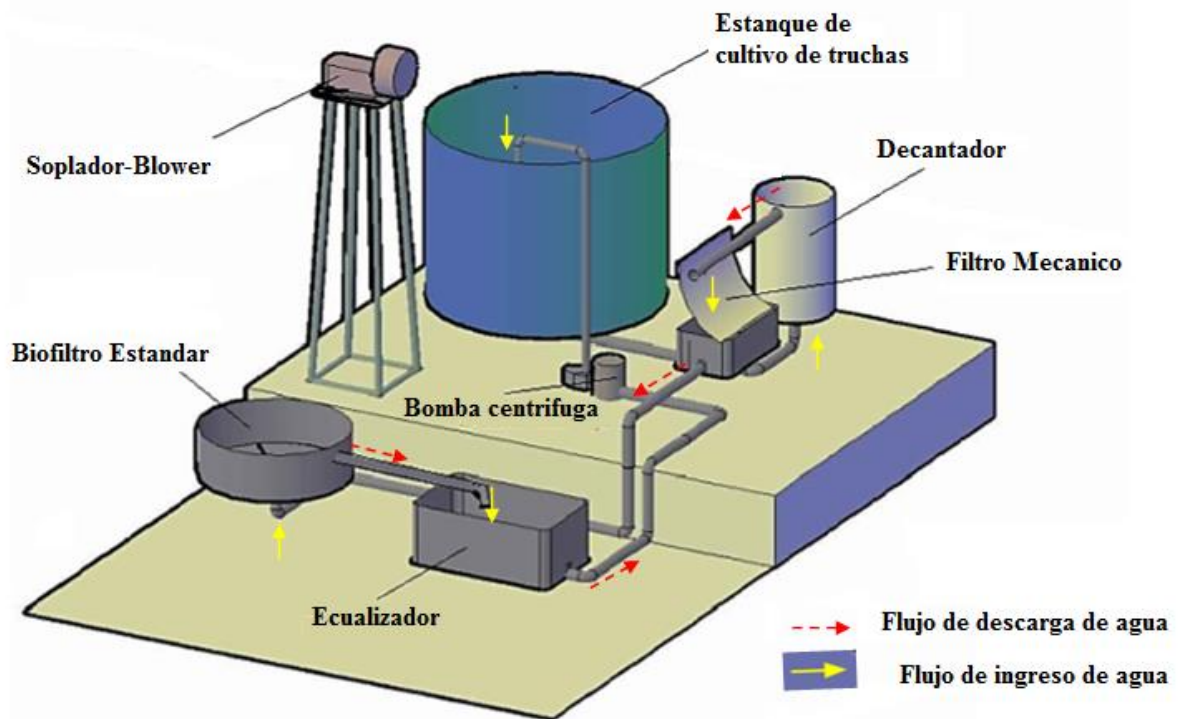
**Figura 2.** Ciclo de vida de la especie *Chondracanthus chamissoi* (Ávila et al., 2010).

#### IV. Metodología

Las pruebas fueron desarrolladas en el Laboratorio Húmedo de Ingeniería Acuícola (LHIA) de la Universidad Católica de la Santísima Concepción, durante los meses de Agosto y Julio del año 2016. El objetivo fue evaluar de forma experimental la integración del alga chicorea de mar (*C. chamissoi*) en un SRA de trucha arcoíris (*O. mykiss*). Para esto se determinó inicialmente el efecto de 3 densidades de biomasa *C. chamissoi* sobre la concentración de amonio disuelto  $\text{NH}_4^+$  presente en el agua residual del cultivo de *O. mykiss* con tecnología de recirculación de agua. En una primera prueba, se midió cada 6 horas la concentración de amonio hasta que la remoción de amonio se redujera en un 80 % respecto de la concentración inicial de  $\text{NH}_4^+$  presente en el efluente. Se replicó la experiencia 6 veces de donde se escogió la mejor densidad de *C. chamissoi* que mostrara la mayor remoción  $\text{NH}_4^+$ . En la segunda prueba se utilizó la densidad de cultivo que mostró una mejor tasa de remoción de  $\text{NH}_4^+$  en la primera prueba y se integró al cultivo de *O. mykiss* para determinar el crecimiento y remoción de  $\text{NH}_4^+$  que podría alcanzar *C. chamissoi* una vez siendo integrada al sistema SRA.

##### 4.1 Sistema SRA de *O. mykiss* para la recolección de efluente con $\text{NH}_4^+$

Para las pruebas se utilizó un SRA de *O. mykiss* que operaba en el laboratorio LHIA (Fig. 3). Estaba compuesto por un estanque de 2300 L fabricado en plástico laminado, un decantador de 150 L para partículas mayores a  $200\mu$ , un filtro mecánico de 70 L con tamiz de  $80\mu$ , un biofiltro estándar de 400 L, una bomba centrífuga de 1 HP y un compresor de aire Blower de 0,4 HP ( $55\text{L min}^{-1}$ ) conectado mediante mangueras de 4 mm a piedras difusoras de cuarzo de poro medio, para mantener la aireación y la mezcla del agua.

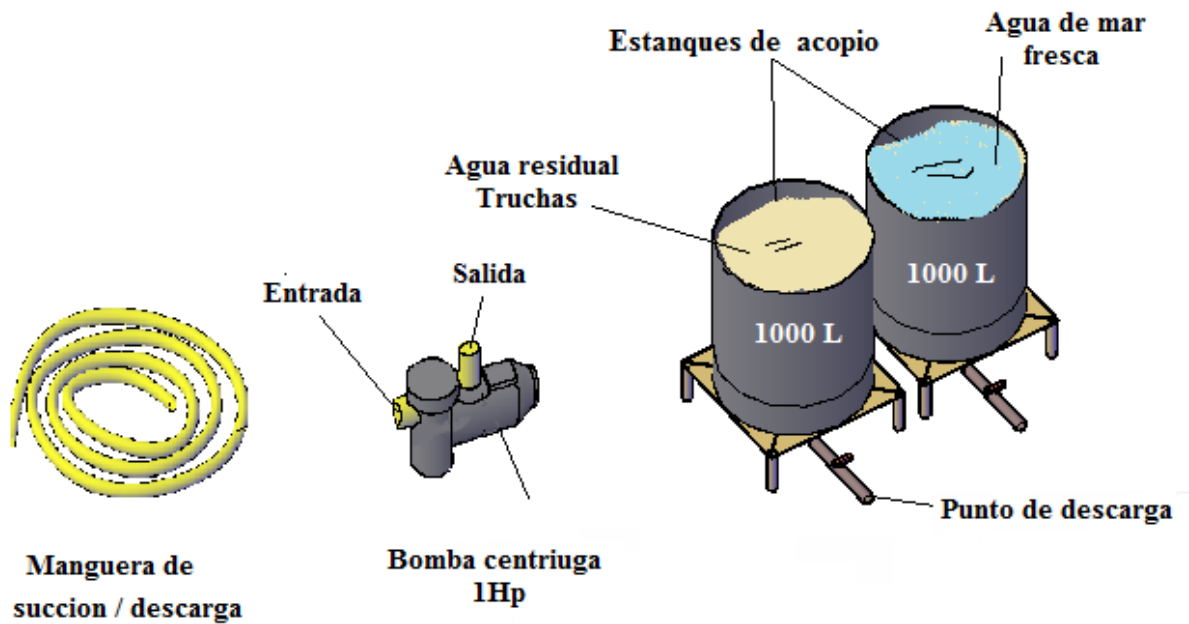


**Figura 3.** Esquema del sistema de recirculación acuícola de *O. mykiss*.

Previo al inicio de las pruebas, las truchas fueron paulatinamente aclimatadas y adaptadas a la salinidad durante 25 días, aumentando gradualmente de 0 a 27 ‰ la salinidad del sistema. Se utilizaron ejemplares adultos de *O. mykiss* de peso promedio  $400 \pm 36$  g, a una densidad de cultivo  $10 \text{ kg/m}^3$  durante las pruebas. Fueron alimentados con pellets para truchas EWOS VAN calibre 500, con 42% de proteína y 22% de lípidos, a un porcentaje peso cuerpo diario entre un 1,5-1,7 %. La calidad de agua fue mantenida según los parámetros de calidad de agua establecidos por Lawson (1995), Timmons *et al.* (2002) y Colt (2006).

En cuanto a la recolección del efluente, la operación realizada fue alimentar a los peces durante la mañana 9:00 horas, retirar el biofiltro del sistema y dejar funcionando normalmente el sistema por recirculación. De esta forma, sin la presencia del biofiltro, se aumentaba gradualmente el amonio  $\text{NH}_4^+$  generado en el sistema producto de la digestión de los peces. Se midió cada 2 horas la concentración de amonio en el sistema hasta que la concentración de amonio estuviera entre 1,2 y  $1,4 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{NH}_4^+$ . Una vez alcanzada la concentración deseada, se retiraban 1000 litros de agua del sistema con una bomba de 1 HP, se filtraba a  $10 \mu$  y se desinfectaba con luz ultravioleta UV-C. Luego se ingresó el agua

residual mediante una manguera corrugada al estanque de acopio correspondiente (Fig.4) para su utilización en las pruebas (previamente lavados y desinfectados con yodoformo líquido al 3%). El volumen de agua retirado del sistema se intercambiaba por agua fresca, se colocaba nuevamente el biofiltro y se dejaba operando normalmente el sistema con recirculación. El efluente almacenado era utilizado en la pruebas al siguiente día en que era recolectado. Este procedimiento se repitió cada vez que se recolectaba el efluente necesario para realizar las pruebas.



**Figura 4.** Componentes para el acopio de agua para las pruebas con *C. chamissoi*.

#### 4.2 Recolección, transporte, selección y aclimatación de ejemplares de *C. chamissoi*

Las algas utilizadas para los experimentos fueron recolectadas en la Bahía de Coliumo en el sector de Litril, una localidad ubicada a 39 kilómetros de la Provincia de Concepción y a 10 kilómetros de Tomé (- 37° 31.621'S; -72° 57.437'O). La recolección se realizó mediante extracción manual por Buceo Semiautónomo-Liviano.

Los ejemplares fueron transportados al laboratorio en una nevera Coleman con agua de la bahía y 5 kilos de *C. chamissoi*, con 2 gel pack en su interior para mantener baja la temperatura de transporte, cerrado herméticamente para evitar desecación y exposición a la luz.

La selección de ejemplares de *C. chamissoi* se realizó de forma manual para los experimentos, se escogieron todos aquellos juveniles que se encontraban en su fase vegetativa de textura lisa sin protuberancias ni puntos, siendo lavados con agua potable a presión con un tiempo de exposición de 5 minutos (Otaíza y Cáceres, 2015). Los ejemplares seleccionados fueron cortados a una longitud entre 5 y 7 cm con el fin de homogeneizar la población y permitir un mejor aprovechamiento de la luz solar.

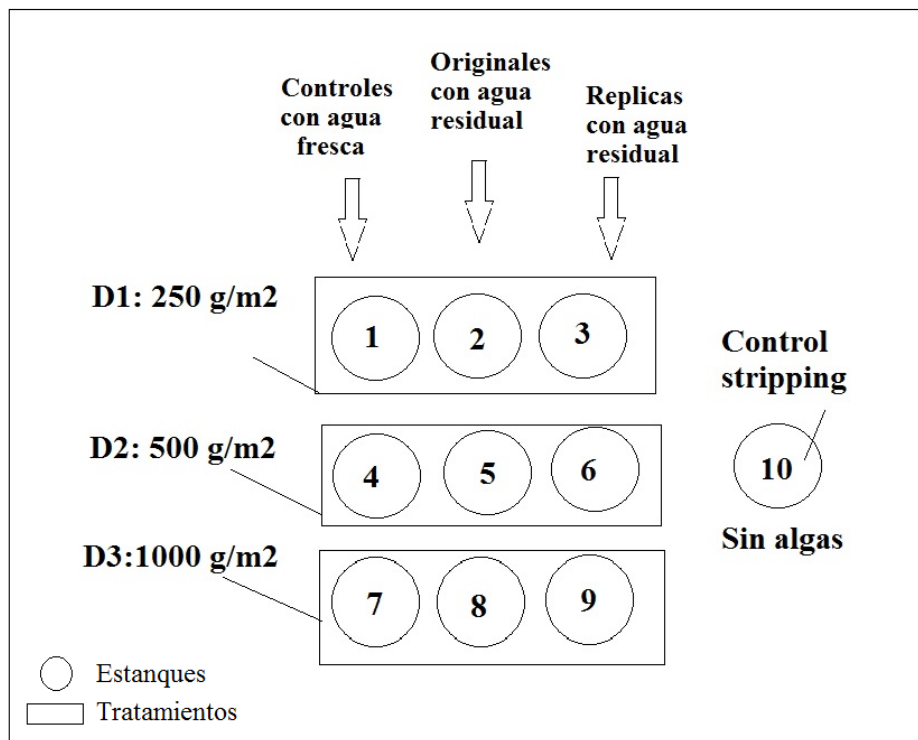
Una vez seleccionados los individuos y fragmentados, se procedió a dividir la biomasa total obtenida y de agregaron a los estanques de aclimatación (2,2 kg por estanque) (Fig. 5). Cada estanque de aclimatación contenía 250 L de agua residual del sistema SRA, filtrada a  $10\mu$  y desinfectada con luz ultravioleta UV-C. La salinidad mantenida fue de 28 ‰ y una concentración inicial de  $\text{NH}_4^+$  de  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Diariamente se midió la concentración de  $\text{NH}_4^+$  y se ajustó a una concentración diaria de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  mediante la adición de solución de cloruro de amonio. La biomasa utilizada durante las pruebas fue seleccionada de este stock aclimatado. Cada 7 días de aclimatación se realizó la mantención de los estanques y limpieza con agua potable de las algas con exposición no mayor a 5 minutos. Durante la mantención, se eliminaba el agua de los estanques de aclimatación, se lavaban y desinfectaban las unidades con yodoformo líquido al 3%, se lavaban con abundante agua potable. Se cargaba agua residual filtrada y desinfectada del SRA, se agregaban las algas nuevamente a las unidades de aclimatación y se ajustaba la concentración de amonio con cloruro de amonio.

