



1

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y
OCEANOGRÁFICAS



Evaluación de un sistema fotodepurador de capa fina para la laguna urbana Las Tres Pascualas, región del Biobío

Alexa Belén Martínez Vásquez

Seminario de título presentando al
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Para optar al título de
BIOLOGA MARINA

Concepción - Chile

2024

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA

Este Seminario de Título ha sido realizado en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.

Docente Guía

Dr. Pablo Castro

Docente patrocinante

Dr. Ariel Valenzuela

Ha sido aprobada por la
siguiente comisión evaluadora

Dr. Ricardo Figueroa

Dra. Patricia Gómez

Jefe de carrera

Dr. Ariel Valenzuela

Agradecimientos

Mi mayor gratitud a mi madre por su incondicional apoyo durante este proceso y su constante motivación en aquellas largas noches de estudio. Gracias por tu incondicional compañía y paciencia. A mi amada compañera de desvelos, Chica.

Mis sinceros agradecimientos a mi profesor guía Dr. Pablo Castro, por hacerme parte de su grupo de trabajo, su disposición a resolver mis dudas de manera clara y por brindarme sus conocimientos que nutren mi aprendizaje. Gracias al equipo de trabajo del laboratorio Ficolab por el conocimiento compartido y el grato ambiente que hizo este proceso más llevadero.

Se agradece al proyecto UCO INTERDISCIPLINA (MECESUP UCO21102-2) por el apoyo económico para la financiación de esta tesis.

Finalmente agradezco a los profesores que integran mi comisión, Dr. Ariel Valenzuela, Dr. Ricardo Figueroa, Dra. Patricia Gómez.

Índice

| | |
|---|----|
| Resumen | 9 |
| Abstract | 10 |
| Introducción | 11 |
| Lagos eutrofizados, impacto ecológico y en la población | 11 |
| Las microalgas como método de recuperación de nutrientes en lagos eutrofizados | 12 |
| Pigmentos fotosintéticos y su espectro de acción | 14 |
| Pregunta hipótesis | 16 |
| Hipótesis | 16 |
| Objetivos | 16 |
| Objetivo general | 16 |
| Evaluar si la modulación de las calidades lumínicas azul, roja y blanca favorece la remoción de nutrientes de la comunidad fitoplanctónica de la laguna Las Tres Pascualas | 16 |
| Objetivos específicos | 16 |
| Metodología | 17 |
| Área de estudio | 17 |
| 1.Exposición de la comunidad de microalgas bajo calidades de luz azul, roja y blanca a escala de laboratorio | 18 |
| 2.Exposición de la comunidad fitoplanctónica a calidades lumínicas en el sistema fotodepurador de capa fina | 18 |
| 3.Análisis fisiológicos | 19 |
| 3.1. Cuantificación de clorofila <i>a</i>, <i>c1+c2</i> y carotenoides totales | 19 |
| 3.2. Peso seco | 19 |
| 3.3. Fluorescencia <i>in vivo</i> de la clorofila <i>a</i> | 19 |
| 4.Análisis bioquímicos | 22 |
| 4.1. Determinación de la concentración de nutrientes en el sistema fotodepurador de capa fina | 22 |
| 4.2. Extracción y cuantificación de proteínas totales de la biomasa | 22 |
| 4.3. Extracción y cuantificación de lípidos totales | 23 |
| 5.Análisis estadísticos | 24 |
| Resultados | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 1. Primera etapa: exposición de la comunidad fitoplanctónica de la laguna Las Tres Pascualas a distintas calidades de luz | 25 |
| 1.1. Concentración de pigmentos fotosintéticos..... | 25 |
| | 27 |
| 1.2. Concentración de nutrientes | 27 |
| 1.3. Rendimiento fotosintético <i>ex situ</i> | 29 |
| 2. Segunda etapa: exposición de la comunidad fitoplanctónica de la laguna Las Tres Pascualas bajo las calidades lumínicas azul y roja en el sistema depurador de capa fina ... | 31 |
| 2.1. Concentración de pigmentos | 31 |
| 2.1. Rendimiento fotosintético <i>in situ</i> | 35 |
| 2.1. Concentración de lípidos totales y proteínas | 36 |
| Discusión..... | 37 |
| Referencias bibliográficas | 41 |
| Anexo..... | 50 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Ubicación laguna Las Tres Pascualas en la ciudad de Concepción, región del Biobío. . | 17 |
| Figura 2: Concentración de clorofila a, a través del tiempo bajo calidades de luz roja, blanca y azul. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias estadísticas ($p < 0.05$)..... | 25 |
| Figura 3: Concentración de carotenoides totales a través del tiempo bajo luz azul, roja y blanca. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indica que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$)..... | 26 |
| Figura 4: A) contenido de pigmentos fotosintéticos extraídos en tubos de ensayo correspondientes a la comunidad fitoplanctónica de la primera etapa. B) comunidad de microalgas sin pigmentos correspondientes a la primera etapa donde se observa principalmente diatomeas de agua dulce | 27 |
| Figura 5: Concentración de nitrato [$\mu\text{g/L}$] bajo luz blanca, azul y roja..... | 28 |
| Figura 6: Concentración de fosfato [$\mu\text{g/L}$] bajo luz azul, blanca y roja. | 29 |
| Figura 7: Rendimiento cuántico óptimo (F_v/F_m) bajo luz blanca, azul y roja. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias estadísticas ($p < 0.05$). | 29 |
| Figura 8: Tasa de transporte de electrones (ETR_{max}) bajo luz blanca, azul y roja. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias estadísticas ($p < 0.05$). | 30 |
| Figura 9: Rendimiento no fotoquímico máximo (NPQ_{max}) bajo luz azul, roja y blanca. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) | 31 |
| Figura 10: a) Concentración de clorofila a en función del nitrato. b) Concentración de clorofila a en función del fosfato. c) Concentración de clorofila a en función del amonio..... | 32 |
| Figura 11: a) Concentración de carotenoides totales en función del nitrato. b) Concentración de carotenoides totales en función del fosfato. c) Concentración de carotenoides totales en función del amonio..... | 33 |
| Figura 12: a) Concentración de clorofila c_1+c_2 en función del nitrato. b) Concentración de clorofila c_1+c_2 en función del fosfato. c) Concentración de clorofila c_1+c_2 en función del amonio | 34 |
| Figura 13: A) crecimiento de la comunidad fitoplanctónica en la base del fotobiorreactor de capa fina al sexto día de exposición. B) comunidad de microalgas del reactor vistas al microscopio..... | 35 |
| Figura 14: a) Rendimiento cuántico efectivo (Y_{II}). b) Tasa de electrones relativa (ETR_r). Barras indican desviación estándar de la media. | 36 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Contenido de lípidos totales y proteínas (%) a partir de la biomasa seca en los tratamientos lumínicos y en el fotobiorreactor. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$). | 36 |
|--|----|

Anexo

| | |
|---|----|
| Anexo 1: Imágenes correspondientes a la primera etapa. A) Muestra microalgal correspondiente al tratamiento lumínico azul. B) Muestra microalgal perteneciente al tratamiento bajo luz blanca. C) Muestra microalgal bajo luz roja | 50 |
| Anexo 2: Imágenes segunda etapa. A) Muestra microalgal día 4. B) Muestra microalgal día 6. C) Muestra microalgal día 12 B) | 51 |

Resumen

La eutrofización es un problema ambiental causado por el exceso de nutrientes en cuerpos de agua, esto conlleva a una disminución de la calidad del agua, amenazando a la diversidad acuática y los sectores aledaños. Una potencial solución para depurar lagos eutrofizados son los sistemas fotodepuradores de capa fina. En este estudio se evaluó la calidad de la luz sobre el sistema de capa fina como estimulador del proceso fotosintético en una comunidad de microalgas de la laguna Tres Pascualas con el propósito de retornar el efluente mejorado al sistema lacustre desprovistos de nutrientes y la generación de una biomasa resultante de valor agregado para su uso biotecnológico. En una primera etapa se determinó la calidad de luz que permite obtener una alta actividad fotosintética y la tasa de consumo de nutrientes. Los resultados indican que la máxima capacidad fotosintética muestra una correlación positiva a las calidades de luz azul y roja al día del agotamiento de los nutrientes (cosecha día 10). La producción máxima de transporte de electrones (ETR_{max}), la disipación energética y la disipación no fotoquímica (NPQ_{max}) poseen un comportamiento variable durante el tiempo (del día 2 al 6), siendo el máximo valor para luz azul y roja comparada con la luz blanca. La cantidad de proteínas totales incremento significativamente en presencia de luz blanca y azul, mientras que los lípidos totales alcanzaron valores máximos para el tratamiento con luz blanca. En una segunda etapa, la comunidad microalgal alcanzó una productividad de biomasa de $2,56 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en el fotobiorreactor de capa fina. La actividad fotosintética fue estimada de forma *in situ* usando la fluorescencia de la clorofila *a*, la cual muestra una buena correlación con la concentración de clorofila y el consumo de nutrientes (nitrato, fosfato y amonio) siendo absorbidos por completo al día de la cosecha (día 13). El contenido de proteínas totales por biomasa seca alcanzó 23.2% siendo superior 8.9 veces al tratamiento de luz azul y blanca a escala de laboratorio. La bioconversión de los nutrientes en biomasa microalgal mediante un fotodepurador de capa fina se sugiere su uso tecnológico para depurar la laguna Las Tres Pascualas.

Abstract

Eutrophication is an environmental problem caused by excess nutrients in water bodies; this leads to a decrease in water quality, which leads to a decrease in water quality affecting the aquatic diversity and health sectors. A potential solution to reduce eutrophic lakes is thin-layer photobioreactor systems. In this study, the quality of light on the system was evaluated as a stimulator of the photosynthetic process in a community of microalgae from the Tres Pascualas lagoon with the purpose of return to the lagoon with less nutrient concentration and the generation of microalgae biomass for biotechnological use. In the first stage, the quality of light that allows for obtaining high photosynthetic activity and the rate of nutrient consumption was determined. The results indicate that the maximum photosynthetic capacity shows a positive correlation to the blue and red light on the day of complete depletion of nutrients (harvest day 10). The maximum electron transport production (ETR_{max}) and energy dissipation, non-photochemical dissipation (NPQ_{max}) have a variable behavior over time (from day 2 to 6), with the maximum value for blue and red light compared to white light. The amount of total proteins increased significantly in white and blue light, while total lipids reached maximum values for the white light treatment. In a second stage, the microalgal community reached a biomass production of 2.56 56mg L⁻¹ d⁻¹ in the thin layer photobioreactor. Photosynthetic activity was estimated in situ using chlorophyll with between, fluorescence, which shows a good correlation with chlorophyll concentration and asimilation of nitrate, phosphate, and ammonium, these being completely entirelywholly consumed on the day of harvest (day 13). The total protein content per dry biomass reached 23.2%, 8.9 times higher than the blue and white light treatment on a laboratory scale. The bioconversion of nutrients into microalgal biomass using a thin-layer photobioreactoris suggested for technological use to clean the Tres Pascualas lagoon.

Introducción

Lagos eutrofizados, impacto ecológico y en la población

La eutrofización es un fenómeno que ocurre por el incremento y disponibilidad de nutrientes en los cuerpos de agua, principalmente de nitrógeno y fósforo (Uruguay, 2010). Debido a ello, crecen en abundancia algas y otros organismos, los cuales, al morir, se degradan y aumentan la demanda de oxígeno disuelto, afectando de manera negativa la calidad del agua (Zapata, 2012). El aumento de nutrientes estimula el crecimiento del fitoplancton, provocando la pérdida de transparencia del agua. Como consecuencia la actividad fotosintética aumenta y el oxígeno disminuye por el incremento en la carga de otros nutrientes, resultando en una degradación del medio acuático que afecta la calidad de vida de los seres que habitan allí (Pozo, 2008).

Si bien este es un fenómeno natural del envejecimientos de los cuerpos de agua, las actividades antropogénicas han acelerado este proceso, afectando así a los ríos, quebradas, manantiales, estuarios y lagunas (Zapata, 2012). Esta última debido la morfometría que presenta, los aportes hídricos externos a través de su área de drenaje y aportes pluviales, lo convierte en un cuerpo de agua vulnerable que altera el equilibrio del ecosistema y calidad del agua favoreciendo el crecimiento de especies formadoras de Blooms (Balvoa, 2017).

