

# MICROALGAS EN ESTANQUES DE TILAPIA Y SU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO, AMBIENTAL E INDUSTRIAL

Narcy Villalobos\*  
Carola Scholz\*\*

Recibido: 12-02-2013 Aceptado: 22-03-2013

## RESUMEN

Las microalgas han sido ampliamente estudiadas a nivel mundial, sin embargo en el trópico hacen falta más estudios relacionados con su identificación y posibles usos biotecnológicos. Los estanques de tilapias son ecosistemas artificiales con un alto potencial para la identificación de estas microalgas, debido a que sus condiciones físico-químicas son muy estables durante el año. En esta investigación se encontraron 31 especies de microalgas en los estanques de tilapia de la Estación Biológica de 28 Millas en Limón, muchas de las cuales han sido reconocidas por sus aplicaciones biotecnológicas. Esto posiciona a Costa Rica, como un sitio en donde es posible encontrar microalgas de interés en esta línea de investigación.

**PALABRAS CLAVE:** • Microorganismos • Cianobacterias • Algas verdes • Cultivos de tilapia

## ABSTRACT

Microalgae have been extensively studied worldwide in the tropics but more studies are needed regarding identification and potential biotechnological applications. Tilapia ponds are artificial ecosystems with a high potential for the identification of these microalgae, because their physical and chemical conditions are very stable during the year. This research found 31 species of microalgae in tilapia ponds of the Biological Station of 28 miles in Limon, many of which have been recognized for their biotechnological applications. This places Costa Rica as a place where you can find microalgae of interest in this line of research.

**KEY WORDS:** • Microorganisms • Cyanobacteria • Green algae • Tilapia culture

## INTRODUCCIÓN

Las microalgas de agua dulce han sido ampliamente estudiadas desde diferentes perspectivas. En términos ecológicos, estos microorganismos contribuyen con aproximadamente el 40% al 50% del oxígeno en la atmósfera, así como también se consideran una fuente de carbono fósil y de gas

natural (Andersen, 2005). Es posible encontrarlas en una gran variedad de hábitats como: suelo, agua, charcos temporales y hasta ambientes extremos como aguas termales o sulfurosas (López y Juana, 2005). En ambientes marinos, las microalgas, se convierten en la fuente primaria de nutrientes, por lo que se les considera la base de la cadena alimenticia. Sin embargo, la mayor abundancia y

\* Profesora e Investigadora, encargada del Laboratorio de Biotecnología de Microalgas. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Apdo. 86-3000, Heredia, Costa Rica; narcyvs@gmail.com

\*\* Profesora e Investigadora, encargada del Laboratorio de Botánica. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Apdo. 86-3000, Heredia, Costa Rica; scholzcarola@gmail.com

diversidad de las mismas, se encuentra en ambientes de agua dulce, sobre todo cuando se hace referencia a divisiones como Chlorophyta y Charophyta (Smith, 1950, citado por Wehr & Scheath, 2003).

Taxonómicamente hablando y debido a la gran diversidad de formas que presentan las microalgas, su clasificación varía según el autor. En general es posible encontrar representantes en los siguientes grupos: Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas rojas) y Phaeophyta (algas pardas) (Peña, Palacios y Ospina-Alvarez, 2005). Un caso muy particular ha sido el de las cianobacterias, que algunos autores clasifican como bacterias, por las características biológicas y químicas de las células que las forman. Pese a ello, las características particulares de cada grupo de microalgas, sobre todo están relacionadas con la presencia de pigmentos y en menor medida, por su estructura y forma (Wydrzycka, 2009).