La estimación de la irradiación lumínica ( $\text{W/m}^2$ ), fue registrada y estimada a partir de fuentes de datos entregadas por el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, en su página de medición en línea de la radiación ultravioleta de la ciudad de concepción (<http://ambiente.usach.cl/uv/conception.html>).

### 4.3 Ejecución Experimento 1

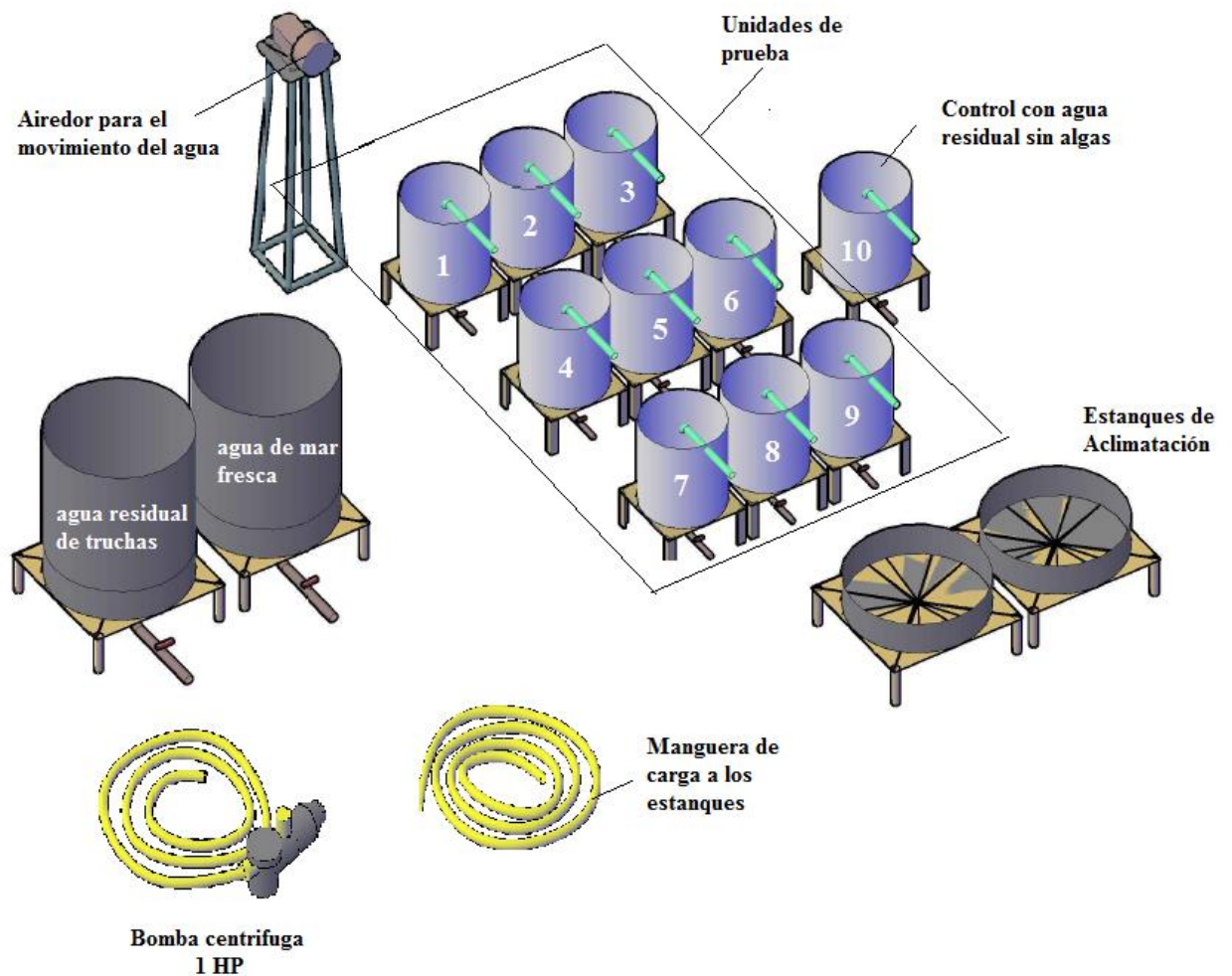
#### 4.3.1 Diseño experimental y configuración del experimento

En el primer experimento con *C. chamissoi* (Fig.5) se evaluaron 3 densidades de prueba D1 250 g/m<sup>2</sup>, D2 500 g/m<sup>2</sup> y D3 1000 g/m<sup>2</sup> (tratamientos), cada una con una unidad “control”, “original” y “réplica”. Adicionalmente por prueba se tenía un “control sin algas” para descartar que el sistema no fuera responsable de la pérdida de amonio o formación del mismo (efecto stripping), el que contenía efluente bajo las mismas condiciones de los otros estanques de prueba. Los estanques 1,4 y 7 correspondían a controles con algas y con agua fresca de mar (filtrada a 10 μ y desinfección UV-C), los estanques 2, 5 y 8 a originales con algas y agua residual del sistema SRA, y los estanques 3, 6 y 9 correspondían a réplicas también con algas y efluente del SRA. Durante 20 días se realizaron 6 pruebas en total, cada prueba duraba 42 horas, tiempo en alcanzar el 80% de remoción de amonio.



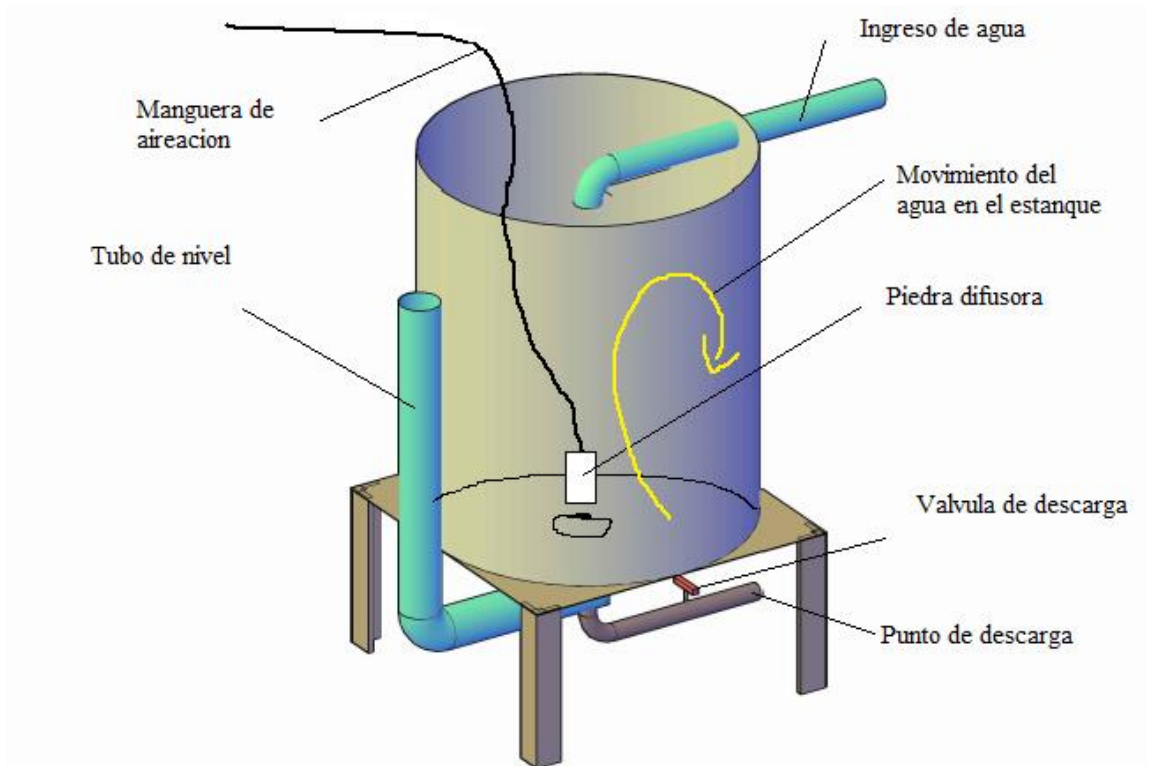
**Figura 5.** Esquema representativo del diseño experimental y configuración del sistema para el primer experimento con *C. chamissoi*.

El sistema de prueba utilizado para este experimento se muestra en la figura 6. Estaba compuesto por 10 estanques circulares de fibra de vidrio de 200 L con desagüe inferior, sin conexión entre ellos (sistema Batch), ubicados a 50 cm del suelo cubiertos a un 80% de sombra, con un flujo de aire constante de  $2,75 \text{ L min}^{-1}$  por cada estanque y un área de exposición individual de  $0,320 \text{ m}^2$ . Dos estanques de acopio de fibra de vidrio de 1000 L uno para recolección de efluente del sistema SRA y el otro para almacenamiento de agua fresca, dos estanques para la aclimatación de algas de 250 L y un soplador de 0,4 HP. El agua utilizada era distribuida de forma independiente desde los estanques de acopio donde se almacenaba el agua residual, hacia las unidades de prueba mediante una bomba centrífuga de 1 HP, la cual estaba conectada a una manguera para distribuir el agua correspondiente a cada



**Figura 6.** Diseño del sistema utilizado durante el primer experimento montado con *C. chamissoi*.

Cada unidad de cultivo (Fig. 7) recibía aire comprimido desde el soplador mediante un repartidor de aire de PVC (de ½ a 4mm), ingresando aire a los estanques a razón de 2,75 L min<sup>-1</sup>. La piedra difusora de cuarzo de poro medio (7 x 4 x 3,5 cm) se ubicó en el fondo del estanque para generar la mezcla del agua en el estanque mediante burbujeo, permitiendo el contacto de los nutrientes con la superficie de las algas.



**Figura 7.** Diseño interior y componentes de las unidades de cultivo de *C. chamissoi* del primer experimento.

#### 4.3.2 Procedimiento operativo

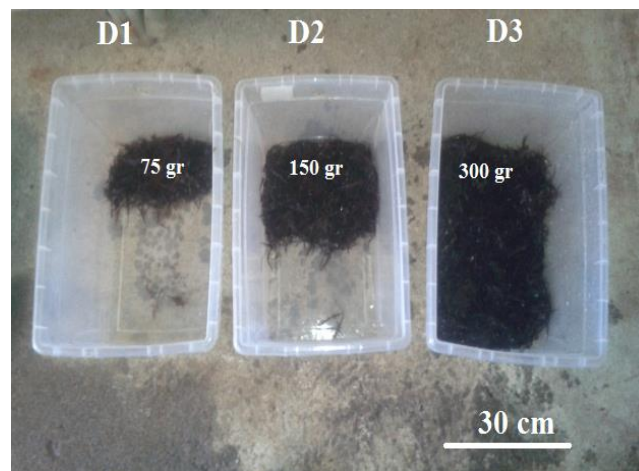
Al inicio de cada prueba, las unidades de cultivo de *C. chamissoi* se lavaron completamente y se desinfectaron con yodoformo líquido al 3% y se enjuagaban con abundante agua potable, al igual que todos los materiales e infraestructura utilizados durante las pruebas.