Las causas de la eutrofización en las lagunas pueden ser tanto de origen antropogénico como natural. Actividades agrícolas por el usos de fertilizantes nitrogenados para abonar los cultivos (Reyes et al., 2016), residuos urbanos como los detergentes abundantes en fosfatos (Abella & Martínez, 2012), efluentes de las actividades industriales y forestales (Corona, 2013), serian causas antropogénicas . Por otro lado, entre las causas naturales se encuentran los aportes atmosféricos, la re-suspensión de los sedimentos del fondo, descomposición de organismos y fijación de nitrógeno por microorganismos (Burgos, 2013).

Los efectos de este fenómeno sobre el cuerpo de agua pueden evidenciarse a simple vista dado que las aguas ya no son transparentes y toman una coloración verdosa. Sin embargo, existen grandes efectos que impactan de manera significativa la calidad del agua, su biota y

en consecuencia la salud poblacional en el caso de lagunas urbanas. Entre estos efectos en el ecosistema está la desoxigenación del agua ocasionando una elevada mortandad de peces, aumento de la producción primaria, producción de toxinas por determinadas microalgas, modificación de las características de la masa de agua conllevando a una pérdida de la calidad de la misma (Pozo, 2008). Por otro lado, existen efectos negativos que afectan la calidad de vida de los sectores aledaños a este cuerpo de agua como la reducción de la posibilidad de utilización de esta para fines recreativos debido a olores producidos por la descomposición de las algas, esto se traduce en una reducción del uso del agua para fines de emergencia (Almanza-Marroquín et al., 2016).

Las microalgas como método de recuperación de nutrientes en lagos eutrofizados

En el proceso de la fotosíntesis las plantas capturan grandes cantidades de CO₂ de la atmósfera produciendo oxígeno sin embargo, las microalgas presentan una eficiencia fotosintética significativamente superior a las plantas terrestres, debido a que poseen estructuras diferentes, por lo que reducen de manera considerable las concentraciones de CO₂ en la atmósfera (Fernández, 2018) además, son organismos unicelulares adaptadas a diversos ambientes, tanto marinos como dulces, residuales y salobres, presentan un rápido crecimiento celular y una composición bioquímica de interés comercial (Santos et al., 2014).

Debido a estas cualidades las microalgas han despertado el interés, por ejemplo, para la obtención de bioenergía, presentando propiedades únicas que permiten un desarrollo biotecnológico viable (Escobedo & Calderón, 2021). Entre estos atributos se destacan producción de biomasa, capacidad de absorción del CO₂ atmosférico, adaptación a diferentes medios de cultivos, su producción se puede realizar a lo largo de todo el año, uso potencial para la elaboración de biocombustibles y su capacidad de depuración de aguas residuales (Fernández, 2018). Asimismo, las microalgas son ficorremediadoras, es decir que captan compuestos contaminantes de un cuerpo de agua y son recuperados mediante la cosecha (Hernández & Labbé, 2014). Esta capacidad depuradora es una potencial

alternativa para el tratamiento de aguas residuales que buscan reducir o eliminar las altas concentraciones de nutrientes (nitrato y fosfato), coliformes y toxicidad.

Para el cultivo de microalgas como tratamiento de aguas residuales se emplean distintos procesos dependiendo de la especie o si es un consorcio de microalgas, también depende del producto final que se requiera utilizar y con qué fin. Para ello destacan dos tipos de tecnologías; los sistemas abiertos en los que el cultivo se encuentra expuesto directamente al entorno y los sistemas cerrados que incluyen a los fotobiorreactores, en donde las variables ambientales son generalmente controladas y la exposición con la atmósfera es muy baja o nula (Muñiz, 2019). El principal parámetro que determina el rendimiento de estos procesos es la disponibilidad de luz en el reactor y la profundidad de este (Acién et al., 2018). La biomasa resultante se va acumulando en la superficie del reactor que es de un material transparente, lo que atenúa la luz incidente, es decir que la irradiancia promedio a la que las células están expuestas al cultivo están en función de la profundidad del reactor (Chuka et al., 2021). Por lo tanto, mientras menor sea la profundidad del cultivo, la recuperación de nutrientes y la producción de biomasa algal será mayor (Acién et al., 2018).

El fotobiorreactor (FBR) de capa fina, es un sistema que permite maximizar la eficiencia en la producción de biomasa algal (Clagnan et al., 2023). Un FBR a escala piloto convencional está constituido por una superficie plana y de poca profundidad con sistemas de luces artificiales (LEDs o fluorescentes), además presenta un sistema de bombeo para la recirculación de la suspensión del cultivo el cual es recolectado en un tanque. Cuenta con un sistema de monitoreo y control para los parámetros fisicoquímicos tales como, temperatura, pH, concentración de CO₂ y oxígeno disuelto (Villaró et al., 2022; López et al., 2024). Son diseñados con una alta relación superficie irradiada por volumen de cultivo (S/V), baja profundidad (4cms) y operados mediante sistema continuo, logrando depurar agentes eutrofizantes tales como Amonio, Nitrato, Fosfato y metales (Hierro, Cobre y Zinc), evitando costos de aireación, desgasificación y estabilización de pH.

Pigmentos fotosintéticos y su espectro de acción

Los pigmentos fotosintéticos son los encargados de captar la energía lumínica y transformarla en energía química en la fase fotoquímica de la fotosíntesis, presentan distintas propiedades según su composición y estructura molecular (Goncalves et al., 2001). Los pigmentos primarios (clorofila *a*) tienen como principal finalidad la captación de la energía lumínica y están acompañados de pigmentos accesorios (carotenoides y ficobilínicos), cuyas funciones son ampliar el espectro de absorción de la clorofila y servir como sistemas de protección frente a luz excesiva (Carril, 2011). Dichos pigmentos están organizados en estructuras funcionales llamadas fotosistema I (PSI) y fotosistema II (PSII) (Hall & Rao, 1999). Los fotosistemas están constituidos por un complejo antena, conformado por moléculas de pigmento y proteínas unidos en la membrana tilacoidal, y un centro de reacción fotoquímica conformado por moléculas de clorofilas con un complejo proteico. Cuando comienza el proceso de conversión de energía luminosa en energía química, esta luz activa los electrones de la clorofila desplazándose a través de la cadena transportadora de electrones en la membrana tilacoidal, después la clorofila recupera sus electrones del agua liberando O₂. Dichos electrones son cedidos al NADP⁺ transformándose en NADPH (Blankenship, 2021).

Ya que cada pigmento fotosintético presenta rangos de absorción específicos y la penetración de la luz en el océano afecta su calidad, las microalgas han desarrollado la capacidad de acumular una mayor diversidad de pigmentos en comparación con otros organismos como una medida adaptativa a dichos cambios (Edding et al., 2006). Debido a estas características, la clorofila *a*, presente en todos los organismos fotosintéticos que producen oxígeno y con máximos de absorción a 663 nm (De & Veloso, 1998; Ascensión, 2018), se utiliza en la industria alimentaria como colorante y antioxidante. Las principales especies cultivadas para este fin incluyen *Chlorella vulgaris*, *Gloeothece membranacea*, *Scenedesmus obliquus*, y *Microcystis aeruginosa*, entre otras (Portillo & Jiménez, 2021).

Por otro lado, los pigmentos accesorios carotenoides, que incluyen tanto carotenos como xantofilas, se distinguen por sus propiedades antioxidantes y su alta capacidad de protección contra los rayos UV, con máximos de absorción a 480 nm (Meléndez et al., 2007; De & Veloso, 1998). Las principales especies que acumulan estos pigmentos son las

microalgas *Dunaliella sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Asterarcys quadricellulare*, *Chlorococcum sp.*, entre otras (Portillo & Jiménez, 2021).

Lo anterior, por los diferentes pigmentos que acumulan las microalgas y sus respectivos espectros de absorción, los desarrollos recientes en los sistemas de producción buscan optimizar la disponibilidad de luz y la eficacia en la producción de biomasa de microalgas, así como de pigmentos fotosintéticos y macroalgas. Estos cambios pueden implementarse mediante la modificación de la distribución de luz, intensidad y/o la fuente luminosa. Utilizar espectros de absorción estrechos permite actuar directamente sobre la fotorrespuesta del organismo. La ventaja de complementar la luz radica en la posibilidad de mantener el metabolismo fotosintético en su nivel óptimo mientras se activan otras vías a través de varias respuestas fotomorfogénicas (Castro-Varela et al. 2021)

Por consiguiente, la evaluación monocromática y su combinación podría ser una estrategia fotobiológica para estimular una comunidad de microalgas o también de forma grupo-específica. Lo anterior, por los diferentes pigmentos que acumula y su respectivo espectro de absorción.

Pregunta hipótesis

¿Es posible fotoestimular la comunidad de microalgas en un sistema fotodepurador de capa fina ?

Hipótesis

La calidad lumínica azul y roja en un sistema depurador de capa fina aumentará la eficiencia fotosintética de la comunidad de microalgas de la laguna Las Tres Pascualas, favoreciendo así la tasa de remoción de nutrientes en comparación con su ambiente natural.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar si la modulación de las calidades lumínicas azul, roja y blanca favorece la remoción de nutrientes de la comunidad fitoplanctónica de la laguna Las Tres Pascualas

Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de la calidad de luz roja, azul y blanca en el rendimiento fotosintético y la generación de biomasa de la comunidad de microalgas.
2. Determinar si las calidades de luz azul, roja y blanca modifican la remoción de nutrientes en la comunidad de microalgas en un sistema fodepurador de capa fina.

Metodología

Área de estudio

El área de estudio corresponde a la laguna Las Tres Pascualas ubicada en el casco urbano de Concepción, región del Biobío, específicamente en el sector de Barrio Norte ($36^{\circ}48'50''\text{S}$, $73^{\circ}02'30''\text{O}$). De origen fluvial, somera, presenta una superficie aproximada de 58.950 m^2 , profundidad de 8 m y un volumen de 300.135 m^3 (Parra, 2009). El estado trófico actual de esta laguna es eutrófico ya que, la transparencia en la columna de agua es $< 3\text{ m DS}$ (Disco Sechi), la biomasa algal es entre $8\text{--}25\text{ }\mu\text{g/L}$ (*Chla a*) y la concentración de nutrientes es $> 35\text{ }\mu\text{g/L}$ (Almanza-Marroquín et al., 2016). Estos parámetros favorecen la aparición de eventos ambientales singulares que afectan directamente a la diversidad de la laguna, como la mortandad de peces por la alteración en la calidad del agua e invasión de macrófitas (Parra, 2009)

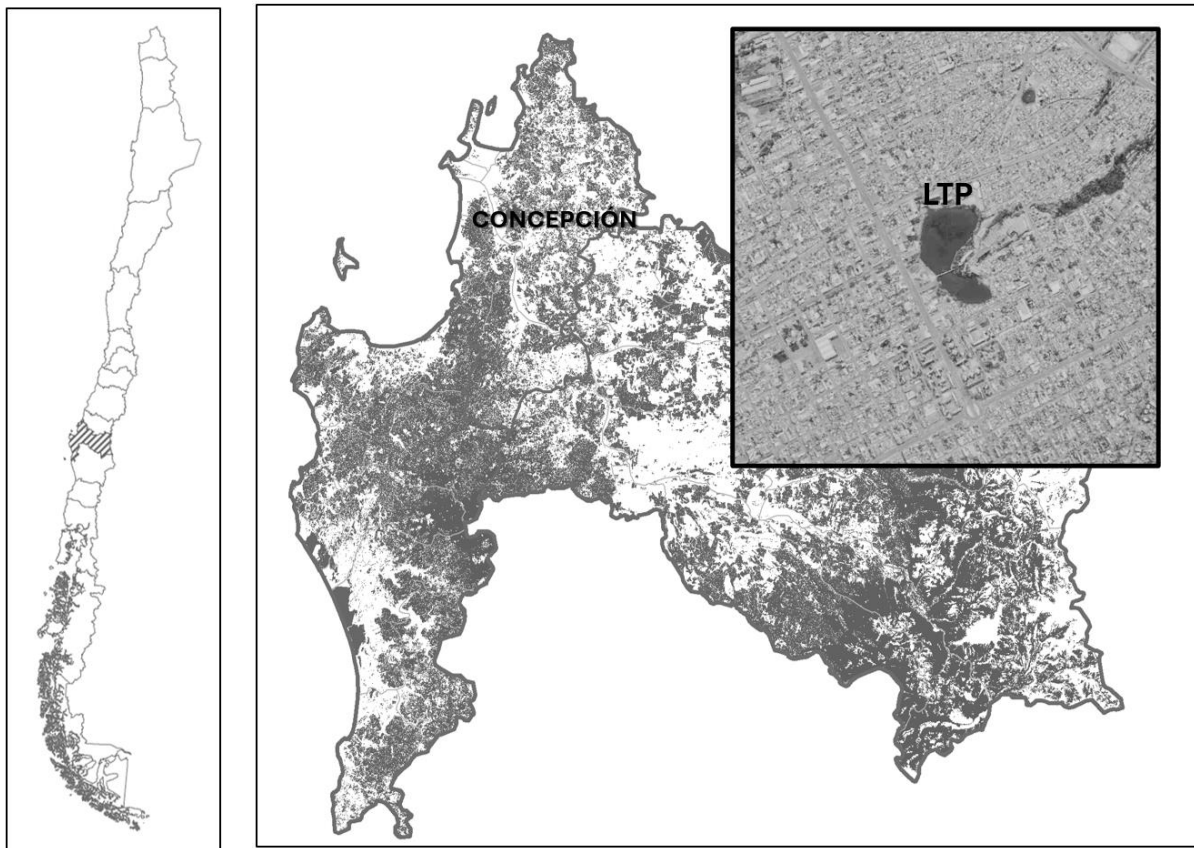


Figura 1: Ubicación laguna Las Tres Pascualas en la ciudad de Concepción, región del Biobío.