Las microalgas son organismos que han despertado un gran interés científico en las últimas décadas, debido a su potencial biotecnológico y comercial, ya que son una fuente importante de una amplia gama de compuestos químicos, pigmentos, aceites, polisacáridos y a la vez, son útiles para el tratamiento de aguas residuales, entre otras aplicaciones (Martínez *et al.*, 2005). En la actualidad, la investigación referente a este grupo de organismos, está relacionada principalmente con la producción

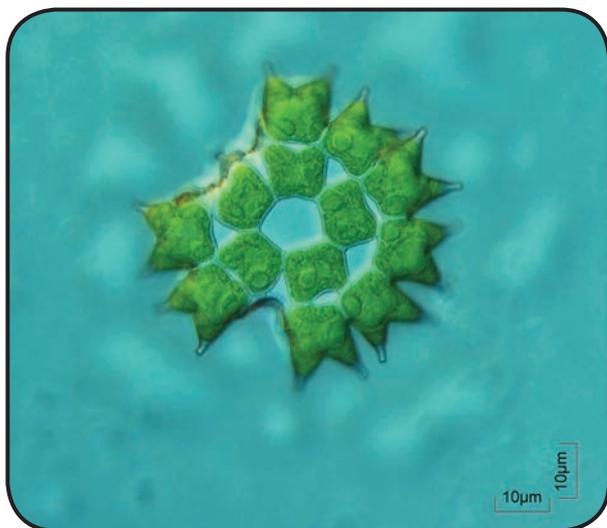


de biomasa para la extracción de metabolitos secundarios, pero también su uso se extiende hacia la producción de alimento para animales y biofertilizantes, específicamente en cultivos de interés agronómico (Masojidek & Torzillo, 2008). Sumado a esto, en los últimos años, varias especies han sido estudiadas con mayor detenimiento con el fin de producir energía con emisiones bajas en dióxido de carbono (Torzillo, 2008).

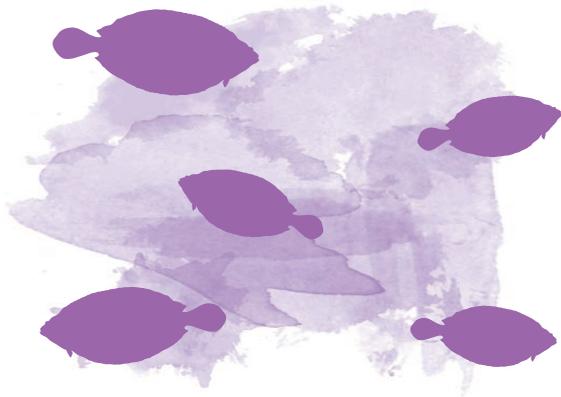
Los ecosistemas artificiales como los estanques de tilapia, representan sitios productivos muy estables, en donde es posible encontrar diferentes especies de microalgas debido a las características químicas del agua. La presencia de microalgas en estos sitios ha sido poco estudiada a pesar de la importancia que estos microorganismos tienen para el ambiente y la industria. Es por eso que el propósito de esta investigación fue identificar especies de microalgas en los estanques productivos de tilapia, con el fin de analizar las posibles aplicaciones biotecnológicas que éstas puedan tener para la sociedad costarricense y mundial.

## METODOLOGÍA

Se realizaron muestreos mensuales durante un año en los estanques de tilapia de la Estación Biológica de 28 Millas en Limón (Figura 1). Este sitio pertenece a la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional y tiene un gran impacto a nivel de las comunidades cercanas, ya que además de proporcionar empleo a los lugareños, también propicia el comercio de tilapia con las zonas cercanas y esto le permite, crear insumos que le ayudan a generar una serie de proyectos. La Estación se compone de veinte hectáreas, de las cuales cinco están cubiertas por espejos de agua. Cuenta con



*Pediastrum* sp.



aproximadamente 24 estanques de tilapias activos y una batería experimental de ocho estanques. Cinco fueron seleccionados para realizar el muestreo y además se midieron parámetros físico-químicos en el sitio. Se elaboró una lista de especies presentes en los estanques y se determinó en la literatura, sus posibles aplicaciones biotecnológicas ambientales e industriales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros físico-químicos evaluados en los estanques durante el periodo de muestreo presentaron muy pocas variaciones (Cuadro 1).