A continuación, en un estanque graduado de 1000 L, se agregaban 329 L de agua a 34 % de salinidad (filtrada a 80 µ y desinfectada con luz ultravioleta UV-C) más 71 L de agua potable declorada con una solución de 0,71 ml sulfito de sodio (concentración 54 gL<sup>-1</sup>). En total se preparaban 400 L de agua fresca a 28 % de salinidad, los volúmenes de

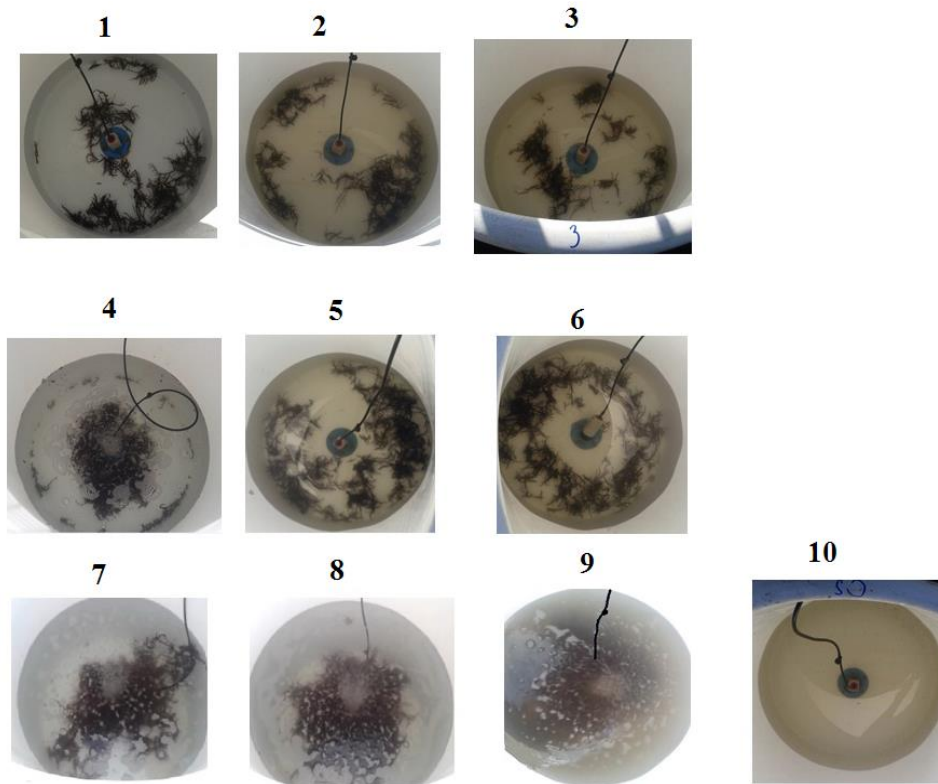
mezcla se determinaron mediante la fórmula de dilución:  $V1 \times C1 = V2 \times C2$ , dónde: V1= volumen inicial en Litros; C1= concentración inicial ppm; V2=volumen final Litros; C2=concentración final para la mezcla de agua requerida. El agua preparada se transfirió mediante una bomba centrífuga de 1HP al estanque de PVC de acopio de agua fresca.

Una vez preparada el agua fresca y recolectado el efluente, mediante una bomba sumergible de 0,03 HP unida a una manguera de goma de 25 mm, se cargó con 50 L desde el estanque de acopio de agua fresca cada una de las unidades de cultivo de control (1, 4 y 7). Luego, se cambia la bomba al estanque de acopio de agua residual y se cargan con 50 L cada uno de los estanques original (2, 5 y 8), réplicas (3,6 y 9) y la unidad 10 stripping.

Teniendo preparado el Batch con el tipo de agua correspondiente, se retiraban las algas de los estanques de aclimatación mediante una quecha. Luego se lavaban con agua potable a presión moderada, se drenaban en un colador durante 20 minutos y se pesaban en una balanza Shimadzu con  $\pm 0,01$  g de error. Las biomazas eran separadas e identificadas en bandejas plásticas transparentes con agua de mar (Fig.8), las que se apartaban a la sombra para luego ser redistribuidas de acuerdo a las condiciones del experimento y unidades de cultivo correspondientes (Fig.9).



**Figura 8.** Algas separadas, lavadas y listas para ingresar en los estanques de prueba.



**Figura 9.** Unidades de cultivo con *C. chamissoi* listas para iniciar la primera experiencia.

Una vez cargados los sistemas a las 14:45 pm se daba paso al aire y se esperaban 5 minutos para tomar la primera muestra de agua a las 15:00 pm dando inicio a la prueba. Cada 6 horas se tomaron 100 ml de muestra de cada unidad de cultivo de prueba, se midieron las variables de calidad de agua indicadas en la Tabla 3. Cuando la concentración de amonio registrado correspondía a un valor del 80% de reducción respecto de la concentración inicial ( $0,24 - 0,28 \text{ mgL}^{-1}$ ), se daba por finalizado la prueba.

**Tabla 3.** Variables de calidad de agua registradas en el Experimento 1 con *C. chamissoi*.

Variable	Abreviación	Unidades	Equipo	Frecuencia de medicion
Amonio	$\text{NH}_4^+$	mg/L	Fotometro HI 83200	Cada 6 horas
Peachep	pH	Adimensional	Tester HI 98126	Cada 6 horas
Temperatura	T°	° Celsius	Tester HI 98127	Cada 6 horas
Salinidad	S%	ppm	Refractómetro HI 96822	1 vez x prueba

**Fuente:** Elaboración propia.

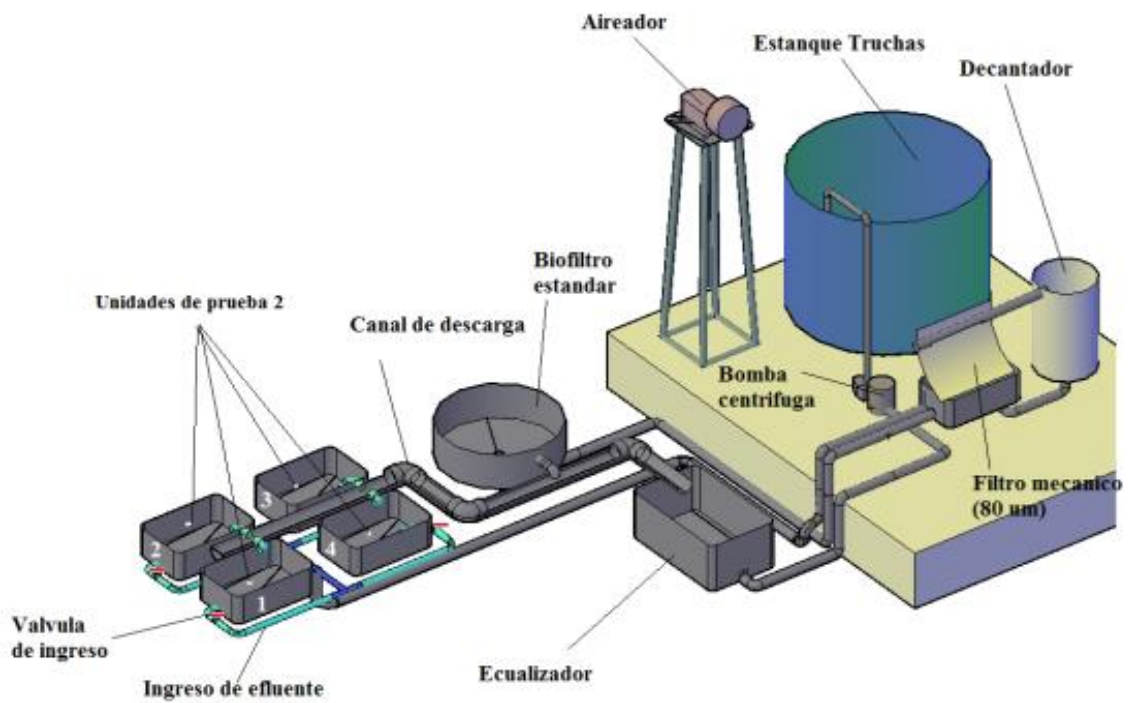
Finalizada la prueba, se interrumpía el suministro de aire, se extraían las algas y se eliminaba el agua de las unidades. Las algas se depositaron en bandejas plásticas previamente desinfectadas con yodoformo líquido al 3% e identificadas según la numeración de los estanques de origen. Se lavaron con abundante agua potable, se drenaron en un colador durante 10 minutos, se ajustó la biomasa si era necesario y se dejaron listas para continuar con la experiencia. Las unidades de cultivo de *C. chamissoi* se lavaron y desinfectaron con yodoformo líquido al 3% y se dejaron operativas para continuar. Así, de esta forma, se repitió el mismo procedimiento para realizar esta prueba durante 6 veces (réplicas).

## **4.4 Ejecución Experimento 2**

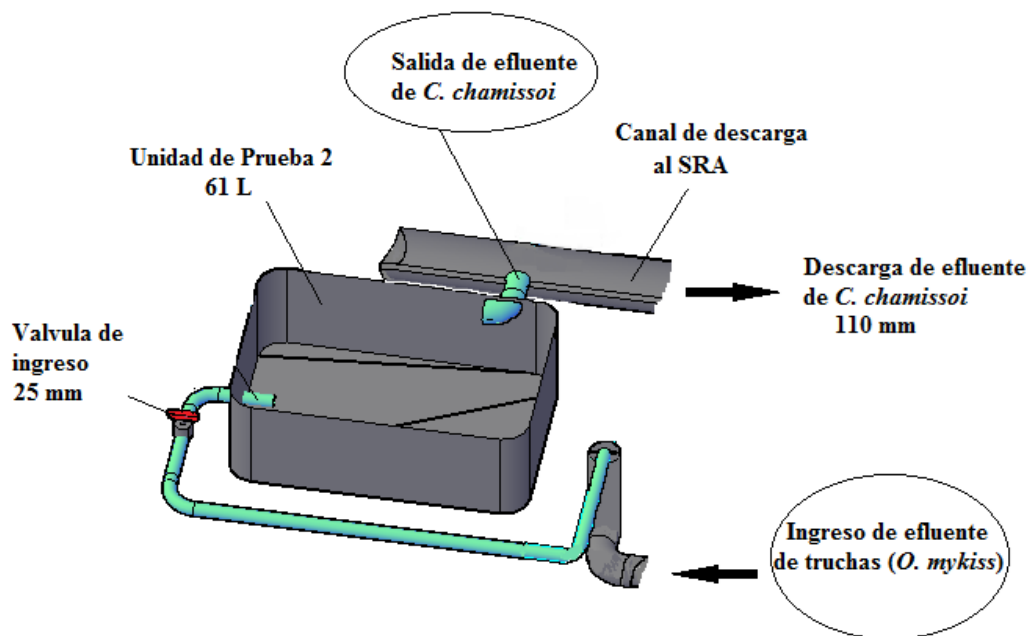
### **4.4.1 Diseño experimental y configuración del experimento**

Para determinar el crecimiento y remoción de  $\text{NH}_4^+$  que podía alcanzar *C. chamissoi* una vez integrada al SRA se utilizaron 4 estanques de polietileno transparente (unidades de prueba), una original (Estanque 1), dos réplicas estanque 2 y estanque 3 y una unidad control sin algas estanque 4 (Fig.10). Los estanques estaban conectados de forma independiente al SRA (sin conexión entre estanques). Cada estanque estaba ubicado a 50 cm del suelo, tenían una capacidad de 61 litros, una exposición a la luz de  $0,24 \text{ m}^2$  y estaban cubiertos con malla raschell (80% de sombra) ubicada a 50 cm del espejo de agua de los estanques.

La conexión de las unidades de prueba con el SRA fue mediante una tubería de 50 mm que estaba acoplada a un estanque ecualizador que recibía el agua de las truchas luego de pasar por el filtro mecánico. El agua residual filtrada (filtro tamiz 80 micras) era repartida mediante una reducción de PVC de 50 a 25 mm conectada a 4 salidas de PVC de 25 mm que ingresaban el agua a los estanques a razón de  $1,76 \text{ Lmin}^{-1}$  y con un recambio de agua de 2,1 veces por hora. La descarga de agua de las unidades de prueba de *C. chamissoi* era recolectada en un canal de PVC (110 mm de diámetro) que dirigía el flujo recolectado al ecualizador del SRA (Fig. 11). La carga y descarga de agua de las unidades de *C. chamissoi* funcionaba mediante gravedad, mientras que el flujo de agua recolectado en el ecualizador era devuelto al estanque de *O. mykiss* mediante una bomba centrífuga de 1 HP, la que permitía el movimiento y mezcla de agua.