1.Exposición de la comunidad de microalgas bajo calidades de luz azul, roja y blanca a escala de laboratorio

Las muestras recolectadas del cuerpo de agua Tres Pascualas en bidones de 20 L, se trasladaron al laboratorio Ficolab de la Universidad de Concepción. Se establecieron 4 réplicas en volúmenes de 1 L con aireación constante (aire filtrado a 0,2 μm), a una temperatura 20 ± 2 °C con lámparas LED blancas, rojas y azules para iluminar los cultivos a un flujo fotónico de $50 \mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Esta densidad fue establecida previamente por la realización de curvas rápidas de luz mediante un fluorímetro (MINIPAM, Walz , Germany), evidenciándose que irradiancias superiores a $50 \mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ existe fotoinhibición de la muestra algal ($Y(\text{II}) = 0.3$). Rendimientos fotosintéticos inferiores a 0.5 es considerado un estado de estrés al fotosistema (Figueroa et al. 2021).

2.Exposición de la comunidad fitoplanctónica a calidades lumínicas en el sistema fotodepurador de capa fina

Una vez determinada la calidad de luz con mejor eficiencia fotosintética se cultivaron 120 L de la laguna Las Tres Pascualas en un fotobiorreactor de capa fina perteneciente al Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción. El sistema presenta una bomba de aire para la circulación constante del agua, se añadieron lámparas LED de color rojo y azul que no sobrepasan los $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, la temperatura se mantuvo a 20 ± 2 °C y el pH en un rango que osciló entre 7,8 y 8,7.

Con el fin de evaluar la eficiencia fotosintética del sistema se determinó la concentración de pigmentos fotosintéticos , nutrientes (nitrato, fosfato y amonio) y fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* cada 2 días. Además, se determinó el peso seco al día de la cosecha (último día de cultivo) mediante un raspado a la superficie del reactor utilizando el mismo procedimiento que en la etapa de aclimatación. Esta biomasa resultante será utilizada para análisis posteriores.

3. Análisis fisiológicos

3.1. Cuantificación de clorofila *a*, c1+c2 y carotenoides totales

Siguiendo el protocolo de Strickland & Parsons (1972), se filtraron al vacío 10 ml de cultivo en filtros de nitrocelulosa de 0.45 μm , posteriormente el filtro fue colocado en tubos de vidrio de 12 mL adicionando a estos 5 ml de acetona al 90% v/v. Los tubos fueron envueltos en papel aluminio para ser dejados durante 24 horas a 4°C. Una vez pasado este tiempo, los tubos fueron centrifugados a 4000 rpm por 5 minutos a 4°C. Los extractos se cuantificaron mediante espectrofotometría en longitudes de onda (750;663;644;630;480;453 y 445 nm), las concentraciones de los pigmentos fueron determinadas por las expresiones matemáticas propuestas por Wegmann y Metzner (1971).

3.2. Peso seco

Una vez que los cultivos depuran la totalidad de los nutrientes se determinó su crecimiento en peso seco de biomasa por volumen de cultivo. Los cultivos se cosecharon mediante centrifugación durante 15 min a temperatura ambiente, luego se liofilizó la biomasa obtenida a -50°C y 100 militorr de presión durante 48 horas.

Para determinar el peso seco, previamente se deben secar los filtros de nitrocelulosa en una estufa a 80°C durante 24 horas. Una vez que se enfríen, se filtra un volumen conocido de cultivo y se secan en la estufa hasta obtener un peso constante. La diferencia entre el peso del filtro con y sin biomasa, dividida por el volumen de cultivo filtrado, corresponde al peso seco de la biomasa por unidad de volumen de cultivo (g L^{-1}).

3.3. Fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a*

Esta es una medida basada en la determinación de la fluorescencia de la clorofila *a* asociada al fotosistema II (P680) mediante fluorímetros de pulso de amplitud modulada (MINI PAM) controlado por el software WinControl v3.25 (Walz GmbH, Germany).

3.3.1. Rendimiento de la fotosíntesis *ex situ*

Para las medidas *ex situ* se recolectaron 10 mL de cultivo microalgal en tubos eppendorf de 15 mL donde se realizaron curvas de luz rápidas (RLC). Para determinar la fluorescencia basal (F_0) las muestras se mantuvieron en oscuridad durante 15 minutos, se le aplicaron pulsos de saturación para determinar la fluorescencia máxima (F_m) y con estos datos se determinó el rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) mediante la siguiente expresión matemática:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

$$\text{Donde: } F_v = F_m - F_0$$

La tasa de transporte de electrones (ETR) es un estimador de la capacidad fotosintética, esta se calcula como el producto del rendimiento cuántico efectivo ($\Delta F/F_m'$, obtenido de células adaptadas a luz) y la radiación PAR incidente (EPAR) y se expresa de la siguiente manera:

$$rETR = Y(II) \times EPAR = \Delta F/F_m' \times EPAR$$

Para calcular el rendimiento no fotoquímico (NPQ) se utilizó la siguiente expresión matemática:

$$NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$$

En donde F_m' , corresponde a la aplicación del pulso de luz de saturación después de 20 segundos de incubación para cada muestra y los valores ETR_{max} y NPQ_{max} , fueron determinados mediante el modelo matemático tangencial propuesto por Eilers & Peeters (1988).

3.3.2. Rendimiento de la fotosíntesis *in situ*:

Los datos de fluorescencia se registraron en diferentes puntos del sistema fotodepurador utilizando un fluorómetro portátil (MINIPAM, Walz GmbH, Alemania). El filamento óptico de medición (longitud de 30 cm y 1,5 mm de diámetro) junto con un sensor PAR esférico (US-SQS, Walz GmbH, Alemania) se sumergió a una profundidad de aproximadamente 3-5 mm para estimar la capacidad fotosintética en la zona fótica. La irradiancia ambiental EPAR (400–700 nm) y el rendimiento cuántico real de PSII, Y(II) [= (Fm' - F')/Fm'] se medirán aplicando 10 pulsos de luz saturada donde F' es la nivel de fluorescencia en estado estacionario medido en el cultivo adaptado a la irradiancia ambiental antes de la aplicación del pulso de saturación y Fm' es la fluorescencia máxima inducida por un pulso de luz saturante (Schreiber et al. 1995). La tasa relativa de transporte de electrones a través de PSII, rETR se calculará como el producto de Y(II) multiplicado por la irradiancia [= Y(II) × EPAR; en μmol de electrones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$]. Para determinar la tasa de transporte de electrones *in situ* (ETR*in situ*), utilizando lo siguiente como:

$$\text{ETR in situ } (\mu\text{mol electrones m}^{-2}\text{s}^{-1}) = \Delta F/Fm \times \text{EPAR} \times A \times \text{FII}$$

donde $\Delta F/Fm$ es el rendimiento cuántico efectivo, EPAR en cada pulso de luz expresado en $\mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$, A es la absortancia (unidades relativas) que es la fracción de luz absorbida por el cultivo y se medirá mediante un método utilizado de capa delgada de suspensión celular (3 mm) según la ecuación de la siguiente manera:

$$A = 1 - E_p / E_m$$

donde E_p/E_m es la transmitancia (T); E_p es la irradiancia transmitida por el cultivo de microalgas y E_m es la irradiancia transmitida por el medio de cultivo, ambas medidas con un sensor PAR corregido por coseno (LI-COR Company, Nebraska, EE. UU.). FII es la

porción de clorofila relacionada con el PSII (400-700 nm), siendo 0,5 en algas verdes, 0.8 para algas pardas y 0.15 para algas rojas (Figuerola et al., 2003).

4. Análisis bioquímicos

4.1. Determinación de la concentración de nutrientes en el sistema fotodepurador de capa fina

Cada dos días se recolectaron 10 mL de cultivo microalgal, los cuales se depositaron en tubos Eppendorf de 15 mL. Posteriormente, las muestras fueron filtradas al vacío utilizando filtros de nitrocelulosa de 0.22 μm y centrifugadas a 4000 rpm durante 4 minutos a 4°C. Para determinar las concentraciones de nitrato, fosfato y amonio se realizó mediante el test fotométrico de acuicultura Kit HI83303-01 (HANNA Instruments, USA).

4.2. Extracción y cuantificación de proteínas totales de la biomasa

Preliminar a la cuantificación de proteínas totales, se prepararon las siguientes soluciones con el procedimiento descrito por Lowry y colaboradores (1951):

- Solución A: Na_2CO_3 al 2% en NaOH 0,1M
- Solución B1: $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ al 0,5%
- Solución B2: Tartrato de Sodio y Potasio al 1%
- Solución C: 49 ml de solución A + 1 ml de solución B1 + 1 ml de solución B2
- Solución D: reactivo Folin-Ciocalteu 50% v/v

La biomasa seca correspondiente a cada tratamiento es depositada en tubos de vidrio de 12mL con 5ml de NaOH 0,1 M, posteriormente estos se agitaron en vortex durante 30 segundos. Los tubos mas el tubo de muestra control (NaOH) se incubaron a 100°C durante una hora en una placa calefactora y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Estas se agitaron en vortex durante 10 segundos, luego se colectó una alícuota de 1ml en tubos de microcentrífuga (Eppendorf) de 1,5 mL para ser centrifugadas a 7000 rpm por 15 minutos y finalmente se transfirió el sobrenadante a tubos nuevos. El sobrenadante fue repartido por triplicado en volúmenes de 250 μl a tubos de vidrio de 12 mL y se completo con 750 μl

de NaOH 0,1 M. A cada tubo se le agrego 1 mL de la solución C, se agitó en vortex y se incubo a temperatura ambiente por 10 minutos, a continuación se adicionaron 100 µl de la solución D, se agito en vortex y se incubo en oscuridad durante 30 minutos. Previo a realizar la lectura de absorbancias en espectrofotómetro a 750 nm, la solución del cultivo del reactor fue diluida con 10 µl de NaOH, para la luz azul se diluyó a la mitad, la luz roja fue diluída 300 µl en 1 mL. Las concentraciones de proteínas totales se calcularon de acuerdo a la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración construida previamente a partir de la proteína de referencia seroalbumina de bovino (BSA).