Los resultados anteriores eran de esperarse para un sistema artificial de cultivo semi-intensivo, el cual mantiene las condiciones productivas muy constantes a lo largo del año, esto hace que las condiciones para el crecimiento de las microalgas sean similares a lo largo del ciclo de cultivo de la tilapia.

En total se identificaron 31 especies de microalgas a nivel de género (Cuadro 2). En cuanto a su variación en los estanques; ésta fluctuó entre 9 a 20 especies/géneros de microalgas por estanque, además algunas con una distribución más amplia y presentes en varios estanques como *Oscillatoria* y *Scenedesmus* y otras solo en uno como el caso de *Anabaena* y *Tetraedron*.

CUADRO 1

Parámetros físico-químicos evaluados en los estanques de tilapia en la Estación 28 Millas, Limón, Costa Rica

Nitritos (mg/L)	Nitratos (mg/L)	Fosfatos (mg/L)	Amonio (mg/L)
0,5*	0,02*	0,04*	0,08*

\* Promedio de 4 muestreos.

CUADRO 2

Presencia de especies de microalgas en los tanques de tilapias en la Estación Experimental 28 Millas, Limón del 2010 al 2011.

Género/Especie	Estanques				
	A	B	C	D	E
<i>Anabaena</i>	X				
<i>Anabaena violeta</i>	X	X			
<i>Ankistrodermus</i>	X		X	X	X
<i>Aphanathece</i>					X
<i>Calotrix</i>	X		X		X
<i>Chlamydomonas</i>					X
<i>Chlorella</i>	X	X	X	X	X
<i>Chlorococum</i>					X
<i>Closterium</i>				X	
<i>Coelastrum</i>					X
<i>Crucigenia</i>		X			
<i>Cyclotella</i>			X		X
<i>Desmodesmus</i>	X	X		X	X
<i>Dictyosphaerium</i>					X
<i>Gleocapsa</i>					X
<i>Gomphoena</i>			X		
<i>Gomphosphaeria</i>			X		
<i>Kirchneriella</i>	X				X
<i>Merismopedia</i>					X
<i>Navicula</i>		X		X	X
<i>Nitzschia</i>		X	X	X	X
<i>Oscillatoria</i>	X	X	X	X	X
<i>Pediastrum</i>	X		X	X	
<i>Phormidium</i>	X		X		
<i>Pseudoanabaena</i>		X	X		X
<i>Scenedesmus</i>	X	X	X		X
<i>Selenastrum</i>			X	X	X
<i>Stauroneis</i>		X			
<i>Tabellaria</i>					X
<i>Tetraedron</i>			X		
<i>Ulotrix</i>	X				
<b>Total por estanque</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>20</b>

La presencia de microalgas en los estanques está directamente relacionada con la disposición de nutrientes en los mismos. La diferencia entre la frecuencia de aparición de las mismas puede deberse a la metodología de aislamiento a nivel de laboratorio, más que a su presencia en los estanques; esto significa que a pesar de que algunos géneros o especies no fueron detectados, podrían encontrarse en ellos. Lo anterior debido a que en muchos casos, la aparición de microalgas se ve favorecida por microcondiciones ambientales propias de los estanques o por la capacidad intrínseca de estos microorganismos para formar estructuras de resistencia, que las hace superar las condiciones desfavorables. A pesar de ello, hubo una buena detección de especies importantes para la biotecnología, tanto a nivel ambiental como industrial, lo cual refuerza la idea de que nuestro país, al igual que otros países tropicales, es una

fuelle de especies potenciales en esta línea.

Muchas especies de microalgas han sido aisladas de ambientes naturales y se encuentran en estos momentos en colecciones muy consultadas. Sin embargo, son pocas las especies que han podido ser cultivadas a mayor escala en sistemas de producción de biomasa (Masojidek & Prasil, 2010). De acuerdo con Walker *et al.*, (2005) de un total aproximado de 200 000 a 800 000 especies de microalgas que podrían existir, solamente unas pocas han sido descritas en la literatura. En consecuencia, el potencial que éstas puedan tener es enorme, a pesar de que en nuestro país la información referente al tema es escasa. Como lo señalan Silva, Sili y Torzillo (2008) es necesario ampliar la información referente a las especies que se puedan encontrar, tanto en condiciones naturales en los ecosistemas como en cultivos en el laboratorio. Un resumen de algunos géneros encontrados en esta investigación con



FIGURA 1. Estanques de tilapia en la Estación Biológica 28 Millas, en Limón.