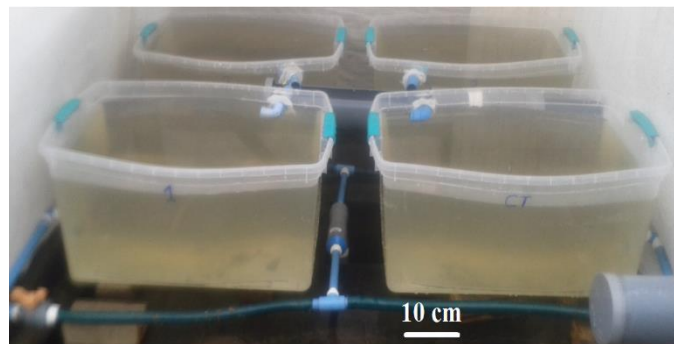
**Figura 10.** Diseño del sistema utilizado durante el segundo experimento con *C. chamissoi* conectado al SRA.



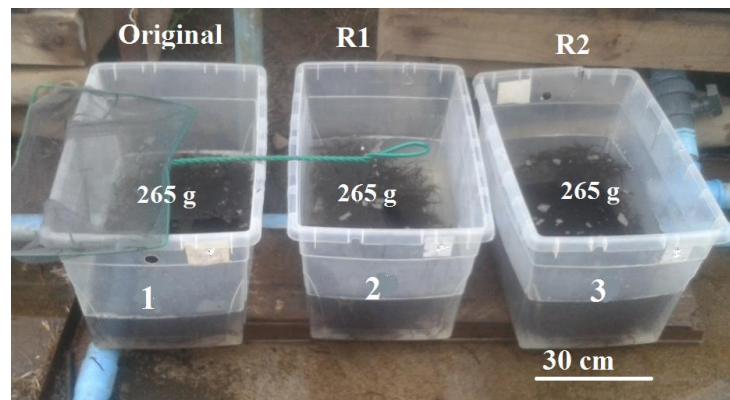
**Figura 11.** Esquema de las componentes de las una unidad de cultivo de la segunda experiencia con *C. chamissoi*.

#### 4.4.2 Procedimiento operativo

Como las algas del experimento 1 fueron cultivadas a distintas densidades sus reservas de nutrientes quedaron bajo distintas condiciones por lo cual para el experimento 2 se realizó una segunda recolección de algas con aclimatación durante 2 semanas. Cumplida la aclimatación bajo las mismas condiciones del experimento 1, se cargaron 51 litros de efluente residual de truchas a partir del estanque de acopio (previamente tamizado a  $80\ \mu$  para retener los residuos) en los estanques del sistema de prueba 2 (Fig.12) con sus respectivas biomazas ya separadas y seleccionadas (Fig. 13).



**Figura 12.** Sistema de cultivo con recirculación de *C. chamissoi*, Experimento 2



**Figura 13.** Biomasa de *C. chamissoi* para el experimento 2, R1 réplica 1, R2 réplica 2.

Luego de ingresar las algas a los estanques correspondientes, se abrió la válvula de ingreso de agua al sistema y se esperaron 20 minutos para verificar que el sistema se encontrara equilibrado y sin pérdidas de agua. Realizado esto, se procedió a tomar la primera muestra de agua (10:30 am) y controlar las variables de calidad de agua. Cada 7 días se registraban las

variables de calidad de agua en cada estanque en el punto de ingreso y salida de los estanques y se realizó el muestreo de *C. chamissoi*. El procedimiento utilizado fue retirar la biomasa de algas de cada unidad de cultivo y colocarlas en recipientes plásticos rotulados con la identificación del estanque de procedencia. Se lavaron con abundante agua potable, se dejó drenar la biomasa de cada estanque en coladores individuales durante 10 minutos, se registró su biomasa y se ingresó nuevamente la biomasa al estanque de procedencia. La biomasa sobrante o faltante fue agregada o ajustada con la biomasa de algas mantenidas en los estanques de aclimatación.

Las operaciones de limpieza y cambio de agua del sistema se realizaron según los requerimientos de calidad de agua, la que fue mantenida según los parámetros de calidad de agua establecidos por Lawson (1995), Timmons *et al.* (2002) y Colt (2006). Durante el experimento se utilizaron ejemplares adultos de *O. mykiss* de peso promedio  $436 \pm 48$  g, con una densidad de cultivo de  $15 \text{ kg/m}^3$  durante la experiencia. Los peces fueron alimentados diariamente con pellets para truchas EWOS VAN calibre 500, con 42% de proteína y 22% de lípidos, a un porcentaje peso cuerpo diario de 1,5% PC.

#### 4.5 Determinación de la tasa de crecimiento y remoción de $\text{NH}_4^+$

Para la experiencia 1, con el sistema de cultivo tipo Batch, las tasas de remoción se determinaron directamente de la reducción de amonio en el tiempo, utilizando la ecuación adaptada de Jagadeesan *et al.* (2010):

$$\text{TRA} = \frac{(C_i - C_f)}{V_e \times T_c}$$

Donde TRA es la tasa de remoción de amonio en  $\text{gm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ ,  $C_f$  es la concentración de amonio final en  $\text{mgL}^{-1}$ ,  $C_i$  es la concentración de amonio inicial en  $\text{mgL}^{-1}$ ,  $V_e$  es el volumen de agua en el estanque en L,  $A_{\text{exp}}$  es el área superior expuesta en  $\text{m}^2$  y  $T_c$  es el tiempo de cultivo en horas entre  $C_f$  y  $C_i$ . Para efectos de comparación con otros autores se expresó en g de  $\text{NH}_4$   $\text{m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ .

Para la Prueba 2, con el sistema de cultivo continuo, las tasas de remoción se determinaron utilizando la ecuación:

$$\text{TRA} = \frac{Q_r \times (C_i - C_f)}{A_{\text{exp}}} \times 1.44$$

Dónde: TRA es la tasa de remoción de amonio en  $\text{gm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ ,  $Q_r$  es el caudal de recirculación en  $\text{Lmin}^{-1}$ ,  $C_i$  es la concentración de entrada de amonio en  $\text{mgL}^{-1}$ ,  $C_f$  es la concentración de salida de amonio en  $\text{mgL}^{-1}$  y 1,44 es la constante para transformar las unidades.

Basándose en los estudios de Abreu *et al.* (2011), el crecimiento de *C. chamissoi* se determinó mediante el monitoreo de los pesos frescos iniciales durante 28 días, tomando registros semanales. Bajo este criterio, la tasa de crecimiento específico de *C. chamissoi* en las bandejas de cultivo se determinó utilizando la ecuación:

$$\text{SGR} \left( \frac{\%}{\text{día}} \right) = \frac{(\text{LN}(P_f) - \text{LN}(P_i)) \times 100}{T}$$

Dónde:  $P_f$  es el peso fresco final en g;  $P_i$  es el peso fresco inicial en g y T corresponde a los días en cultivo.

La remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  expresada como % se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \left( \frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \times 100$$

Dónde %R es el porcentaje de remoción,  $C_f$  es la concentración de amonio final en  $\text{mgL}^{-1}$  y  $C_i$  es la concentración de amonio inicial en  $\text{mgL}^{-1}$ .

#### 4.6 Análisis estadístico de los resultados

El aumento de la densidad de biomasa en  $\text{kgm}^{-2}$  de *C. chamissoi* cuando se cultiva en agua residual de trucha arcoíris, aumentaría su tasa de remoción en forma directa. Bajo este criterio, se plantearon las siguientes hipótesis:

- H0: Las tasas de remoción de amonio promedio obtenido con *C. chamissoi* siendo cultivada en agua residual del cultivo *O. mykiss* a una densidad de:  $250 \text{ gm}^{-2}$ ,  $500 \text{ gm}^{-2}$  y  $1000 \text{ gm}^{-2}$ , no difieren significativamente.
- H1: La tasa de remoción de amonio promedio obtenida con *C. chamissoi* siendo cultivada en agua residual del cultivo de *O. mykiss* difiere significativamente en al menos una densidad de biomasa.

#### **4.6.1 Pruebas estadísticas**

Antes de analizar los datos obtenidos a partir de los muestreos realizados, se verificaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad mediante los estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente. Para contrastar la hipótesis planteada se realizó un ANOVA de un factor para comparar la tasa de remoción obtenida con *C. chamissoi* bajo distintas densidades de biomasa. Para identificar cual o cuales de las tasas eran diferentes de acuerdo a la densidad de biomasa probada se utilizó el test de tukey's. Todo esto mediante el uso del software SPSS v19. En el caso donde los datos no siguieron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de K-W (Kruskall-Wallis) para establecer diferencias significativas a un nivel de significancia de 0,05 entre las tasas de remoción promedio.

Para establecer la relación entre la densidad de cultivo de *C. chamissoi* y su tasa de remoción de amonio se utilizó el coeficiente de correlación lineal de Karl-Pearson.

## V. Resultados

### 5.1 Resultados experiencia 1

Los resultados obtenidos a partir de las pruebas realizadas con el sistema de cultivo tipo Batch al aire libre en tierra con *C. chamissoi*, se describen a continuación.

#### 5.1.1 Condiciones de cultivo

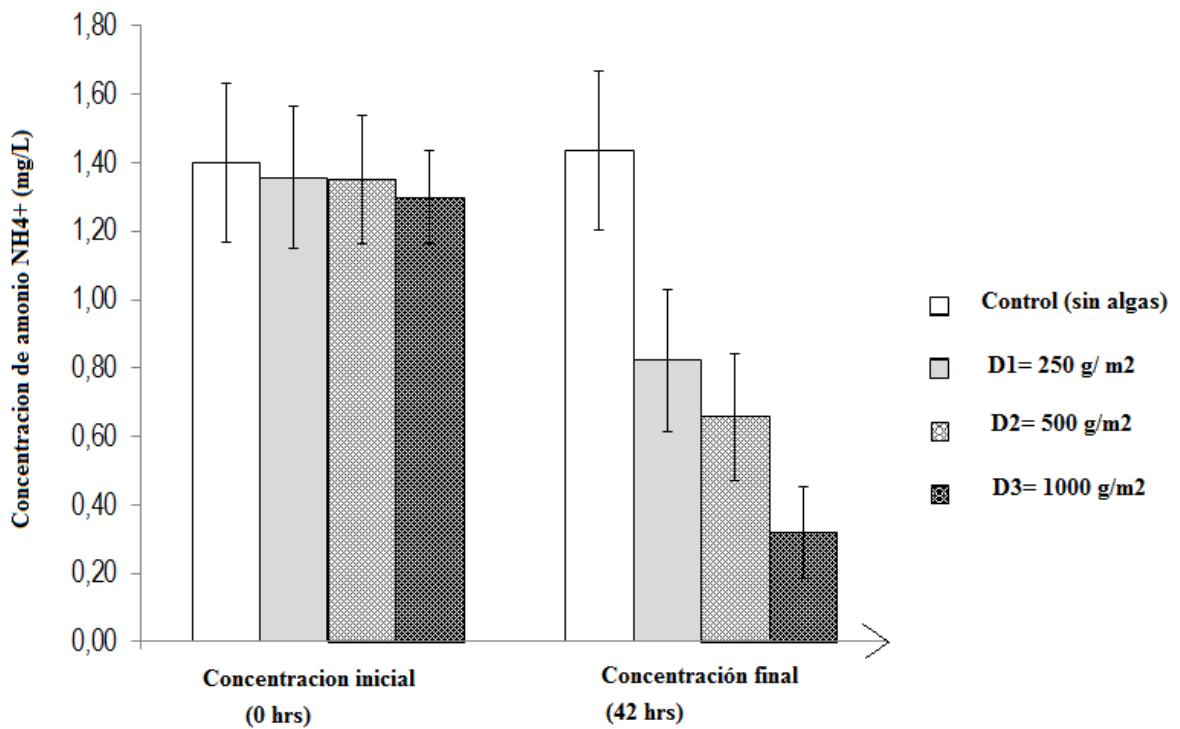
Durante la experiencia, la temperatura del agua en los estanques fue de  $12,1 \pm 0,42$  ° C, el pH de  $7,45 \pm 0,13$  y la salinidad de  $27 \pm 1\%$  (Tabla 4). Al analizar los valores promedio de pH, T° y S‰ entre tratamientos (D1, D2 y D3), no se observaron diferencias significativas (K-W:  $p\text{-valor}=0,437$ ;  $p\text{-valor}=0,437$  y  $p\text{-valor}=1,000$ ), lo que indica que los estanques en donde se encontraban las algas se mantuvieron bajo las mismas condiciones de calidad de agua cultivadas.