4.3. Extracción y cuantificación de lípidos totales

La biomasa seca fue depositada en viales de plásticos de 2mL con 1mL de metanol, se adicionaron 2 esferas de homogenización a cada tubo, estos son homogenizados en el equipo FastPrep-24: 8 ciclos a 4,0 m/s durante 20 segundos (se esperaron 5 segundos entre cada ciclo para enfriar los viales), el contenido de cada vial se transfirió a tubos de 12mL en donde las esferas de homogenizacion fueron lavadas con 2mL de metanol. Se agregó a cada tubo 1,5 mL de cloroformo y 0,8 mL de agua destilada, se homogenizaron en vortex por 30 segundos y se almacenaron durante 24 horas a 4°C. Una vez trascurrido este tiempo las muestras fueron centrifugadas a 3200 rpm por 10 minutos, el sobrenadante es transferido a nuevos tubos con una pipeta pasteur con la punta aguzada, a estos se le adicionaron 1,5 mL de cloroformo y 1,6 mL de agua destilada, se homogenizó en vortex durante 30 segundos y se centrifugó a 3200 rpm por 10 minutos. Empleando una pipeta pasteur se eliminó la fase acuosa superior de las muestras, posteriormente la fase cloroformica que es la inferior, es transferida a nuevos tubos de vidrio, a estos se le adicionó 500 uL de acetona, se dejaron en la estufa a 40 °C durante 3 días para evaporar el solvente. Pasado los dias la muestra es resuspendida con 1mL de cloroformo: metanol 1:2, se agitaron en vortex durante 30 segundos. A continuación se tomaron alícuotas de 50 uL por triplicado para el análisis de lípidos totales, se le adicionaron 2 mL de H₂SO₄ concentrado incluyendo el tubo sin lípidos para realizar el blanco. Los tubos se cubren con papel aluminio y se dejan en la estufa a 200 °C por 15 minutos, los tubos se retiran de la estufa y se dejan enfriar a -18°C por 5 minutos. Finalmente se agregaron 3 mL de agua, se agitaron con vortex por 8 segundos y se enfriaron los tubos a -18°C por 5 minutos. La absorbancia de cada muestra son leídas a 375 nm en un espectrofotómetro.

5. Análisis estadísticos

Los efectos interactivos sobre el crecimiento, los metabolitos y las respuestas de la fotosíntesis entre los tratamientos autótrofos a nivel de laboratorio y sistema fotodepurador se midieron mediante ANOVA (Underwood, 1997). El factor fue calidad de luz (con tres niveles). En cuanto a los efectos significativos, se considero valor de $p < 0,05$ para establecer significancia estadística de los datos. La interacción se evaluó con la prueba a posteriori de Tukey HSD. La homogeneidad de la varianza se probó mediante la prueba de Cochran y mediante inspección visual de los residuos (Underwood, 1997). Todos los datos se ajustaron a la normalidad y la homogeneidad de la varianza. Todos los análisis se realizaron con SPSS v.21 (IBM, EE. UU.).

Resultados

1. Primera etapa: exposición de la comunidad fitoplanctónica de la laguna Las Tres Pascualas a distintas calidades de luz

1.1. Concentración de pigmentos fotosintéticos

La clorofila *a* (Fig.2) obtuvo su máximo de concentración al cuarto día con el tratamiento de luz azul de 107 $\mu\text{g/L}$. En cambio, la menor concentración fue al décimo día con el tratamiento lumínico blanco de 18,3 $\mu\text{g/L}$. Los tratamientos expuestos a luz blanca, roja y azul a partir del cuarto día mostraron una disminución relativamente constante. La concentración inicial en luz roja es de 49,6 $\mu\text{g/L}$ y disminuyó a 38,45 $\mu\text{g/L}$ al décimo día, representando una disminución del 22,5 %. En cuanto a la calidad lumínica blanca, esta se redujo en un 57,9%. La prueba ANOVA reveló que si existen diferencias estadísticamente significativas en el cuarto día ($p < 0.05$)

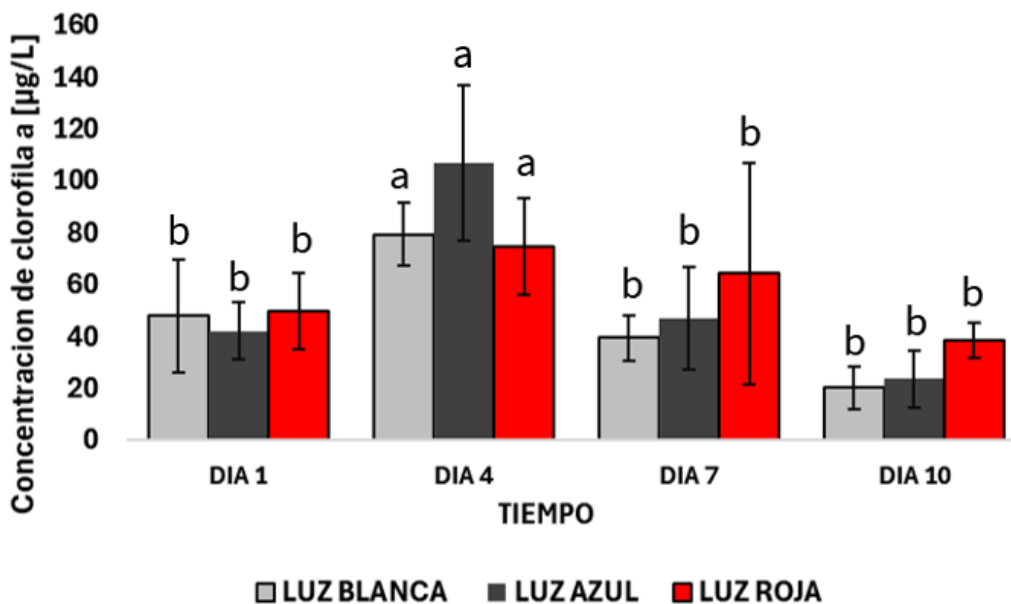


Figura 2: Concentración de clorofila *a*, a través del tiempo bajo calidades de luz roja, blanca y azul. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias estadísticas ($p < 0.05$)

La concentración de carotenoides totales (Fig.3) obtuvo su máximo al cuarto día bajo luz blanca con un 72,5 $\mu\text{g/L}$, esto significa que fue un 10,6% mayor que la luz azul y aproximadamente un 80 % de la luz roja. Se observa una tendencia general a disminuir las concentraciones a partir del cuarto día. La concentración inicial bajo luz azul fue de 36,1 $\mu\text{g/L}$ y presentó un valor de 29,6 $\mu\text{g/L}$ el último día de tratamiento (día 10). Bajo luz roja presentó una concentración inicial similar a luz azul con un 36,8 $\mu\text{g/L}$, finalizando con una concentración de 31,3 $\mu\text{g/L}$, lo que significa que disminuyó un 14,9%, siendo este el más bajo en comparación con los tratamientos restantes (18 % luz azul y 72% luz blanca). Los análisis de varianza indican que hay diferencias significativas entre los días ($p < 0.05$)

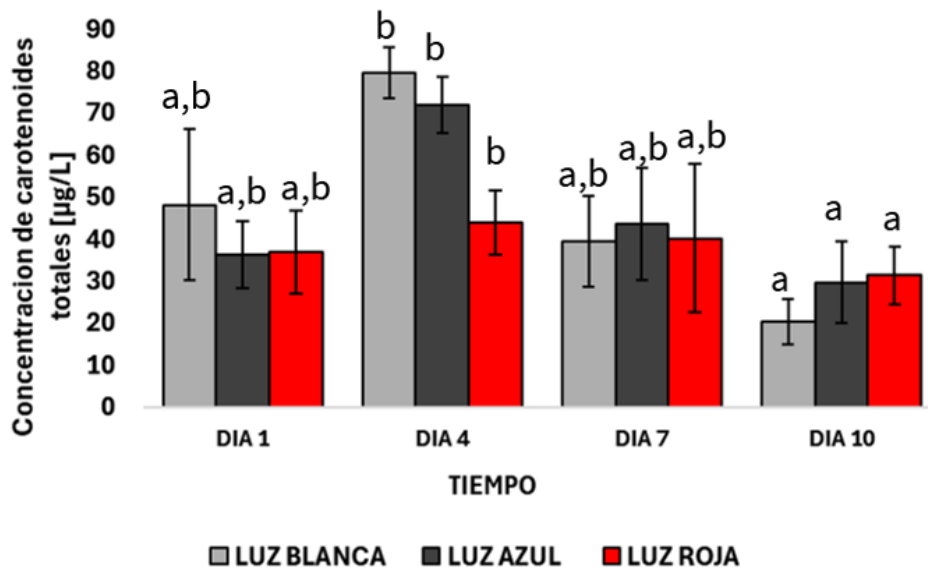


Figura 3: Concentración de carotenoides totales a través del tiempo bajo luz azul, roja y blanca. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indica que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$)

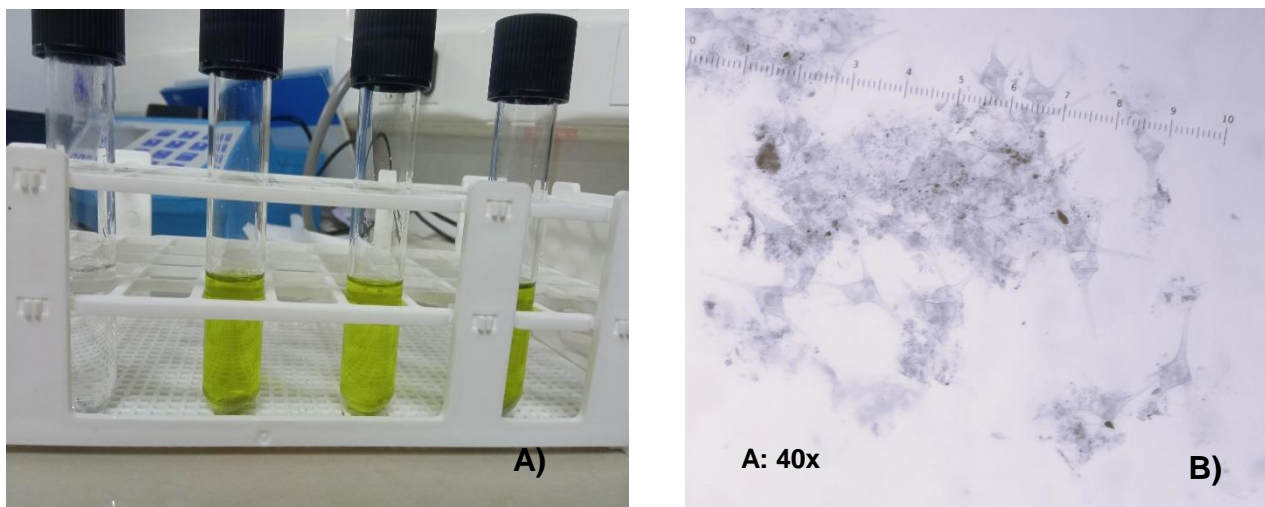


Figura 4: A) contenido de pigmentos fotosintéticos extraídos en tubos de ensayo correspondientes a la comunidad fitoplanctónica de la primera etapa. B) comunidad de microalgas sin pigmentos correspondientes a la primera etapa donde se observa principalmente diatomeas de agua dulce

1.2. Concentración de nutrientes

La concentración de nitrato (Fig.4) disminuyó en presencia de luz roja alcanzando $0,2 \mu\text{g/L}$, mientras que al cuarto día aumentó a $3,6 \mu\text{g/L}$. Sin embargo, estos valores disminuyen a cero en los días 7 y 10. El nitrato expuesto a luz azul presentó concentraciones relativamente homogéneas, al inicio obtuvo un valor de $3,4 \mu\text{g/L}$, seguido de $3,8 \mu\text{g/L}$ al cuarto día. En el caso de la luz blanca, se obtuvo un valor de $1,5 \mu\text{g/L}$ y al igual que la luz roja, tuvo un aumento significativo al cuarto día $6,6 \mu\text{g/L}$ para luego disminuir gradualmente a un valor de $0,6 \mu\text{g/L}$, lo que se traduce en una disminución del 60% respecto de la concentración final. No se evidenciaron diferencias significativas para los tratamientos lumínicos ($p > 0.05$)

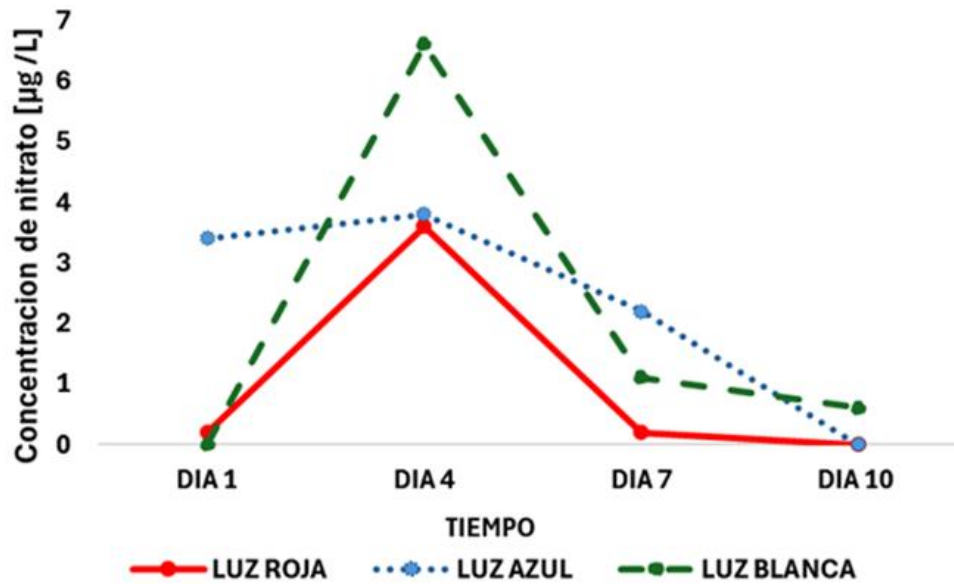


Figura 5: Concentración de nitrato [µg/L] bajo luz blanca, azul y roja

La concentración de fosfato (Fig.5) en presencia de la luz roja fue de 2,2 µg/L, reduciéndose a cero al día 10. El fosfato expuesto a luz azul tuvo una concentración inicial de cero, sin embargo, este aumentó rápidamente hasta que en el séptimo día alcanzó su máximo con un valor de 3 µg/L y se redujo a cero nuevamente en el último día. Por último, en luz blanca al igual que en luz azul, la concentración inicial es cero, sin embargo, aumenta al séptimo día obteniendo un valor de 3 µg/L hasta reducirse a cero. No se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos lumínicos ($p > 0,05$).