### CUADRO 3

Productos y aplicaciones biotecnológicas de algunas microalgas presentes en estanques de tilapias, Estación Experimental 28 Millas, Limón

Microalga/Género	Productos/Aplicaciones	Referencias
<i>Anabaena</i>	Remoción de hormonas (estrone, 17 $\alpha$ -ethinyloestradiol, and 17 $\beta$ -estradiol)	Shi <i>et al.</i> , 2010
<i>Ankistrodermus</i>	Producción de biodiesel; tratamiento de aguas residuales	Mata <i>et al.</i> , 2010; Mustafa <i>et al.</i> , 2012
<i>Chlamydomonas</i>	Producción de biofloculantes; Producción de proteínas recombinantes	Zhu <i>et al.</i> , 2012; Griesbeck <i>et al.</i> , 2006
<i>Chlorella</i>	Remoción de cromo (*); producción de carotenoides y lípidos; tratamiento de aguas residuales	Shukla <i>et al.</i> , 2012; Campenni 'L <i>et al.</i> , 2012; Mata <i>et al.</i> , 2010; Wang <i>et al.</i> , 2010; Aguirre <i>et al.</i> , 2011; Mustafa <i>et al.</i> , 2012
<i>Desmodesmus</i>	Tratamiento de aguas residuales y producción de biodiesel	Craggs <i>et al.</i> , 2012
<i>Oscillatoria</i>	Remoción de cromo (*)	Shukla <i>et al.</i> , 2012
<i>Pediastrum</i>	Tratamiento de aguas residuales	Park & Craggs, 2010
<i>Phormidium</i>	Remoción de cromo (*)	Shukla <i>et al.</i> , 2012
<i>Scenedesmus</i>	Producción de lípidos/ biodiesel; Biorremediación (Biosorción de biodiesel)	Lopes da Silva <i>et al.</i> , 2009; Aguirre <i>et al.</i> , 2011; Kaewkannetra <i>et al.</i> , 2012; Mishra & Mukherji, 2012; Mustafa <i>et al.</i> , 2001

(\*) Consorcio de tres microalgas

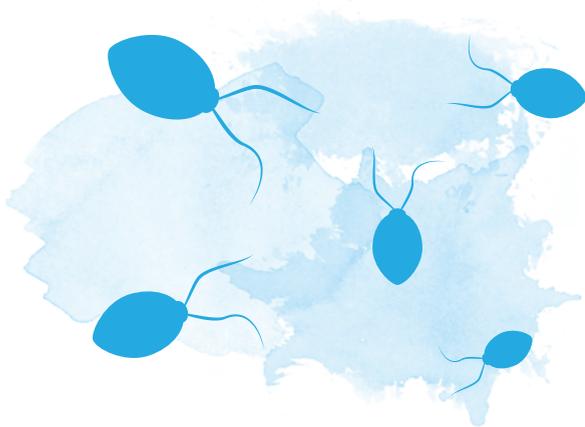
importancia biotecnológica conocida se encuentra en el Cuadro 3.

Dentro de las especies microalgales con gran relevancia en biotecnología se encuentra el género *Chlorella* (Chlorophyta: alga verde). Este género se caracteriza por ser cosmopolita con células globulares (3-8  $\mu$ m de diámetro), que toleran temperaturas entre los 15 a 40°C (Masojidek & Prasil, 2010). Sumado a esto, se puede decir que



esta especie cuenta con un futuro promisorio en la obtención de productos valiosos derivados de su biomasa (Wang *et al.*, 2012, Chacón *et al.*, 2004). Esta especie fue cultivada por primera vez en 1975 y procesada con fines biotecnológicos en 1994. Específicamente la especie *Chlorella vulgaris*, es comúnmente utilizada en la producción de biomasa con aplicaciones en áreas como la producción de alimentos, fármacos y suplementos alimenticios (Pulz y Gross, 2004).