#### 5.1.2 Efecto sobre la concentración

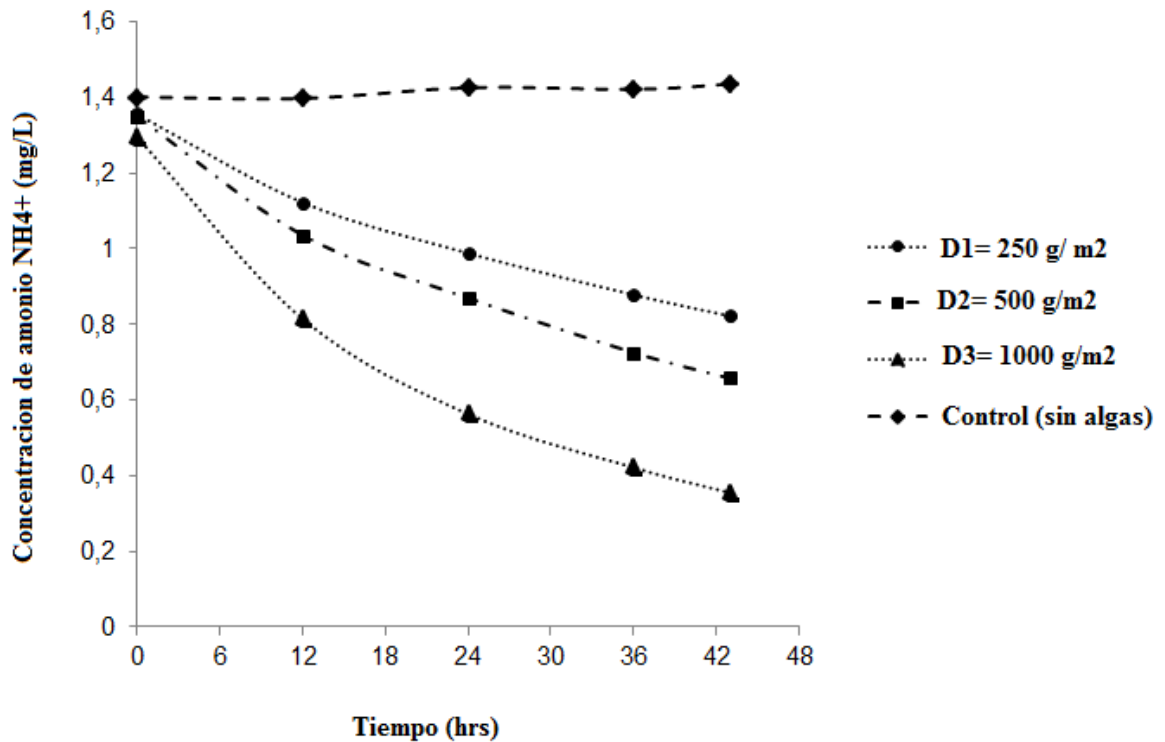
Al analizar la concentración final promedio de amonio por tratamiento de densidad (D1, D2 y D3), se observó una reducción en la concentración de amonio en un 39,4, 51,3 y un 75,6 % respectivamente. En la unidad de “Control” sin algas, la concentración de amonio se mantuvo durante las pruebas de remoción con pequeñas variaciones que se pueden deber al error típico de medición del amonio por el fotómetro utilizado de  $\pm 0,01$  mgL<sup>-1</sup> para la variable NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Este resultado indica que el efecto de disminución en la concentración de amonio disuelto observada en la prueba, estaba mediada por las algas y no por el sistema de cultivo utilizado (efecto stripping). Las disminuciones observadas mostraron diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA,  $p=0,000$ ), siendo D3 la densidad de cultivo con la que disminuyó mayormente la concentración de amonio comparado con D1 y D2 (Fig. 14 y 15).

**Tabla 4.** Condiciones de cultivo obtenidas durante la experiencia 1 en sistema Batch con *C. chamissoi*.

Parámetros	Tratamiento	D1: 250 g m <sup>-2</sup>			D2: 500 g m <sup>-2</sup>			D3: 1000 g m <sup>-2</sup>			Sin Algas	
	Unidad de prueba	Control	Original	Replica	Control	Original	Replica	Control	Original	Replica	Control	
	N° de estanque	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
	Fuente de amonio NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Agua de mar	Efl. Truchas	Efl. Truchas	Agua de mar	Efl. Truchas	Efl. Truchas	Agua de mar	Efl. Truchas	Efl. Truchas	Efl. Truchas	
	Biomasa de <i>C. chamissoi</i> (gr)	75	75	75	150	150	150	300	300	300	0	
	Area expuesta a la luz (m <sup>2</sup> )	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	
	Volumen de agua (L)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	Flujo de aire (L min <sup>-1</sup> )	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	
	Salinidad	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 1	
	pH promedio	7,5 ± 0,19	7,4 ± 0,20	7,4 ± 0,17	7,6 ± 0,11	7,4 ± 0,12	7,3 ± 0,14	7,6 ± 0,14	7,4 ± 0,15	7,4 ± 0,15	7,4 ± 0,28	
	T° promedio (°C)	12,4 ± 2,74	12,5 ± 2,74	11,7 ± 3,75	12,4 ± 3,4	12,1 ± 3,0	12,0 ± 2,9	11,0 ± 3,5	12,3 ± 2,8	12,1 ± 2,7	12,3 ± 2,6	
	Concentración de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> ) a las 0 hrs	0,10 ± 0,03	1,36 ± 0,20	1,36 ± 0,24	0,10 ± 0,04	1,35 ± 0,22	1,35 ± 0,18	0,09 ± 0,07	1,30 ± 0,28	1,30 ± 0,26	1,40 ± 0,20	
	Concentración de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> ) a las 12 hrs	0,08 ± 0,03	1,19 ± 0,18	1,15 ± 0,24	0,09 ± 0,03	1,01 ± 0,24	1,06 ± 0,18	0,08 ± 0,04	0,86 ± 0,27	0,82 ± 0,22	1,40 ± 0,21	
	Remoción acumulada de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%) a las 42 hrs	0	39,42 ± 7,74			0	51,99 ± 15,21			0	72, 53 ± 11,21	0
	Tasa de Remoción de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g m <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> )	0	0,077 ± 0,009			0	0,104 ± 0,006			0	0,153 ± 0,008	0



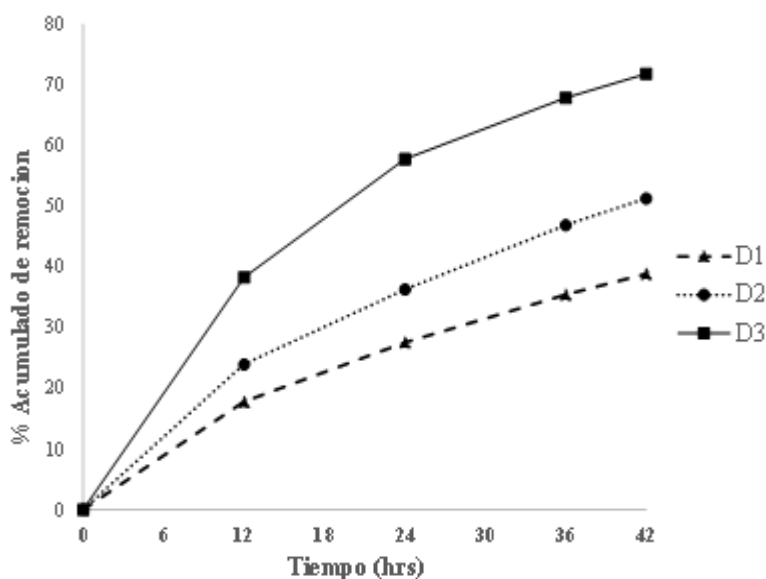
**Figura 14.** Efecto de remoción de amonio de *C. chamissoi* a las 42 horas de cultivo en el sistema Batch probado con los los tratamientos: Control =sin algas, D1=250 g m<sup>-2</sup>, D2=500 g m<sup>-2</sup> y D3=1000 g m<sup>-2</sup>.



**Figura 15.** Evolución de las concentraciones promedio de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg L<sup>-1</sup>) registradas durante las pruebas realizadas en el Experimento 1 con *C. chamissoi* para los tratamientos D1, D2, D3 y Control sin algas.

### 5.1.3 Porcentaje de remoción Acumulada

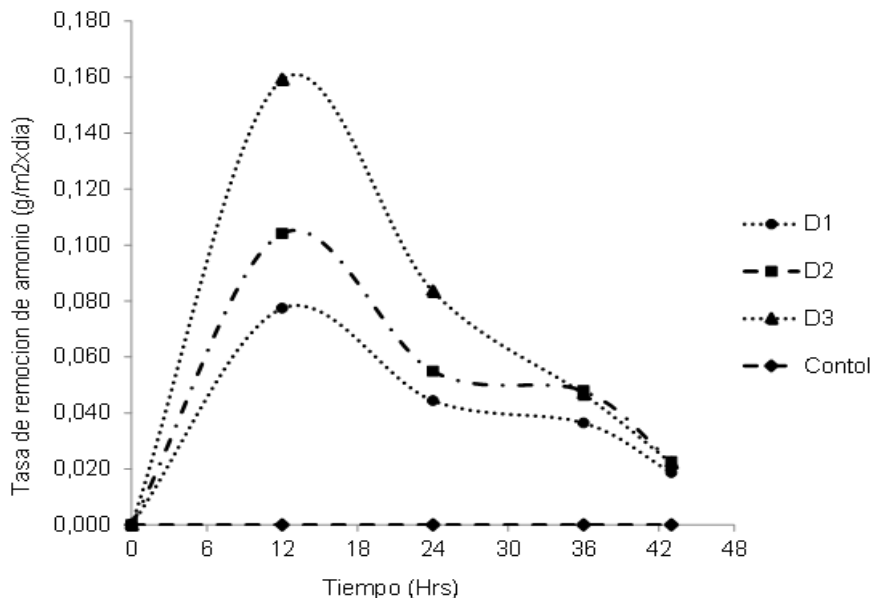
A las 42 horas de cultivo, la remoción acumulada fue de 39,42 % para D1, un 51,99 % para D2 y un 72,53 % para D3. Siendo D3 la densidad que muestra un mayor porcentaje de remoción en menor tiempo comparado con D1 y D2 (Fig. 16).



**Figura 16.** Porcentaje de remoción acumulada, Prueba 1 con *C. chamissoi*. D1=250 gm<sup>-2</sup>, D2=500 gm<sup>-2</sup>, D3=1000 gm<sup>-2</sup>.

### 5.1.4 Tasa de remoción de amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

En la Figura 17 se puede observar que entre las 0 y 12 horas de cultivo, las tasas de remoción de amonio en las tres densidades de cultivo de *C. chamissoi* probadas en esta experiencia, mostraron un comportamiento lineal. A las 12 horas de cultivo se alcanzaron las máximas tasas de remoción de amonio de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de 0,077± 0,013; 0,104 ± 0,009 y 0,153 ± 0,006 g m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> en las densidades de D1, D2 y D3 respectivamente. De las 12 horas de cultivo en adelante, las tasas mostraron una tendencia decreciente. En la unidad control sin algas no hubo remoción lo que indica que la remoción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> durante las pruebas fue mediada por las algas *C. chamissoi*.



**Figura 17.** Tasa de Remoción de Amonio por *C. chamissoi* obtenidos en la Prueba 1.

La densidad de cultivo de *C. chamissoi* D3, muestra una mayor tasa de remoción de amonio respecto de D1 y D2, mientras que no existió diferencia significativa en la tasa de remoción promedio utilizando las densidades D1 y D2 (Tukey,  $P=0.090$ ). Esto indica que un eventual aumento de la densidad de cultivo de *C. chamissoi* de 250 a 500 g m<sup>-2</sup> no tendría un efecto significativo en la remoción de amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en el agua residual de *O. mykiss*, pero sí un aumento en la densidad de cultivo de 250 a 1000 g m<sup>-2</sup>.

La tasa de remoción de amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en la primera experiencia estuvo directamente relacionada con la densidad de cultivo ( $r = 0,525$ ;  $P= 0,001$ ), lo que indica en este caso que con una mayor densidad de cultivo de *C. chamissoi* se obtiene una mayor tasa de remoción de amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Mientras que no existió correlación significativa con las demás variables (temperatura, salinidad y pH) consideradas durante las pruebas ( $P > 0,05$ ).