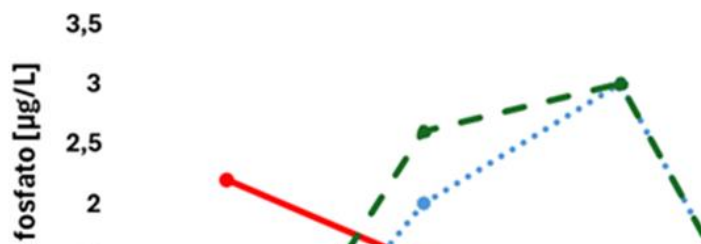


Figura 6: Concentración de fosfato [$\mu\text{g/L}$] bajo luz azul, blanca y roja.

1.3. Rendimiento fotosintético *ex situ*

El rendimiento cuántico óptimo (F_v/F_m) (Fig.6) bajo luz roja presenta un valor inicial de 0,5, al cuarto día este valor fue similar, mientras que el último día su valor disminuyó a 0,4. Por otro lado, en el tratamiento bajo luz azul el valor inicial es más elevado que en la luz roja registrando 0,7, los días restantes el rendimiento comenzó a reducirse alcanzando el valor mínimo de 0,4. El rendimiento bajo luz blanca al inicio es 0,5, al cuarto día disminuyó a 0,4.

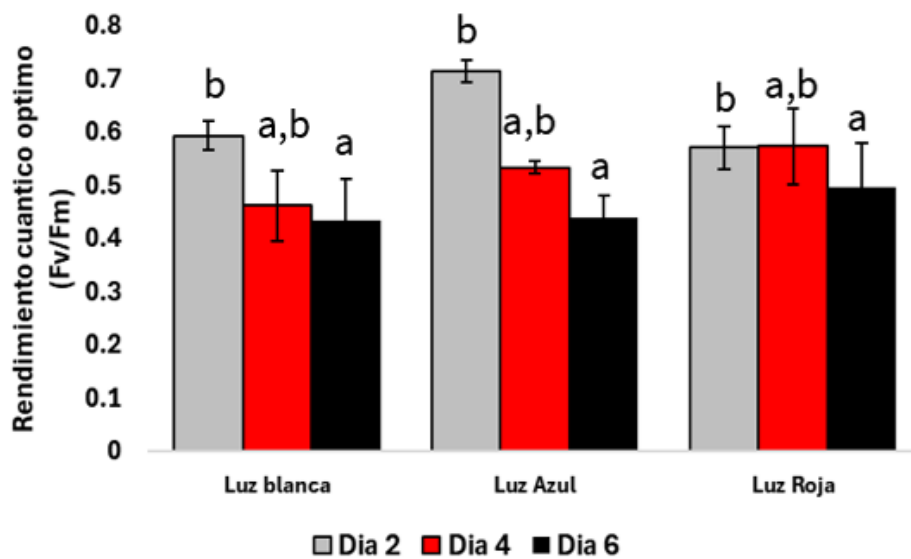


Figura 7: Rendimiento cuántico óptimo (F_v/F_m) bajo luz blanca, azul y roja. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

La tasa de transporte de electrones máxima (ETRmax) (Fig.7) en luz blanca presenta una reducción significativa a lo largo del tiempo, disminuyó de $316,2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a $130,1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en el sexto día. El ETRmax en presencia de luz azul presentó un valor inicial $553,4 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, al sexto día este valor se redujo a $68,7 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. En contraste con los tratamientos de luz blanca y azul, la luz roja muestra una variabilidad más notable, ya que en el día 6 aumentó su valor respecto del día 4.

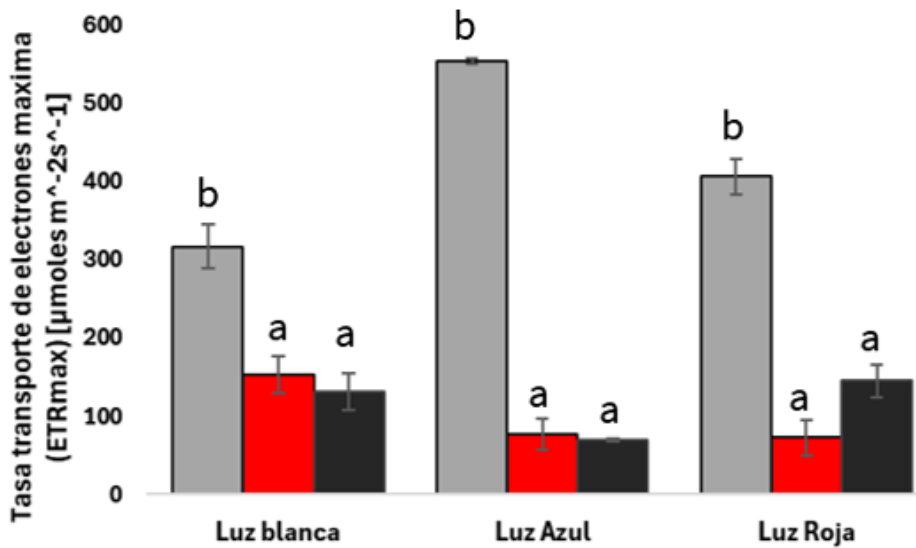


Figura 8: Tasa de transporte de electrones (ETRmax) bajo luz blanca, azul y roja. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

El rendimiento no fotoquímico máximo (NPQmax) (Fig.8) en el tratamiento de luz roja muestra una clara tendencia a reducirse progresivamente a lo largo del tiempo, presenta un valor inicial de 2,6 y un valor final de 0,6. Los valores de NPQ son más bajos en los días 4 y 6 comparados con el valor inicial del día 2 (2,7). En la calidad lumínica blanca, el NPQmax presenta elevados valores respecto a los tratamientos de luz azul y roja.

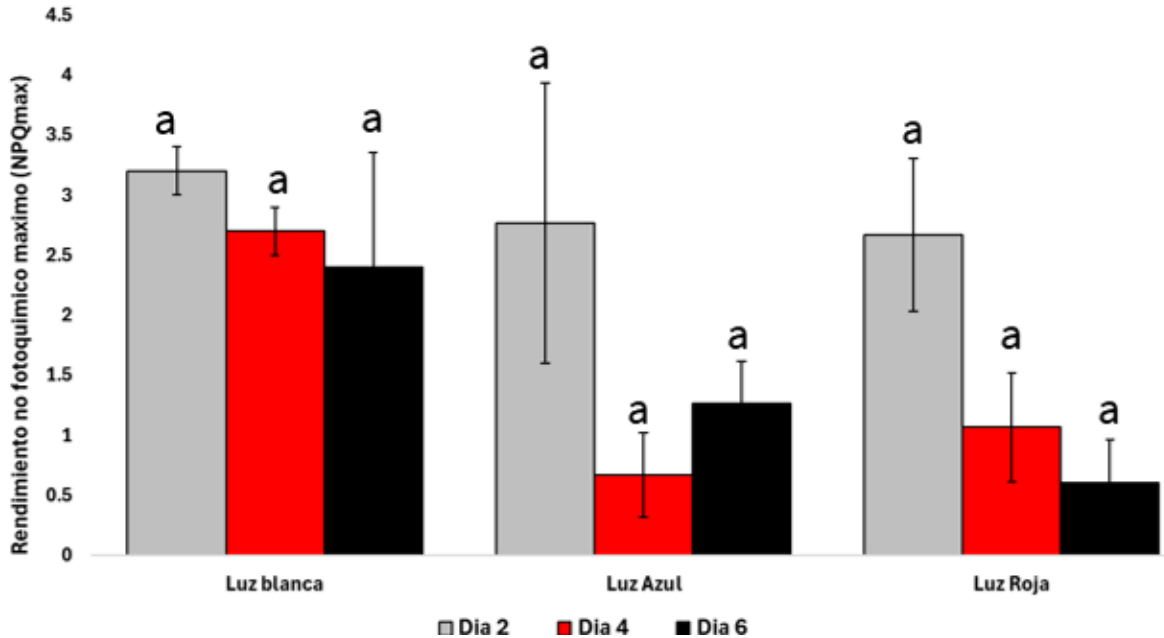


Figura 9: Rendimiento no fotoquímico máximo (NPQmax) bajo luz azul, roja y blanca. Las barras indican desviación estándar de la media. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$)

2.Segunda etapa: exposición de la comunidad fitoplanctónica de la laguna Las Tres Pascualas bajo las calidades lumínicas azul y roja en el sistema depurador de capa fina

2.1. Concentración de pigmentos

La concentración inicial de clorofila *a* en función de los nutrientes es $181,2 \mu\text{g/L}$ y su concentración final es $82.704 \mu\text{g/L}$, lo que representa un incremento aproximado de 456 veces. En un inicio el nitrato (Fig.9a) presentó un valor de $5,6 \mu\text{g/L}$ y al día 13 se redujo a $0,6 \mu\text{g/L}$. esto corresponde a una reducción del 89,2%. La Chl *a* en función del fosfato (Fig.9b) presenta una concentración inicial de $19,9 \mu\text{g/L}$ y al término del cultivo se observa un valor de $0,5 \mu\text{g/L}$, es decir que se consumió un 99,4%. El amonio (Fig.9c) presente en el sistema depurador fue considerablemente menor en comparación con el fosfato y nitrato. Presentó concentraciones homogéneas hasta el día 8, a partir de este se redujo a cero. Esto representa que se consumió en su totalidad al igual que el fosfato y nitrato.