Otra alga verde muy estudiada y que es muy frecuentemente encontrada en lagos, pozas y ríos es el género *Scenedesmus*. Este se caracteriza por ser un género colonial que forma líneas de células paralelas, presenta células elipsoidales u ovoides y tiene un cloroplasto parietal con un pirenoide (Wehr & Scheath, 2003). Específicamente *Scenedesmus*



*obliquus* ha sido reportada en la producción de biodiesel con muy buenos resultados (Kaewkannetra *et al.*, 2012) así como también en biorremediación de aguas residuales (Martínez, Sánchez, Jiménez, Yousfi & Muñoz, 2000).

Las especies del género de *Chlamydomonas* han sido muy utilizadas en la línea de obtención de energía alternativa. Específicamente *C. reinhardtii* se ha convertido en un organismo modelo, debido a sus características fisiológicas y genéticas (Grossman *et al.*, 2007 citados por Meuser, Ananyev, Wittig, Kosourov, Ghirardi, Seibert, Dismukes & Posewitz, 2009).

## Conclusiones

Las microalgas, hoy en día, representan una alternativa para mejorar el ambiente en que vivimos. A pesar de que en nuestro país estos microorganismos han sido poco estudiados y falta mucha información para incursionar en la aplicación biotecnológica de los mismos, es posible encontrar una gran diversidad que permitirá a futuro, generar esta información. En temas como el tratamiento de aguas residuales, las microalgas han tenido un gran impacto por su capacidad de remoción de nutrientes y alto valor comercial de la biomasa producida (Charity *et al.*, 2009). Por otro lado, temas como la obtención de energías alternativas, cobran mucha importancia en la actualidad y las microalgas

representan organismos clave, que podrían ser la materia prima para la obtención de este tipo de energía, con el fin de superar la efectividad de los hidrocarburos fósiles; todo esto pensando siempre en la conservación y mantenimiento de la biosfera utilizando recursos naturales no contaminantes.

## AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento al M.Sc Adrian Sevilla y el personal de la Estación de 28 Millas por su colaboración durante el muestreo, así como a CORBANA, con quienes mantiene un convenio nuestra Universidad.

## REFERENCIAS

- Aguirre, P.; Álvarez, E.; Ferrer, I. & García, J. (2011). Treatment of piggery wastewater in experimental high rate algal ponds. *Rev Latinoam Biotechnol Amb Algal*, 2(2):57-66.
- Campenni' L.; B. P. Nobre; A. Santos; Oliveira, Aires-Barros, A. C., M. R., Palavra, A. M. F. & Gouveia, L. (2012). Carotenoid and lipid production by the autotrophic microalga *Chlorella protothecoides* under nutritional, salinity, and luminosity stress conditions *L. Appl Microbiol Biotechnol* (published online).
- Chacón, C. Andrade, C. Cárdenas, C. Araujo, I. y Morales, E. (2004). Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. *Boletín de Investigaciones Biológicas de La universidad del Zulia*. Vol. 38. N° 2. 94 - 108.
- Charity E., R. Andrade, Vera B, Alexandra I., Cardenas I, Carmen H and Morales A., Ever, D. (2009). Producción de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. utilizando aguas residuales de pescadería. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia* [online]. Vol.32, n° 2, 126-134
- Craggs, R.; D. Sutherland & Campbell, H. (2012). Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. *Appl Phycol* 24:329-337.
- Griesbeck, C.; Kobl, I., & Heitze, M. (2006). *Chlamydomonas reinhardtii*: A Protein Expression System for Pharmaceutical and Biotechnological Proteins r1. *Molecular Biotechnology* 34 213 - 223
- Kaewkannetra, P., Enmak, P & Chiu, T. (2012). The Effect of CO<sub>2</sub> and Salinity on the Cultivation of *Scenedesmus obliquus* for Biodiesel Production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17: 591-597