## 5.2 Resultados experiencia 2

Los resultados obtenidos a partir de las pruebas realizadas con el sistema de cultivo integrado con *C. chamissoi* y *O. mykiss* utilizado durante esta experiencia se describen a continuación. La irradiación diurna durante la experiencia varió entre 105,5 y 150,6 uMol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (considerando un 80% de sombra). La temperatura del agua de los estanques varió entre los 12,06 y 12,89 ° Celsius, la mayoría de los días estuvieron nublados y con lluvia. La salinidad del agua de los estanques disminuyó de 27 a 20 ‰ producto de las lluvias, ya que los estanques estuvieron cubiertos sólo con malla raschell. El pH varió ligeramente entre 6,34 y 6,82 unidades. La concentración de amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en la salida del estanque sin algas no mostró variaciones con respecto a la entrada, lo que significa que en esa unidad no hubo remoción de amonio, mientras que la concentración de amonio en las salidas de agua de las unidades con algas *C. chamissoi* fueron entre un 1 y 3 % menor respecto a la concentración de amonio de entrada. En las Tablas 5 y 6 se muestran los parámetros de calidad de agua al comienzo y al final de la experiencia (a los 0 y 28 días).

**Tabla 5.** Parámetros de calidad de agua en el sistema de prueba 2 con *C. chamissoi* al comienzo de la experiencia (Media= Promedio y DS= desviación estándar)

	Parametros	Entrada a los estanques		Salida de estanques con <i>C. chamissoi</i>		Salida de estanque Control sin Algas	
		Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS
0 Dias	Temperatura (° C)	12,4 - 12,4	12,4 ± 0,01	12,2 - 12,5	12,3 ± 0,15	12,3 - 12,3	12,30 ± 0,01
	PH	6,4 - 6,4	6,4 ± 0,01	6,4 - 6,5	6,4 ± 0,02	6,4 - 6,4	6,43 ± 0,01
	Salinidad (‰)	26,9 - 27,1	27 ± 0,1	27,0 - 27,0	27,0 ± 0	27,1 - 26,9	27,0 ± 0,1
	Amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	1,82 - 1,84	1,83 ± 0,01	1,81 - 1,84	1,83 ± 0,01	1,84 - 1,82	1,83 ± 0,01

**Fuente:** Elaboración propia.

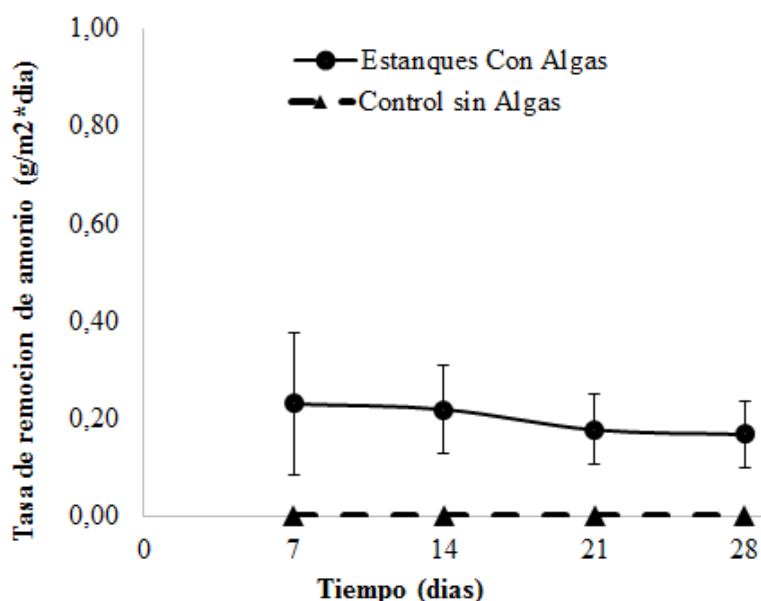
**Tabla 6.** Parámetros de calidad de agua en el sistema de prueba 2 con *C. chamissoi* al término de la experiencia (Media=promedio y DS= desviación estándar)

	Parametros	Entrada a los estanques		Salida de estanques con <i>C. chamissoi</i>		Salida de estanque Control sin Algas	
		Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS
28 Dias	Temperatura (° C)	11,8 - 11,8	11,8 ± 0,01	11,7 - 11,9	11,8 ± 0,06	11,8 - 11,8	11,8 ± 0,0
	PH	6,7 - 6,7	6,7 ± 0,01	6,6 - 6,7	6,6 ± 0,05	6,6 - 6,6	6,6 ± 0,01
	Salinidad (‰)	20 - 20	20 ± 0	20 - 20	20 ± 0	20 - 20	20 ± 0
	Amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	0,83 - 0,85	0,84 ± 0,01	0,80 - 0,82	0,81 ± 0,01	0,83 - 0,85	0,84 ± 0,01

**Fuente:** Elaboración propia.

### 5.2.1 Tasa de Remoción de amonio $\text{NH}_4^+$

La tasa de remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  promedio que alcanzó *C. chamissoi* siendo cultivada en el sistema de la segunda experiencia mediante su integración al sistema de cultivo SRA de *O. mykiss* con tecnología de recirculación, fue de  $0,20 \pm 0,03 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ . La Figura 18, muestra la tasa de remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  de *C. chamissoi* en el sistema de prueba de la segunda experiencia.

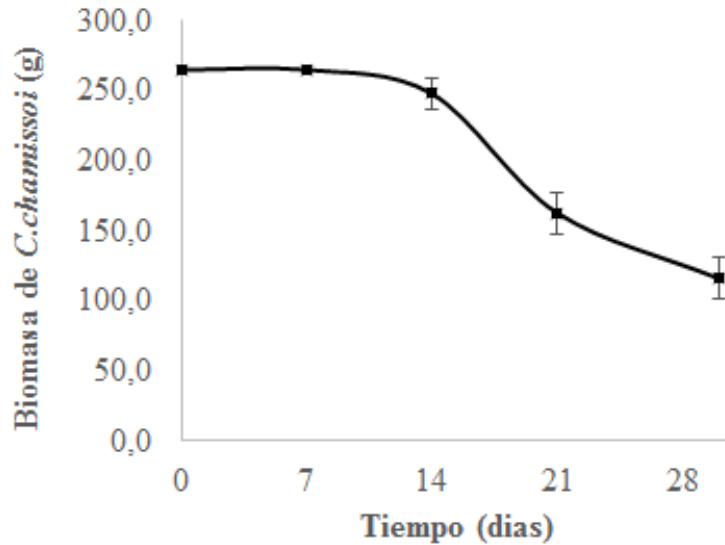


**Figura 18.** Tasa de remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  de *C. chamissoi* en el sistema de prueba 2.

El porcentaje diario de remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  que *C. chamissoi* alcanzó durante el cultivo en el sistema de prueba estuvo entre un 5 y 8 % del contenido en el agua residual del efluente de *O. mykiss* que ingresaba a los estanques con algas. En el control sin algas no hubo remoción de amonio, lo que descarta el efecto stripping que se podría generar en los estanques, debido a que la remoción observada estuvo mediada por las algas y no por el sistema de prueba. La tasa de remoción estuvo directamente relacionada con la biomasa de algas ( $r = 0,98$  y  $P = 0.002$ ).

### 5.2.2 Tasa de crecimiento de *C. chamissoi*

La tasa de crecimiento promedio que *C. chamissoi* alcanzó en los 28 días de cultivo durante la experiencia en el sistema de cultivo fue de  $-3,4 \pm 2,1 \text{ \% día}^{-1}$ . Durante esta experiencia existieron diferencias significativas en la biomasa promedio de *C. chamissoi* entre semanas de cultivo (K-W,  $P = 0,000$ ).



**Figura 19.** Biomasa promedio de *C. chamissoi* durante el cultivo en el sistema utilizado durante la segunda experiencia.

Durante la experiencia, las algas mostraron una decoloración verde-amarillo en sus extremos, los cuales se disolvían con el movimiento del agua, disminuyendo la biomasa entre un 40 y 50 % respecto a la biomasa inicial. La Figura 19 muestra la biomasa promedio en el tiempo durante la segunda prueba realizada.

## VI. Discusión

La idoneidad de una especie de alga marina para realizar un cultivo integrado, depende principalmente de las condiciones de cultivo y de las condiciones ambientales locales, es decir, densidad de cultivo, flujo de agua, temperatura, pH, salinidad, oxígeno e irradiación lumínica (Buschmann *et al.*, 2001; Chopin *et al.*, 2001).

La irradiación lumínica que recibieron las algas *C. chamissoi* durante la investigación fue de  $128 \pm 22,5 \text{ uMol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Este valor estuvo dentro de los rangos recomendado para algas rojas, como por ejemplo para *G. edulis* y *G. tenuistipitatai* entre 60 y  $130 \text{ uMol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  respectivamente (Yu *et al.*, 2013). Por lo tanto este parámetro no fue limitante para la remoción de  $\text{NH}_4^+$  ni el crecimiento de *C. chamissoi*. En ambas pruebas se utilizó malla raschell (80%) tanto para homogenizar la irradiación como para evitar el ingreso de residuos y tierra del lugar de las pruebas. Sin embargo, Paez (2004) trabajó con una irradiación entre 40 y  $70 \text{ uMol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  con la misma especie pero con temperaturas mayores a las registradas en este estudio, lo que podría ser relevante considerando que esta alga se encuentra tanto en zonas superficiales intermareales como submareales con menor iluminación.

El rango de pH varió entre 6,5 y 6,8 lo cual queda dentro de lo recomendado tanto como para el cultivo de *O. mykiss*, como para el cultivo de *C. chamissoi*, con valores recomendados de 6,5 y 8 unidades según Ávila *et al.* (2010).

### 6.1.1 Experiencia 1

La temperatura entre 11 y 13 grados Celsius registrada en el sistemas de prueba con movimiento de agua por aireación (sistema Batch), explicaría la baja remoción de  $\text{NH}_4^+$  por parte de *C. chamissoi*, comparada con otras algas del mismo género. Du *et al.* (2013a) y Paez (2004) indican que entre la temperatura y la remoción de compuestos nitrogenados existe una relación directa, viéndose afectados procesos enzimáticos que median la respiración y fotosíntesis de las algas.

### 6.1.2 Experiencia 2

La densidad de algas ( $1000 \text{ g m}^{-2}$ ) utilizada con *C. chamissoi* para iniciar el cultivo integrado con *O. mykiss* en esta segunda etapa, se determinó experimentalmente mediante la evaluación de la remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  obtenida con *C. chamissoi* en una primera etapa con el sistema de cultivo tipo Batch. Para lo cual se eligió entre tres densidades de biomasa de *C. chamissoi* 250, 500 y  $1000 \text{ gm}^{-2}$  la que mostrara la máxima remoción. Es así, en donde la densidad de  $1000 \text{ gm}^{-2}$  fue la que mostró la máxima remoción de amonio disuelto  $\text{NH}_4^+$  en el agua residual extraída del estanque de *O. mykiss* en el menor tiempo (12 horas post cultivo).

Debido a que la estructura que cubrían las algas no estaba tapada, el efecto de la lluvia en la salinidad fue un factor que afectó el desarrollo del cultivo del alga por lo que esta condición no se debe presentar en un cultivo integrado con trucha. En esta prueba las tasas decrecientes de crecimiento se explican por el flujo de agua, temperatura y salinidad. El flujo de agua por unidad de prueba utilizado en el sistema durante el primer experimento con *C. chamissoi* fue de  $1,76 \text{ L min}^{-1}$ , este valor se ajustó durante la experiencia a partir del caudal disponible para trabajar ( $8 \text{ L min}^{-1}$ ). El caudal utilizado, es comparable a la utilizada con *G. vermiculophylla* de  $1,70 \text{ L min}^{-1}$  por Abreu *et al.* (2011). Sin embargo, otros autores utilizaron caudales entre 3 y  $20 \text{ L min}^{-1}$  en el cultivo con especies del género *Gracilaria* que también corresponden al de las algas rojas al igual que *C. chamissoi*, se puede considerar como un flujo por debajo de lo recomendado para un óptimo crecimiento (Buschmann *et al.*, 1996; Matos *et al.*, 2006; Al-Hafedh *et al.*, 2012; Samocha *et al.*, 2015).

La temperatura del agua de cultivo registrada durante la segunda experiencia (entre 11 y  $13^\circ$  Celsius) se considera que estuvo por debajo de lo recomendado para el cultivo, considerando que el rango óptimo de productividad para las algas marinas se encuentra entre los 15 y  $20^\circ \text{ C}$  (Edding *et al.*, 2006). Las bajas temperaturas, propias de la estación de invierno, pudieron afectar negativamente el crecimiento de *C. chamissoi* durante las pruebas, principalmente las actividades enzimáticas como la respiración y fotosíntesis de las algas que son afectadas por la temperatura (Paez, 2004; Du *et al.*, 2013b).