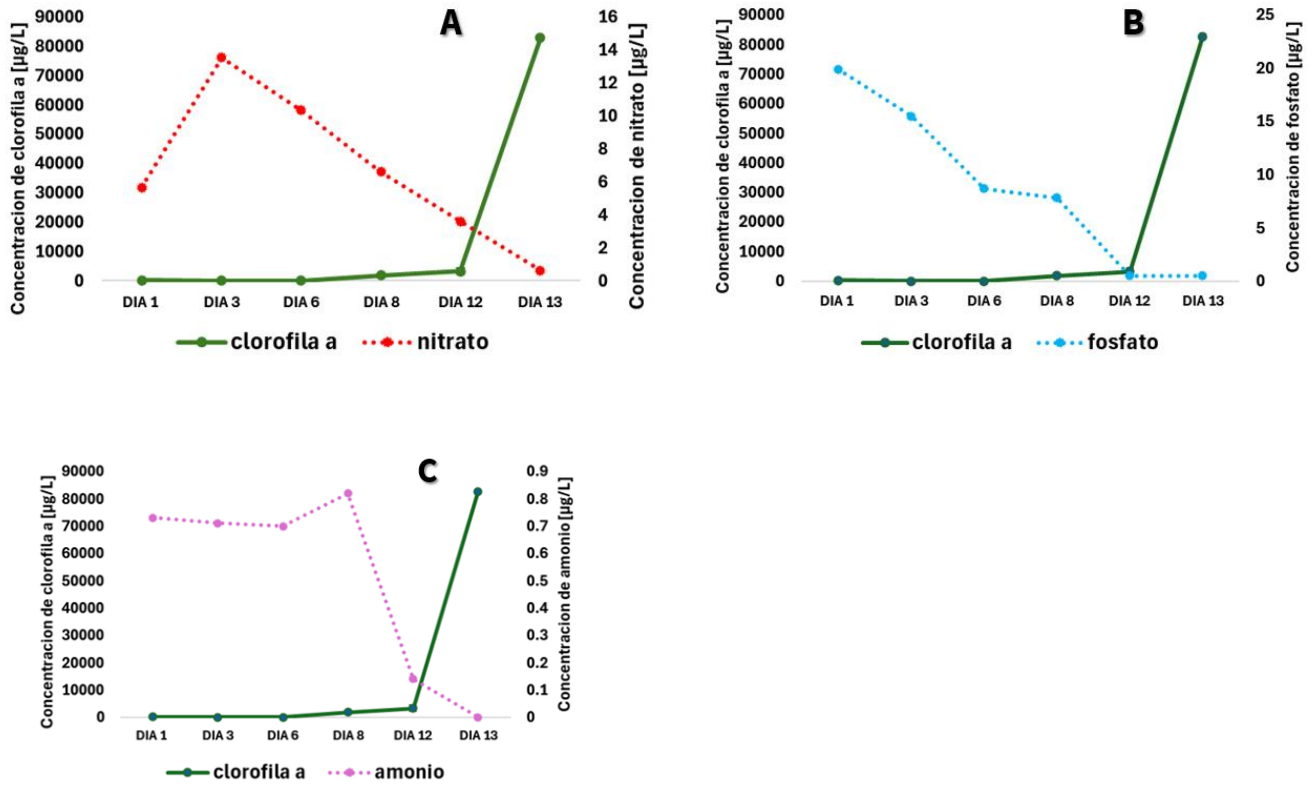


Figura 10: a) Concentración de clorofila a en función del nitrato. b) Concentración de clorofila a en función del fosfato. c) Concentración de clorofila a en función del amonio

La concentración de carotenoides totales en función de los nutrientes (Fig.10), tuvo un incremento aproximado de 402 veces respecto de su concentración inicial ($142 \mu\text{g/L}$).

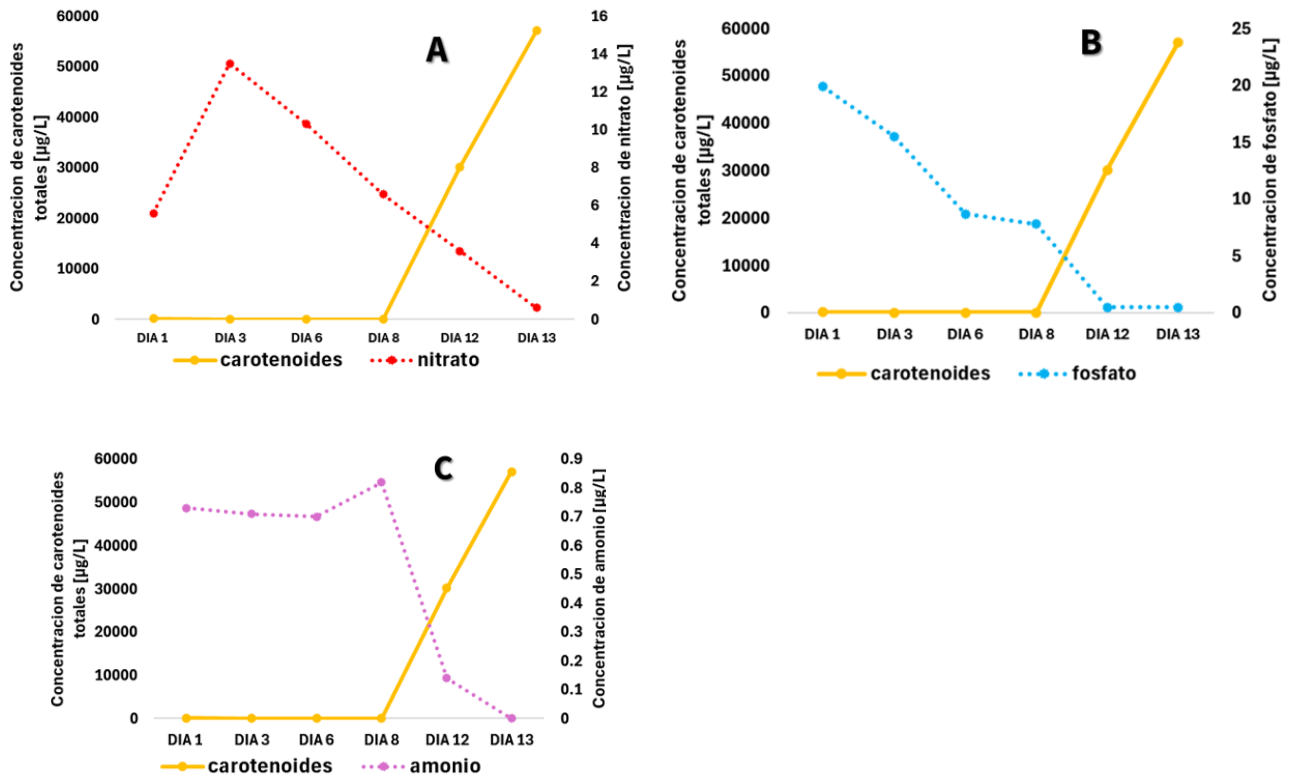
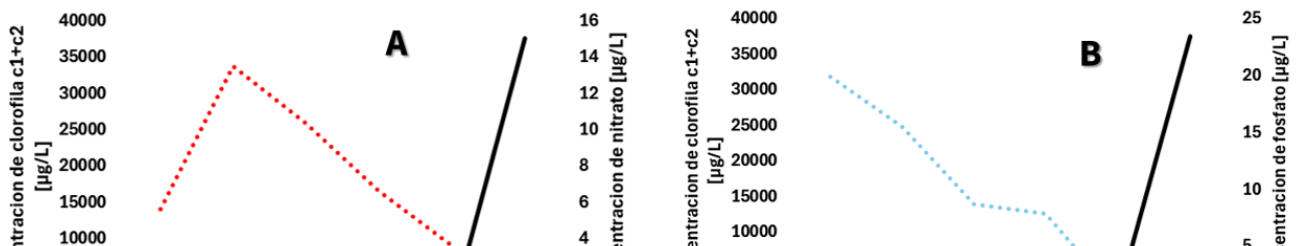


Figura 11: a) Concentración de carotenoides totales en función del nitrato. b) Concentración de carotenoides totales en función del fosfato. c) Concentración de carotenoides totales en función del amonio

La Chla c1+c2 en función de los nutrientes (Fig.11) obtuvo una concentración final de 37.476 µg/L, esto significa que aumento aproximadamente 832 veces respecto del valor inicial (45 µg/L).



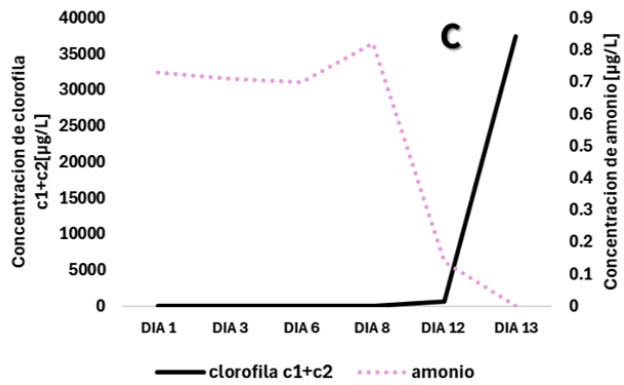
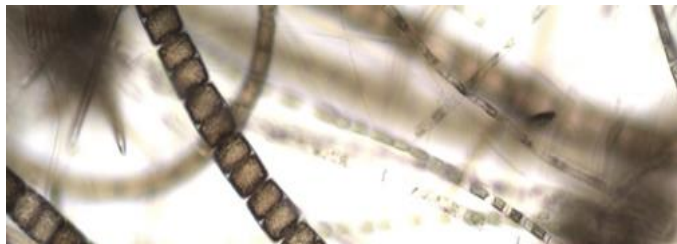


Figura 12: a) Concentración de clorofila c1+c2 en función del nitrato. b) Concentración de clorofila c1+c2 en función del fosfato. c) Concentración de clorofila c1+c2 en función del amonio



A)

B)

Figura 13: A) crecimiento de la comunidad fitoplanctónica en la base del fotobiorreactor de capa fina al sexto día de exposición. B) comunidad de microalgas del reactor vistas al microscopio

2.1. Rendimiento fotosintético *in situ*

El rendimiento cuantico efectivo (YII) (Fig.12a) inicial fue de 0,3, un rendimiento bajo respecto al día 4 que alcanzo un valor cercano a 0,7. Sin embargo a partir del octavo día el rendimiento se redujo a 0,4. La tasa de transporte de electrones relativa (ETRr) (Fig.12b) al igual que en el (YII) el rendimiento es relativamente bajo con un valor aproximado de 30 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, sin embargo la tasa aumenta significativamente al cuarto día con un valor de 70 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A partir de aquí los valores se reducen.

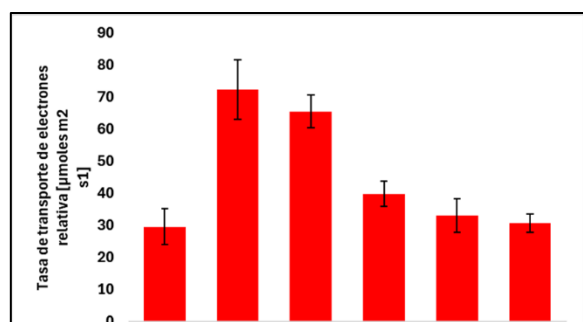
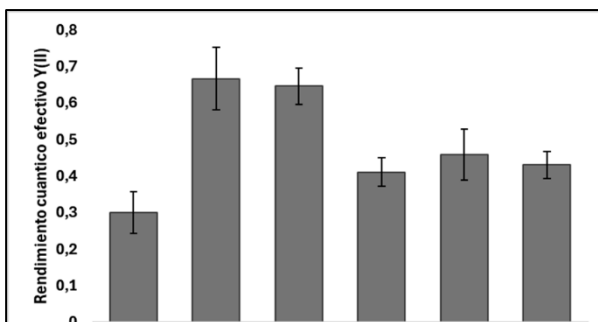


Figura 14: a) Rendimiento cuántico efectivo (YII). b) Tasa de electrones relativa (ETRr). Barras indican desviación estándar de la media.

2.1. Concentración de lípidos totales y proteínas

La cuantificación de lípidos totales a partir de la biomasa seca indicó que los cultivos bajo luz blanca inducen a una acumulación significativamente mayor respecto a los tratamientos lumínicos restantes con un 25,3%. Por otro lado, la luz azul es menos favorable, ya que su contenido es mucho menor. En cuanto a la concentración de proteínas totales, se observó que los cultivos bajo luz blanca y azul presentaron un porcentaje similar. Esto significa que ambas luces proporcionan una alta acumulación de proteínas. Mientras que, el tratamiento lumínico menos favorable fue bajo luz roja. No se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos y el contenido de proteínas.

El contenido lipídico en el sistema depurador es relativamente alto comparado con los tratamientos de luz y la concentración de proteínas es mayor. Esto sugiere que el sistema estimula la concentración de esta última.

Tabla 1: Contenido de lípidos totales y proteínas (%) a partir de la biomasa seca en los tratamientos lumínicos y en el fotobiorreactor. Superíndices con igual letra indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).

| Tratamiento | Lípidos totales % | Proteínas totales % |
|-------------|--------------------------|-------------------------|
| Luz blanca | 25,3 ± 0,08 ^b | 2,6 ± 0,01 ^a |
| Luz azul | 8,4 ± 0,03 ^a | 2,6 ± 0,05 ^a |
| Luz roja | 10,4 ± 0,08 ^b | 1,6 ± 0,01 ^a |

Discusión

En el presente estudio se evaluó el rendimiento fotosintético y la remoción de nutrientes de la comunidad de microalgas del lago eutrofizado Las Tres Pascualas, exponiendo este consorcio a una combinación de calidades lumínicas azul y roja en un sistema depurador de capa fina.