- López, A y Juana, S. (2005). *La colección de microalgas dulceacuicolas y marinas de la Península de Yucatán*. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
- Lopes da Silva, T., Reis, A., Medeiros, R., Oliveira, A. C., & Gouveia, L. (2009). Oil Production Towards Biofuel from Autotrophic Microalgae Semicontinuous Cultivations Monitored by Flow Cytometry. *Appl Biochem Biotechnol*, 159:568-578
- Martínez, V., A. Pellón, E. Pérez, O. Correa, R. Escobedo, Y. Madruga, A. Oña & Arencibia, R. (2005). Producción de biomasa de *Scenedesmus obliquus* en diferentes medios de cultivo. *Rev. CENIC, Ciencias Biológicas*. Vol. 36.N° Especial: 1-7.
- Mata, T. M., Martins, A. A. & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14 217-232.
- Masojidek, J., Torzillo, G. (2008). Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. In Sven Eril Jorgensen and Brian D. Fath. *Ecological Engineering*. Vol. 3 of Encyclopedia of Ecology. Oxford: Elsevier. 5 vols. Pp 2226-2235.
- Masojidek, J., & Prasil, O. (2010). The development of microalgal biotechnology in the Czech Republic. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 37:1307-1317.
- Martínez M, Sanchez, S., Jimenez, J. M., El Yous, F., Muñoz, L. (2000). Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, 73: 263-272.
- Meuser J, Ananyev G, Wittig L, Kosourov S, Ghirardi M, Seibert M, Dismukes G & Posewitz, M. (2009). Phenotypic diversity of hydrogen production in chlorophycean algae reflects distinct anaerobic metabolisms. *Journal of Biotechnology*, 142: 21-30.
- Mishra P. K & Mukherji, S. (2012). Biosorption of diesel and lubricating oil on algal biomass. *Biotech*, 2:301-310.
- Mustafa E.-M., Phang, S.-M & Chu, W.-L. (2012). Use of an algal consortium of five algae in the treatment of landfill leachate using the high-rate algal pond system. *J Appl Phycol*, 24:953-963.
- Park, J.B.K. & Craggs, R.J. (2010). Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science and Technology*, 61, 633-639.
- Peña Palacios, M. y Ospina-Alvarez, N. (2005). *Algas como indicadores de contaminación*. Universidad del Valle. Colombia. 164pp.
- Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 65: 635 - 648.
- Shi, W., Wang, L., Rousseau, P. L. & Lens, P. N. L. (2010). Removal of estrone, 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, and 17 $\beta$ -estradiol in algae and duckweed-based wastewater treatment systems. *Environ Sci Pollut Res*, 17:824-833.
- Shukla D., Vankar, P.S. & Srivastava, S. K. (2012). Bioremediation of hexavalent chromium by a cyanobacterial mat. *Appl Water Sci*, 2:245-251.
- Silva-Benavides A. M, Sili C & G Torzillo. 2008. Cyanoprocarota y microalgas (Chlorophyceae y Bacillariophyceae) bentónicas dominantes en ríos de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 56 (Suppl. 4): 221-235.
- Torzillo, G. (2008). Increased Hydrogen Photoproduction by means of a sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* d1 protein mutant. *International Journal of Hydrogen Energy*.
- Walker TL, Purton S, Becker DK, Collet C. 2005. Microalgae as bioreactors. *Plant Cell Rep.* 24(11):629-41.
- Wang L., Min, M., Li, Y., P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y. & Ruan, R. (2010). Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 162(4):1174-86.
- Wehr J & Scheath, R. (2003). *Fresh water algae of North America: Ecology and Classification*. Academic Press. EE.UU. 918 pp.
- Wydrzycka, U. (2009). *Botánica General*. EUNA. Costa Rica. 364 p.
- Zhu, Ch., Chen, C.H., Zhao, L., Zhang, Y., Yang, J., Song, L., & Shao Yang (2012). Biofloculant produced by *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Appl Phycol*, 24:1245-1251.