La salinidad ( $23,5 \pm 3,5 \text{ ‰}$ ) se considera que estuvo por debajo de lo recomendado por otros autores entre 25 y 45 ‰ (Carneiro *et al.*, 2011; Hayashi *et al.*, 2011; Macchiavello y Bulboa, 2014), quienes atribuyen como uno de los factores que afectan el crecimiento. Con respecto a esta variable, Edding *et al.* (2006) considera que es un factor relevante que puede deprimir la actividad de fotosíntesis, ya que en el caso de *C. canaliculatus* bajas y altas salinidades (20 y 45‰) tienen un efecto significativo sobre la fotosíntesis. El autor recomienda el reemplazo continuo de agua en los estanques de cultivo para prevenir diluciones importantes por efecto de dilución a causa de las lluvias o en el caso de aumento de salinidad por evaporación del agua. Además, Avila *et al.* (2010) recomienda una salinidad entre 25 y 33 ‰ para *C. chamissoi* ya que a bajas salinidades en etapas temprana puede mostrar necrosis y pérdida de pigmentación en sus tejidos.

Un factor adicional que pudo tener influencia en la pérdida de biomasa es la turbidez generada en el agua por el paso de material particulado menor a 80  $\mu$ , que se observó en los estanques una vez iniciado el cultivo. Respecto de esta situación, se tiene conocimiento de que la penetración de la luz solar a través de columna de agua en estanques turbios, puede limitar el paso de la luz hacia la superficie de las algas, lo que afectaría la fotosíntesis y el crecimiento (Marinho-Soriano *et al.*, 2009).

La diferencia en la tasa de remoción de  $\text{NH}_4^+$  comparando entre la primera y segunda experiencia se pudo deber a la dilución en los puntos de medición y a la pérdida de biomasa. Considerando que el experimento fue realizado en meses de invierno, los resultados son comparables con los obtenidos con *Gracilaria chilensis* y *Palmaria palmata*  $50\% \text{ día}^{-1}$  de los trabajos de Buschmann *et al.* (1996) y Corey (2012). Con respecto a otros autores quienes trabajaron con *Gracilaria gracilis* y *Gracilaria chilensis*, que obtuvieron remociones entre un 70 y 100%  $\text{día}^{-1}$  (Hernández *et al.*, 2002; Macchiavello y Bulboa, 2014) se pueden considerar por sobre la registrada en el presente estudio con *C. chamissoi*.

Al comenzar la experiencia se logró preparar el lugar para las pruebas, montar dos sistemas, localizar un lugar con ejemplares con las características vegetativas deseadas, obtener un stock limpio de epifitos y transportar al lugar de las pruebas a bajas temperaturas y sin dañar los individuos para comenzar la investigación. Durante el desarrollo de la investigación se logró aclimatar las algas, ajustar el flujo de agua por unidades de cultivo, realizar mantención y toma de muestras de forma práctica y funcional tanto en el sistema de cultivo tipo Batch como en el sistema de cultivo tipo continuo.

Al finalizar la investigación se determinaron las tasas de remoción de amonio de  $\text{NH}_4^+$  de *C. chamissoi* tanto en un sistema de cultivo tipo Batch como para un sistema de cultivo tipo continuo. Las condiciones no óptimas de salinidad, sumadas a un bajo caudal y bajas temperaturas se identificaron como los principales factores que influenciaron negativamente el crecimiento, pero no así en la remoción. Buschmann *et al.* (1996) señala que se observa una alta remoción de  $\text{NH}_4^+$  cuando se utiliza un bajo flujo de agua, sin embargo, esto implicaría una baja productividad del alga.

Cabe destacar que la diferencia observada en la remoción obtenida entre la primera y segunda experiencia radica en que en la primera experiencia la cantidad de nutrientes estaba limitada a una concentración inicial lo cual pudo acondicionar a las algas a consumir amonio a una determinada tasa de remoción. Por lo tanto en la segunda experiencia, la concentración de amonio se renovaba constantemente por lo que las algas podían ser capaces de alcanzar mayores tasas de remoción por una mayor disponibilidad de nutrientes  $\text{NH}_4^+$ .

## VII. Conclusiones

- El efecto que tuvo la densidad de cultivo de *C. chamissoi* sobre la concentración de amonio  $\text{NH}_4^+$  en el agua residual del SRA con de *O. mykiss* fue de remoción, disminuyendo su concentración en los estanques con algas en un 27,6; 36,3 y 57,8 % de la concentración inicial por día con las densidades D1, D2 y D3 respectivamente. Mientras que en el estanque sin algas la concentración de amonio se mantuvo constante.
- Al comparar las tasas de remoción de  $\text{NH}_4^+$  promedio obtenidas en la primera experiencia entre las densidades de prueba de *C. chamissoi* D1, D2 y D3, se encontraron diferencias significativas por lo que se acepta H1 y se rechaza H0. Además, se determinó que D3 fue significativamente distinta a D1 y D2, fue la densidad con la que se obtuvo una mayor tasa de remoción de amonio de  $\text{NH}_4^+$ . Las máximas tasas de remoción de amonio se observaron a las 12 horas de cultivo y fueron de  $0,07 \pm 0,013$ ;  $0,010 \pm 0,009$  y  $0,153 \pm 0,008 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$  de  $\text{NH}_4^+$  con D1, D2 y D3 respectivamente.
- Un aumento de la densidad de cultivo de *C. chamissoi* de 250 a 500  $\text{g m}^{-2}$  no tendría un efecto significativo en la tasa de remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  cuando se cultiva en un sistema de movimiento del agua por aireación, pero si un aumento de 250 a 1000  $\text{g m}^{-2}$  (un 30% superior).
- La tasa de remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  que alcanzó *C. chamissoi* en el sistema de Prueba de la segunda experiencia (integrado al SRA con truchas) con movimiento de agua por bombeo fue de  $0,206 \pm 0,030 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ , removiendo entre un 5 y un 8% diario del amonio disuelto que ingresaba a los estanques con algas. Mientras que en el estanque sin algas no hubo remoción de amonio.
- La tasa de crecimiento que alcanzó *C. chamissoi* fue de  $-3,4 \pm 2,1 \text{ \% dia}^{-1}$ . Estuvo afectada negativamente por la dilución de la salinidad en los puntos de medición por las lluvias, bajas temperaturas, alta irradiación lumínica y sedimentación de las partículas menores a  $80\mu$ , factores que influenciaron la pérdida de biomasa de algas.

## VIII. Recomendaciones

Con respecto a la infraestructura considerada al aire libre, se recomienda diseñar un cierre perimetral completo del sistema para proteger de las lluvias, el techo debe mantener la condición de iluminación que brinde un 80% de sombra.

Con respecto a las bajas temperaturas observadas al aire libre se recomienda usar un aislante o un equipo para mantener y controlar la temperatura superior a los 11 ° Celsius.

Con respecto a la dilución de la salinidad, se recomienda evaluar el efecto de la salinidad del agua residual sobre la biomasa de *C. chamissoi* con salinidades inferiores a 25 ‰.

Con respecto a la alta irradiación lumínica observada durante las experiencias, se recomienda evaluar el efecto de la irradiación lumínica sobre la biomasa de *C. chamissoi* con irradiaciones superiores a 70 uMol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Con respecto a la turbidez observada, se sugiere integrar un agente filtrador como los moluscos bivalvos, que han sido probados en experiencias de cultivo Integrado y que se alimentan de material particulado desechado por los peces de un tamaño menor a 80µ.

Desde la perspectiva de un cultivo integrado no sería atractivo integrarla bajo las mismas condiciones que se evaluaron en esta investigación, por lo cual se sugiere hacer un calibrado preliminar de las condiciones óptimas in situ de las variables: Irradiación, Temperatura, Salinidad y Turbidez, en la que no se da la condición de pérdida de biomasa.

Si se optimizan las condiciones del cultivo integrado bajo las cuales se obtuvieron los resultados aquí presentados en esta investigación con *C. chamissoi*, se podría generar una revalorización del recurso comparado si solo se extrae del medio natural de manera menos eficiente.

## IX. Referencias Bibliográficas

- Abreu, M. H., Pereira, R., Yarish, C., Buschmann, A. H., & Sousa-Pinto, I. (2011). IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. *Aquaculture*, 312(1), 77-87.
- Al-Hafedh, Y. S., Alam, A., Buschmann, A. H., & Fitzsimmons, K. M. (2012). Experiments on an integrated aquaculture system (seaweeds and marine fish) on the Red Sea coast of Saudi Arabia: efficiency comparison of two local seaweed species for nutrient biofiltration and production. *Reviews in Aquaculture*, 4(1), 21-31.
- Ambler, R., Edding, M., Rodríguez, A., & Escobar, S. (1988). *Excreción de amonio por Argopecten purpuratus (Mollusca, Pectinidae) y su utilización por Gracilaria sp. (Rhodophyta, Gracilariaceae): una posibilidad de policultivo..[Excretion of ammonium by Argopecten purpuratus (Mollusca, Pectinidae) and their utilization by Gracilaria Sp. (Rhodophyta, Gracilariaceae): A possibility of polyculture.]*. Paper presented at the 1 Congreso latinoamericano de ficología marina y 3 Symposium sobre algas marinas chilenas.
- Angel, D., & Freeman, S. (2009). Integrated aquaculture (INTAQ) as a tool for an ecosystem approach to the marine farming sector in the Mediterranean Sea. *Integrated mariculture: a global review*, 133-183.
- Anderson, R. J., Monteiro, P. M., & Levitt, G. J. (1996). The effect of localised eutrophication on competition between *Ulva lactuca* (Ulvaceae, Chlorophyta) and a commercial resource of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariaceae, Rhodophyta). In *Fifteenth International Seaweed Symposium* (pp. 291-296). Springer Netherlands.
- Avila, M., Piel, M. I., Caceres, J. H., & Alveal, K. (2011). Cultivation of the red alga *Chondracanthus chamissoi*: sexual reproduction and seedling production in culture under controlled conditions. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 529-536.
- Badiola, M., Mendiola, D., & Bostock, J. (2012). Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*, 51, 26-35.

- Bardach, J. E., Ryther, J. H., & McLarney, W. O. (1972). *Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms*. John Wiley & Sons, Inc.
- Barrington, K., Chopin, T., & Robinson, S. (2009). Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine temperate waters. *Integrated mariculture: a global review. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 529*, 7-46.
- Barrington, K., Ridler, N., Chopin, T., Robinson, S., & Robinson, B. (2010). Social aspects of the sustainability of integrated multi-trophic aquaculture. *Aquaculture International, 18*(2), 201-211.
- Bulboa, C., Véliz, K., Sáez, F., Sepúlveda, C., Vega, L., & Macchiavello, J. (2013). A new method for cultivation of the carragenophyte and edible red seaweed *Chondracanthus chamissoi* based on secondary attachment disc: Development in outdoor tanks. *Aquaculture, 410*, 86-94.
- Buschmann, A. H., Mora, O. A., Gómez, P., Böttger, M., Buitano, S., Retamales, C., ... & Gutierrez, A. (1994). *Gracilaria chilensis* outdoor tank cultivation in Chile: use of land-based salmon culture effluents. *Aquacultural Engineering, 13*(4), 283-300.
- Buschmann, A. H., Troell, M., Kautsky, N., & Kautsky, L. (1996). Integrated tank cultivation of salmonids and *Gracilaria chilensis* (*Gracilariales*, Rhodophyta). *Hydrobiologia, 326*(1), 75-82.
- Buschmann, A. H., Troell, M., & Kautsky, N. (2001). Integrated algal farming: a review. *Cahiers de biologie marine, 42*(1), 83-90.
- Buschmann, A., & Fortt, A. (2005). Efectos ambientales de la acuicultura intensiva y alternativas para un desarrollo sustentable. *Revista Ambiente y Desarrollo, 21*(3), 58-64.
- Buschmann, A. H., Hernandez-Gonzalez, M. d. C., & Varela, D. (2008). Seaweed future cultivation in Chile: perspectives and challenges. *International Journal of Environment and Pollution, 33*(4), 432-456.

- Buschmann, A. H., Stead, R. A., Hernández, M. C., Paredes, J. E., Pereda, S. V., & Maldonado, M. A. (2013). Un análisis crítico sobre el uso de macroalgas como base para una acuicultura sustentable. *Revista chilena de historia natural*, 86(3), 251-264.
- Carneiro, M. A., Freire, F. A. d. M., & Marinho-Soriano, E. (2011). Study on biofiltration capacity and kinetics of nutrient uptake by *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh (Rhodophyta, *Gracilariaceae*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(2), 329-333.
- Chenl, Y., & Celia, D. G. (1994). Effects of pH on the growth and carbon uptake of marine phytoplankton. *Department of Biological Sciences, Dartmouth College, Hanover, New Hampshire, 3755*, 83-94.
- Chopin, T., Buschmann, A. H., Halling, C., Troell, M., Kautsky, N., Neori, A., . . . Neefus, C. (2001). Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. *Journal of Phycology*, 37(6), 975-986.
- Chow, F., Macchiavello, J., Cruz, S. S., Fonck, E., & Olivares, J. (2001). Utilization of *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta: *Gracilariaceae*) as a biofilter in the depuration of effluents from tank cultures of fish, oysters, and sea urchins. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32(2), 215-220.
- Cohen, I., & Neori, A. (1991). *Ulva lactuca* biofilters for marine fishpond effluents. I. Ammonia uptake kinetics and nitrogen content. *Botanica Marina*, 34(6), 475-482.
- Cole, A. J., de Nys, R., & Paul, N. A. (2014). Removing constraints on the biomass production of freshwater macroalgae by manipulating water exchange to manage nutrient flux. *PLoS One*, 9(7), e101284.
- Colt, J. (2006). Water quality requirements for reuse systems. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 143-156.
- Corey, P. E. (2012). Nutrient removal by *Palmaria palmata* and *Chondrus crispus* in bioremediation of aquaculture effluent.