Los resultados preliminares obtenidos en la primera etapa indicaron que la influencia de la iluminación azul y roja estimula significativamente el crecimiento del cultivo microalgal, debido a que las concentraciones de pigmentos fotosintéticos son más elevadas que en el tratamiento bajo luz blanca. Estudios previos, como los de Borella et al. (2023) y Santos et al. (2023), han determinado mediante parámetros similares a los realizados en este trabajo en donde las calidades de luz azul y roja, efectivamente estimulan la actividad fotosintética de la microalgas. Esto, probablemente se deba a la presencia de microalgas verdes y diatomeas donde el espectro de acción que presenta la clorofila *a* y *c*, que absorbe eficientemente las longitudes de onda en los rangos 400 a 500 nm (azul) y 650 a 700 nm (rojo) (Kuczynska et al., 2015).

La principal función de la clorofila *b* al igual que el resto de pigmentos accesorios, es ampliar el rango de absorción de la luz en los organismos fotosintéticos además, ayuda a estabilizar y estructurar los complejos antena del fotosistema II (Kume & Nasahara, 2018). La ausencia de este pigmento sería un indicador de que especies está compuesta la comunidad de microalgas de la laguna Las Tres Pascualas que, como se observó en esta investigación una especie abundante es la diatomea *Ceratium sp.* de agua dulce. Este resultado es concordante ya que las diatomeas acumulan Chl *a* y *c* (Toledo, 2023).

La clorofila *c1+c2* tiene picos de absorción que suelen estar en el rango de 447-452 nm (azul) y 580-585 nm (rojo). Debido a la ausencia de una cadena de hidrocarburos, permite que este pigmento se acomode en diferentes ubicaciones dentro de los tilacoides, optimizando así la captación de luz en diferentes condiciones ambientales (Camacho-Rubio et al., 1987). Esta característica permite que la clorofila *c* cumpla funciones específicas en

la fotosíntesis de ciertos grupos de algas pardas, diatomeas y dinoflagelados (Montero et al., 2002; Valenzuela, 2008). Es por ello, que la presencia de este pigmento en el cultivo del fotobiorreactor es de gran relevancia, ya que permite saber la composición de especies de este grupo de microalgas.

Las concentraciones de nitrato y fosfato fueron absorbidos de manera eficiente bajo luz azul y roja, mientras que en luz blanca la remoción del nitrato fue de un 60%. Esto se debe a que las microalgas tienen sistemas de regulación que les permite adaptarse a cambios en la disponibilidad de nutrientes en el medio que se encuentran mediante procesos activos y pasivos mediados por transportadores enzimáticos específicos, lo que las hace altamente efectivas en la remoción de compuestos orgánicos contaminantes (Ávila, 2015). En literatura bibliográfica la tasa de remoción de estos agentes eutrofizantes son del 87,8% para el nitrato y el 98,4% para el fosfato (Mayhead et al., 2018).

Intensidades de luz muy elevadas son en la mayoría de los casos inhibitorias para el crecimiento microalgal, produciendo fotoinhibición. Esta depende de la intensidad y calidad de la luz, así como el tiempo de exposición. Sin embargo estos daños pueden verse intensificados por otros factores como la deficiencia de nutrientes o temperaturas extremas (Flores et al., 2003). El parámetro fotobiológico F_v/F_m es un estimador del rendimiento máximo fotosintético del PSII y una disminución de este indica que los cultivos están expuestos a condiciones desfavorables. Los resultados obtenidos bajo luz azul indicaron bajos niveles de fotoinhibición, ya que los valores oscilaron entre 0,7 y 0,5. Lo anterior, concuerda con los resultados obtenidos en la investigación realizada por Masojidek y colaboradores (2022), el cual afirma que valores inferiores a 0,5 representan un fotoestrés.

El ETR_{max} mostró valores elevados bajo luz roja y azul, alcanzó un flujo de electrones sobre $500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, en cambio el máximo valor fue de aproximadamente $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bajo luz blanca. El ETR_r en promedio fue de $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, significativamente menor que la tasa de transporte de electrones máxima. Contrastando estos resultados con los obtenidos en el estudio de Masojidek y colaboradores (2022), el ETR_r obtuvo valores que oscilaron entre los 272 y $672 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, indicando una tasa de producción fotosintética similar a la escala semiindustrial evaluada para la cianobacteria de interés comercial *Chlorella vulgaris*.

El rendimiento no fotoquímico (NPQ) disipa el exceso de energía en forma de calor ayudando a prevenir el daño fotooxidativo, asegurando así la estabilidad y eficiencia del proceso fotosintético. Esto indica que, a un elevado NPQ, mayor es el nivel de fotoprotección (Moreno, 2008). Por lo anterior, el rendimiento más eficiente fue bajo la luz roja y azul y es posible correlacionarlo con las concentraciones más altas de carotenoides totales debido a su participación en el ciclo de las xantófilas (Figuerola et al. 2021).

Las aguas residuales contienen grandes concentraciones de nitrógeno y fósforo, por lo que pueden ser utilizadas para cultivos algales. Estos organismos captan los compuestos disueltos que son metabolizados para su crecimiento y reproducción, obteniéndose una biomasa rica en nutrientes, que dependiendo su composición llega a utilizarse con distintos fines. Por ende, la biomasa cosechada en la primera etapa (cultivo bajo luz azul, blanca y roja) y en la segunda, podría llegar a ser revalorizada para su potencial uso como biofertilizante (Acién et al., 2018). Es por ello, que mediante análisis bioquímicos se determinó el porcentaje de contenido lipídico y de proteínas totales por cada tratamiento y escala de cultivo. Comparando el contenido de lípidos en función de la biomasa seca con literatura bibliográfica algunos valores son similares. De la luz blanca se obtuvo un 25 % de lípidos por biomasa seca, dicha concentración fue muy cercana a la de la especie *Chlamydomonas reinhardtii* (Arias et al., 2013). Por otro lado la luz roja y el fotobiorreactor están en un rango similar al de las especies *Tetradismus obliquus* y *Dunaliella tertiolecta* que tienen 16,6% y 11,44 % respectivamente (Arias et al., 2013). Otro estudio menciona que un alto contenido de lípidos en la biomasa no siempre es un indicador de que la especie se emplee como una fuente de lípidos, ya que aquellas que presentan un alto porcentaje se caracterizan por tener un crecimiento lento en cultivo por lo que la productividad sería menor. Un ejemplo de esto es la especie *Botryococcus braunii* (Montero et al., 2012). Existen diversas variables que afectan la composición bioquímica de las microalgas tales como, condiciones de cultivo, el diseño del fotobiorreactor, la variabilidad de una especie a otra, entre otras. Los estudios previamente reportados están enfocados en una especie conocida, lo que permite un mayor conocimiento del comportamiento de la especie en estudio. Sin embargo estudios en comunidades fitoplanctónicas con escasos antecedentes en literatura lo que dificulta su discusión.

Constratando los resultados obtenidos en el presente trabajo (Tabla 1), donde se obtuvo un 23,2% de proteínas totales por biomasa seca en el sistema depurador, la información recopilada en literatura como el trabajo de Andrade y colaboradores (2009), donde utiliza efluentes residuales de pescadería, la biomasa seca del cultivo para la cepa *Scenedesmus sp.* resulto tener un un 24,1% de contenido proteico destinado a usos agrícolas como bioestimulante.

Por otra parte, similares resultados desde el punto del desempeño fotosintético reportaron Chuka y colaboradores (2021), donde caracteriza que un sistema inclinado de capa fina de 5-7 mm, lo que resulta adecuado para cultivar grandes densidades de microalgas, ya que proporciona una trayectoria de luz mas corta lo que evita zonas de oscuridad, permitiendo elevar las tasas de fotosaturación.

Finalmente, en nuestro estudio se demuestra la ventaja de complementar la luz permitiendo incrementar el metabolismo fotosintético en su nivel óptimo mediante un sistema de capa fina, lo que lleva a la acumulación de compuestos a través de vías fotosintéticas, traduciéndose a una biomasa compuesta por diferentes metabolitos de interés comercial. Futuros estudios son necesarios para evaluar la heterogeneidad del consorcio microalgal en otras estaciones del año sobre el sistema de capa fina así como determinar su potencial bioestimulante en plantas de interés comercial (ej: tasa de germinación).

Referencias bibliográficas

- Abella, J. P., & Martínez, M. J. (2012). Contribución de un afluente tributario a la eutrofización del Lago de Tota (Boyacá, Colombia). *Revista Colombiana de Química*, 41(2), 243-262.
- Acevedo, J., Aguayo-Lobo, A., & Sielfeld, W. (2003). Eventos reproductivos del león marino común, *Otaria flavescens* (Shaw 1800), en el norte de Chile (Pacífico suroriental). *Revista de biología marina y oceanografía*, 38(2), 69-75.
- Acién Fernández, F. G., Gómez-Serrano, C., & Fernández-Sevilla, J. M. (2018). Recovery of nutrients from wastewaters using microalgae. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2, 59.
- Aguayo, A., & Maturana, R. (1973). Observación de mamíferos marinos durante la vigésima séptima Comisión Antártica Chilena.
- Almanza-Marroquín, V., Figueroa, R., Parra, O., Baeza, C., Yañez, J., & Urrutia, R. (2016). Limnological bases for the management of urban lakes in Concepción, Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(2), 313-326.
- Andrade, C., Vera, A., Cárdenas, C., & Morales, E. (2009). Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Rev. Tec. Ing. Univ. Zulia*, 32(2), 126-134.
- Arias Peñaranda, M. T., Martínez Roldán, A. D. J., & Cañizares Villanueva, R. O. (2013). Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. *Acta Biológica Colombiana*, 18(1), 43-68.

- Ascención Mendoza, J. C. (2018). Contenido de clorofila y carotenoides en relación a las horas luz en *Cedrela odorata* linneo.
- Ávila Peltroche, J. G. J. (2015). Evaluación de la remoción de nitratos y fosfatos a nivel laboratorio por microalgas libres e inmovilizadas para el Tratamiento Terciario de Aguas Residuales Municipales.
- Balvoa Luengo, J. E. (2017). Evaluación de variables físicas y químicas que explican el desarrollo de floraciones algales de *Microcystis* en la Laguna Lo Galindo, a través de la modelación numérica.
- Barrientos, R. G., Legarreta, I. G., Scaife, M. A., & López, R. E. A. Capítulo 11. Pigmentos marinos. % &, 328.
- Blankenship, R. E. (2021). *Molecular mechanisms of photosynthesis*. John Wiley & Sons.
- Borella, L., Marchese, D., Trivellin, N., & Sforza, E. (2023). Adaptación cromática complementaria como estrategia para aumentar la eficiencia de conversión energética de consorcios de microalgas-cianobacterias en fotobiorreactores LED continuos. *Conversión y Gestión de la Energía*, 294, 117549.
- Burgos, C. (2013). Eutroficación, técnicas de manejo y recuperación de lagos urbanos. *Trabajo de Titulación. Técnico Universitario en Control del Medio Ambiente. Universidad Técnica Federico Santa María, Sede Concepción, Rey Balduino de Bélgica.*
- Camacho-Rubio, F., Martínez-Sancho, M., & Sánchez-Villasclaras, F. (1987). Contenido de clorofila en *Chlorella pyrenoidosa* durante el crecimiento heterotrófico sobre monosacáridos. *Afinidad*, 44, 151-153.

- Capelluto, M. F. (2023). La epidemia de gripe aviar puede convertirse en una futura pandemia.
- Carril, E. P.-U. (2011). Fotosíntesis: aspectos básicos. *Reduca (Biología)*, 2(3).
- Castro-Varela, P.A., Celis-Plá, P.S.M., Abdala-Díaz, R. and Figueroa, F.L. (2021), Photobiological Effects on Biochemical Composition in *Porphyridium cruentum* (Rhodophyta) with a Biotechnological Application. *Photochem Photobiol*, 97: 1032-1042.
- Chuka-ogwude, D., Ogbonna, J. C., & Moheimani, N. R. (2021). Depth optimization of inclined thin layer photobioreactor for efficient microalgae cultivation in high turbidity digestate. *Algal Research*, 60, 102509.
- Clagnan, E., Dell'Orto, M., Štěrbová, K., Grivalský, T., Manoel, J. A. C., Masojídek, J., D'Imporzano, G., Acién-Fernández, F. G., & Adani, F. (2023). Impact of photobioreactor design on microalgae-bacteria communities grown on wastewater: differences between thin-layer cascade and thin-layer raceway ponds. *Bioresource Technology*, 374, 128781.
- Corona-Lisboa, J. L. (2013). Contaminación antropogénica en el lago de Maracaibo, Venezuela. *Biocenosis*, 27(1-2).
- Crespo, E., Oliva, D., Dans, S., & Sepúlveda, M. (2012). Estado de situación del lobo marino común en su área de distribución. *Editorial Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile*.
- De, L., & Veloso, A. C. (1998). Pigmentos. *Microbiología*, 40(1-2), 87.
- Edding, M., Tala, F., & Vásquez, J. (2006). Fotosíntesis, productividad y algas marinas. *Fisiología Vegetal. Ediciones Universidad de La Serena*, 1-39.

- Eilers, P. H. C., & Peeters, J. C. H. (1988). A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. *Ecological modelling*, 42(3-4), 199-215.
- Escobedo, M. J., & Calderón, A. C. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Scientia Agropecuaria*, 12(2), 265-282.
- Fernández, J. L. S. (2018). *Cultivo de microalgas en aguas residuales y aprovechamiento energético de la biomasa algal* [Universidade de Vigo].
- Flores, C. C., Peña-Castro, J. M., Flores-Cotera, L. B., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 28(8), 450-456.
- Forster, R., & Dring, M. (1994). Influence of blue light on the photosynthetic capacity of marine plants from different taxonomic, ecological and morphological groups. *European Journal of Phycology*, 29(1), 21-27.
- García, R. R., & Collazo Ortega, M. (2006). *Manual de prácticas de fotosíntesis*. Unam.
- Goncalves, J. F. d. C., Marengo, R. A., & Vieira, G. (2001). Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13, 149-157.
- González Sepúlveda, E., Retamal Cifuentes, M., Medina Pedreros, V., Ahumada Bermúdez, R., & Neira Hinojosa, J. (2009). Enriquecimiento, disponibilidad y contaminación de metales traza (Cd, Cu, Pb y Zn) en sedimentos de lagunas urbanas de Concepción-Chile. *Química Nova*, 32, 902-907.
- Hall, D. O., & Rao, K. (1999). *Photosynthesis*. Cambridge University Press.

- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173.
- Kuczynska, P., Jemiola-Rzeminska, M., & Strzalka, K. (2015). Photosynthetic pigments in diatoms. *Marine drugs*, 13(9), 5847-5881.
- Kume, A., Akitsu, T., & Nasahara, K. N. (2018). Why is chlorophyll b only used in light-harvesting systems? *Journal of Plant research*, 131, 961-972.
- López-Serna, R., Franco, B., Bolado, S., & Jiménez, J. J. (2024). Removal of contaminants of emerging concern from pig manure in different operation stages of a thin-layer cascade photobioreactor. Relationship with concentrations in microalgae and manure. *Journal of Environmental Management*, 354, 120340.
- Masojídek J, Gómez-Serrano C, Ranglová K, Cicchi B, Encinas Bogeat Á, Câmara Manoel JA, Sanches Zurano A, Silva Benavides AM, Barceló-Villalobos M, Robles Carnero VA, et al. Photosynthesis Monitoring in Microalgae Cultures Grown on Municipal Wastewater as a Nutrient Source in Large-Scale Outdoor Bioreactors. *Biology*. 2022; 11(10):1380.
- Mayhead, E., Silkina, A., Llewellyn, C. A., & Fuentes-Grünewald, C. (2018). Comparing nutrient removal from membrane filtered and unfiltered domestic wastewater using *Chlorella vulgaris*. *Biology*, 7(1), 12.
- Meisel, L., Urbina, D., & Pinto, M. (2011). Fotorreceptores y respuestas de plantas a señales lumínicas. *Fisiología vegetal. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile*, 18, 1-10.
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(2), 109-117.

- Montero, O., Garcia, C. S., Sierra, G. P., & Lubián, L. M. (2002). Fotoinhibición y recuperación de cinco microalgas con clorofila c tras breves exposiciones selectivas a la radiación solar. *Ciencias marinas*, 28(3), 223-236.
- Moreno, S. G., Vela, H. P., & Alvarez, M. O. S. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(4), 119-129.
- Motten, A. F. (1995). Diversity of photosynthetic pigments. Tested studies for laboratory teaching. Proceedings of the workshop/conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE),
- Muñiz, R. (2019). Los fotobiorreactores de microalgas: Un recurso para el tratamiento terciario de aguas residuales. *Tekhné*, 22(3).
- Parra, O. (2009). Situación ambiental de las lagunas de Concepción. *Seminario “recuperemos las lagunas para los habitantes de concepción”*. Concepción, Chile: *Municipalidad de Concepción, ESSBIO, Universidad de Concepción, Centro EULA*.
- Parsy, A., Monlau, F., Guyoneaud, R., & Sambusiti, C. (2024). Nutrient recovery in effluents from the energy sectors for microalgae and cyanobacteria biomass production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 191, 114207.
- Pavés, H. J., & Schlatter, R. P. (2008). Temporada reproductiva del lobo fino austral, *Arctocephalus australis* (Zimmerman, 1783) en la Isla Guafo, Chiloé, Chile. *Revista chilena de historia natural*, 81(1), 137-149.
- Pavés, H. J., Schlatter, R. P., & Espinoza, C. I. (2005). Patrones reproductivos del lobo marino común, *Otaria flavescens* (Shaw 1800), en el centro-sur de Chile. *Revista chilena de historia natural*, 78(4), 673-686.

- Pérez-Pazos, J.-V., & Fernández-Izquierdo, P. (2011). Synthesis of neutral lipids in *Chlorella* sp. under different light and carbonate conditions. *CT&F-Ciencia, Tecnología y Futuro*, 4(4), 47-58.
- Portillo, F., & Jiménez, A. M. (2021). Pigmentos en microalgas: funciones, aplicaciones y técnicas de sobreproducción. *Biotecnol. Soc. Mex. Biotecnol. y Bioingeniería*, 25, 35-51.
- Pozo, J. C. M. (2008). *La eutrofización de los lagos y sus consecuencias*. Ibarra Universidad técnica del Norte.
- Proença, L. d. O., Tamanaha, M. S., & Souza, N. (2001). The toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* Graham in southern Brazilian waters: occurrence, pigments and toxins. *Atlântica*, 23, 59-65.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Lagos, M. D., & Jimenez, E. E. G. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo: I2+ D*, 16(2), 66-77.
- Roque, P. D. N. L. Reseña Académica. *Nota legal*, 94.
- Santos Montes, A. M., González Arechavala, Y., & Martín Sastre, C. (2014). Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas.
- Schiavini, A. (1993). Los lobos marinos como recurso para cazadores-recolectores marinos: el caso de Tierra del Fuego. *Latin American Antiquity*, 4(4), 346-366.
- Sepúlveda, M., Oliva, D., Urra, A., Pérez-Alvarez, M. J., Moraga, R., Schrader, D., Inostroza, P., Melo, A., Díaz, H., & Sielfeld, W. (2011). Distribución y abundancia

del lobo marino común *Otaria flavescens* (Carnivora: Otariidae) en la costa de Chile central. *Revista chilena de historia natural*, 84(1), 97-106.

Strickland, J. D. H. (1972). *Practical Handbook of Seawater Analysis*. Fisheries Research Board of Canada, 310.

Underwood, A. J. (1997). *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge university press.

Uruguay, R. (2010). Contaminación y eutrofización del agua. *Impactos del Modelo de Agricultura Industrial. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAPAL): Montevideo*, 36.

Valenzuela Espinoza, E. Razón de pigmentos accesorios/clorofila a, consumo de nutrientes y composición celular de tres especies de microalgas marinas cultivadas en diferentes condiciones de luz y nutrientes.

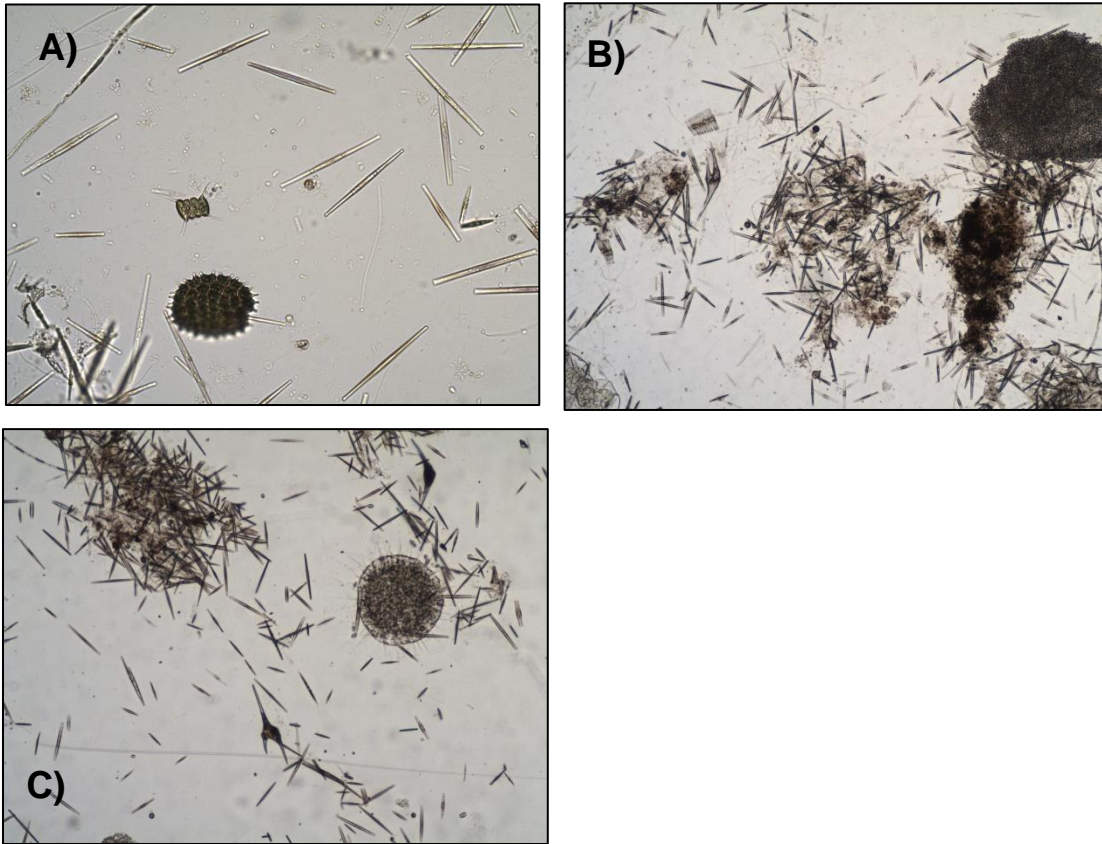
Vela-García, N., Guamán-Burneo, M. C., & González-Romero, N. P. (2019). Biorremediación eficiente de efluentes metalúrgicos mediante el uso de microalgas de la amazonía y los andes del Ecuador. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(4), 917-929.

Villarro, S., Sánchez-Zurano, A., Ciardi, M., Alarcón, F. J., Clagnan, E., Adani, F., Morillas-España, A., Álvarez, C., & Lafarga, T. (2022). Production of microalgae using pilot-scale thin-layer cascade photobioreactors: Effect of water type on biomass composition. *Biomass and Bioenergy*, 163, 106534.

Ximenez, I. (1976). Dinámica poblacional de *Otaria flavescens* (Shaw) en el área de península Valdés y zonas adyacentes. *Provincia de Chubut, República Argentina. Centro Nacional Patagónico, Informe Técnico*, 1(1), 52.

Zapata, G. L. V. (2012). Metodología para determinar niveles de eutrofización en ecosistemas acuáticos. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 1(24).

Anexo



Anexo 1: Imágenes correspondientes a la primera etapa. A) Muestra microalgal correspondiente al tratamiento lumínico azul. B) Muestra microalgal perteneciente al tratamiento bajo luz blanca. C) Muestra microalgal bajo luz roja



Anexo 10: Imágenes segunda etapa. A) Muestra microalgal día 4. B) Muestra microalgal día 6. C) Muestra microalgal día 12