- Como V, Merrill J, Palomba I, Perretti A (1993) Systematic collection of *Ulva* y mariculture of *Porphyra*: biotechnology against eutrophication in the Venice Lagoon. *Int. J. envirom. Stud.* 43: 141-149.
- Craigie, J. S., & Shacklock, P. F. (1995). Culture of Irish moss. *Cold-Water Aquaculture in Atlantic Canada, 2nd ed. The Canadian Institute for Research on Regional Development, Moncton*, 241-270.
- Critchley AT, Ohno M (1998). Seaweed Resources of the World. Japan International Cooperation Agency , Yokusuka. 431 pp.
- Du, R., Liu, L., Wang, A., & Wang, Y. (2013a). Effects of temperature, algae biomass and ambient nutrient on the absorption of dissolved nitrogen and phosphate by Rhodophyte *Gracilaria asiatica*. *Chinese J. Oceanol. Limnol.*, 31, 353-365.
- Dong, S., Fang, J., Jansen Henrice, M., & Verreth, J. (2013). Review on integrated mariculture in China, including case studies on successful polyculture in coastal Chinese waters. Report, Asem Aquaculture Plaform, 7th framework programme.
- Dwyer, W. P., Piper, R. G., & Smith, C. E. (1983). Brook trout growth efficiency as affected by temperature. *The Progressive Fish-Culturist*, 45(3), 161-163.
- Edding, M., Tala, F., & Vásquez, J. (2006). Fotosíntesis, productividad y algas Marinas. *Fisiología Vegetal. Ediciones Universidad de La Serena*, 1-39.
- Edwards, P. (1993). Environmental issues in integrated agriculture-aquaculture and wastewater-fed fish culture systems. In *Environment and aquaculture in developing countries. ICLARM Conference Proceedings* (Vol. 31, pp. 139-170).
- FAO (2016). Estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- Fei, X. G., Lu, S., Bao, Y., Wilkes, R., & Yarish, C. (1998). Seaweed cultivation in China: Chinese aquaculturists combine research and technology to provide a traditional staple in the country's diet. *WORLD AQUACULTURE-BATON ROUGE-*, 29, 22-25.

- Fei, X., Bao, Y., & Lu, S. (2000). Seaweed cultivation-traditional way and its reformation. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 31(5), 575-580.
- Figuerola, F. L., Korbee, N., Coba, F. D. L., Gil Jerez, C., Bonomi Barufi, J., Güenaga Unzetabarrenechea, L., ... & Sousa-Pinto, I. (2011). Valorización de la biomasa de macroalgas en acuicultura multitrófica integrada (AMTI): aplicaciones en cosmética y nutraceútica (fotoprotectores y antioxidantes).
- Folke, C., Kautsky, N., Berg, H., Jansson, Å., & Troell, M. (1998). The ecological footprint concept for sustainable seafood production: a review. *Ecological Applications*, 8(sp1).
- Friedlander, M., & Levy, I. (1995). Cultivation of *Gracilaria* in outdoor tanks and ponds. *Journal of Applied Phycology*, 7(3), 315-324.
- Haglund, K., & Pedersén, M. (1993). Outdoor pond cultivation of the subtropical marine red algae *Gracilaria tenuistipitata* in brackish water in Sweden. Growth, nutrient uptake, co-cultivation with rainbow trout and epiphyte control. *Journal of Applied phycology*, 5(3), 271-284.
- Hanisak, M. D., & Samuel, M. A. (1987). Growth rates in culture of several species of *Sargassum* from Florida, USA. *Hydrobiologia*, 151(1), 399-404.
- Haines, K. C. (1976). Growth of the carrageenan-producing tropical red seaweed *Hypnea musciformis* in surface water, 870m deep water, effluent from a clam mariculture system, and in deep water enriched with artificial fertilizers or domestic sewage.
- Harrison, P. J., & Hurd, C. L. (2001). Nutrient physiology of seaweeds: application of concepts to aquaculture. *Cahiers de biologie marine*(1-2).
- Hayashi, L., Faria, G. S., Nunes, B. G., Zitta, C. S., Scariot, L. A., Rover, T., . . . Bouzon, Z. L. (2011). Effects of salinity on the growth rate, carrageenan yield, and cellular structure of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) cultured in vitro. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 439-447.

- Hernández, I., Martínez-Aragón, J., Tovar, A., Pérez-Lloréns, J., & Vergara, J. (2002). Biofiltering efficiency in removal of dissolved nutrients by three species of estuarine macroalgae cultivated with sea bass (*Dicentrarchus labrax*) waste waters 2. Ammonium. *Journal of Applied Phycology*, 14(5), 375-384.
- Huguenin, J. E. (1976). An examination of problems and potentials for future large-scale intensive seaweed culture systems. *Aquaculture*, 9, 313-342.
- Jagadeesan, L., Kannadasan, A., Anantharaman, P., Perumal, P., & Thangaraj, M. (2010). Assessment of ammonium uptake by marine macroalga *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(2), 150-153.
- Krom, M. D., Ellner, S., Van Rijn, J., & Neori, A. (1995). Nitrogen and phosphorus cycling and transformations in a prototype 'non-polluting' integrated mariculture system, Eilat, Israel. *Marine Ecology Progress Series*, 25-36.
- Lawson, T. B. (Ed.). (2012). *Fundamentals of aquacultural engineering*. Springer Science & Business Media.
- LBAAF. (02 de Mayo de 2017). *LBAAF*. Obtenido de <http://www.lbaaf.co.nz/land-based-aquaculture/integrated-aquaculture/>
- Littler, M. M., & Littler, D. S. (1980). The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: field and laboratory tests of a functional form model. *The American Naturalist*, 116(1), 25-44.
- Lobban, C. S., & Harrison, P. J. (1994). *Seaweed ecology and physiology*: Cambridge University Press.
- Macchiavello, J., & Bulboa, C. (2014). Nutrient uptake efficiency of *Gracilaria chilensis* and *Ulva lactuca* in an IMTA system with the red abalone *Haliotis rufescens*/Eficiencia de absorción de nutrientes de *Gracilaria chilensis* y *Ulva lactuca* en un sistema multitrófico integrado con el abalón rojo *Haliotis rufescens*. *Lat. Am. J. Aq. Res.*, 42(3), 523.

- Machado Moreno, S. (2015). *Producción de Ulva a partir de un sistema de recirculación acuícola. Condiciones hidrodinámicas y eliminación de nutrientes* (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya).
- Marinho-Soriano, E., Nunes, S., Carneiro, M., & Pereira, D. (2009). Nutrients' removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. *Biomass and Bioenergy*, 33(2), 327-331.
- Martínez, C., Saúl, A., & Aybar Escobar, C. A. (2008). Evaluación de la capacidad de remoción de bacterias coliformes fecales y demanda bioquímica de oxígeno de la planta de tratamiento de aguas residuales " La Totorá", Ayacucho, Perú. *Ecología Aplicada*, 7(1-2), 165-171.
- Matos, J., Costa, S., Rodrigues, A., Pereira, R., & Pinto, I. S. (2006). Experimental integrated aquaculture of fish and red seaweeds in Northern Portugal. *Aquaculture*, 252(1), 31-42.
- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., . . . Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), 1017-1024.
- Neori, A., Ragg, N. L., & Shpigel, M. (1998). The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: II. Performance and nitrogen partitioning within an abalone (*Haliotis tuberculata*) and macroalgae culture system. *Aquacultural Engineering*, 17(4), 215-239.
- Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A. H., Kraemer, G. P., Halling, C., . . . Yarish, C. (2004). Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231(1), 361-391.
- Nobre, A., Robertson-Andersson, D., Neori, A., & Sankar, K. (2010). Ecological–economic assessment of aquaculture options: comparison between abalone monoculture and integrated multi-trophic aquaculture of abalone and seaweeds. *Aquaculture*, 306(1), 116-126.

Ochoa Bautista Raúl y Ortega Rivas César (2009) ¿Puede la agricultura cubrir el crecimiento de la demanda de alimentos? [En línea] Claridades Agropecuarias no. 196, p 3-7 [Consulta: 06 de Mayo de 2017] Disponible en: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/196/ca196.pdf>

Oliveira, V. P., de Morais Freire, F. A., & Soriano, E. M. (2012). Influence of depth on the growth of the seaweed *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta) in a shrimp pond. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 16(1), 33-39.

Otaíza, R. D., & Cáceres, J. H. (2015). Manual de una técnica para el repoblamiento de chicoria de mar, *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing 1843 (Rhodophyta, Gigartinales), en praderas naturales, Región del Biobío. Proyecto FONDEF-HUAM AQ12I0004. 44.

Ryder, E., Nelson, S., Glenn, E., Nagler, P., Napoleon, S., & Fitzsimmons, K. (2004). Review: production of *Gracilaria parvispora* in two-phase polyculture systems in relation to nutrient requirements and uptake. *BULLETIN-FISHERIES RESEARCH AGENCY JAPAN*, 71-76.

(SERNAPESCA) Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, 2011. Anuario Estadístico de Pesca 2011. Desembarque Artesanal Año 2011, por especie y por Región. Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, Valparaíso, Chile ([http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com\\_remository&Itemid=54&func=select&id=2](http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=54&func=select&id=2))

Samocha, T., Fricker, J., Ali, A., Shpigel, M., & Neori, A. (2015). Growth and nutrient uptake of the macroalga *Gracilaria tikvahiae* cultured with the shrimp *Litopenaeus vannamei* in an Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) system. *Aquaculture*, 446, 263-271.

Santelices, B. (2002). RECENT ADVANCES IN FERTILIZATION ECOLOGY OF MACROALGAE1. *Journal of Phycology*, 38(1), 4-10.

- Silva, D., Valente, L., Sousa-Pinto, I., Pereira, R., Pires, M., Seixas, F., & Rema, P. (2015). Evaluation of IMTA-produced seaweeds (*Gracilaria*, *Porphyra*, and *Ulva*) as dietary ingredients in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., juveniles. Effects on growth performance and gut histology. *Journal of Applied Phycology*, 27(4), 1671-1680.
- Soto, D. (2009). *Integrated mariculture: a global review*: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Sousa, A. I., Martins, I., Lillebø, A. I., Flindt, M. R., & Pardal, M. A. (2007). Influence of salinity, nutrients and light on the germination and growth of *Enteromorpha* sp. spores. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 341(1), 142-150.
- Smith, R. (2010). *Manual de ecoturismo para la Amazonia ecuatoriana*. Imágenes para un Nuevo Mundo.
- Tacon, A. G., & De Silva, S. S. (1997). Feed preparation and feed management strategies within semi-intensive fish farming systems in the tropics. *Aquaculture*, 151(1), 379-404.
- Timmons, M. B., Ebeling, J., Wheaton, F., Summerfelt, S., & Vinci, B. (2002). Mass balances, loading rates, and fish growth. *Recirculating Aquaculture Systems, 2nd ed. Cayuga Aqua Ventures, New York, USA*, 89-116.
- Troell, M., Halling, C., Nilsson, A., Buschmann, A. H., Kautsky, N., & Kautsky, L. (1997). Integrated marine cultivation of *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) and salmon cages for reduced environmental impact and increased economic output. *Aquaculture*, 156(1-2), 45-61.
- Troell, M., Halling, C., Neori, A., Chopin, T., Buschmann, A., Kautsky, N., & Yarish, C. (2003). Integrated mariculture: asking the right questions. *Aquaculture*, 226(1), 69-90.
- Wang, W. L., & Chiang, Y. M. (1994). Potential economic seaweeds of Hengchun peninsula, Taiwan. *Economic botany*, 48(2), 182-189.
- Yu, C.-H., Lim, P.-E., & Phang, S.-M. (2013). Effects of irradiance and salinity on the growth of carpospore-derived tetrasporophytes of *Gracilaria edulis* and *Gracilaria tenuistipitata* var *liui* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 787-794.

