

UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE

FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA



Evaluación de la capacidad de *Nostoc cf. sphaericum* para la
fitorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna
Huaylacancha, Jauja-Junín

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL

AUTORES

Diana Yasmina Benites Alva
Nelson Guillermo Mori de la Cruz

ASESORES

Nilda Doris Montes Villanueva
Teresa Damaris Rebaza Cárdenas

Lima, Perú

2023

METADATOS COMPLEMENTARIOS**Datos de los Autores****Autor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Autor 2

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Autor 3

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Autor 4

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Datos de los Asesores**Asesor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

Asesor 2

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

Datos del Jurado**Presidente del jurado**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

Segundo miembro

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

Tercer miembro

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

Datos de la Obra

Materia*	
Campo del conocimiento OCDE Consultar el listado:	
Idioma	
Tipo de trabajo de investigación	
País de publicación	
Recurso del cual forma parte (opcional)	
Nombre del grado	
Grado académico o título profesional	
Nombre del programa	
Código del programa Consultar el listado:	

***Ingresar las palabras clave o términos del lenguaje natural (no controladas por un vocabulario o tesauro).**



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 049 - 2023/UCSS/FIA/DI

Siendo las 10:00 a.m. del miércoles 13 de diciembre de 2023, a través de la plataforma virtual zoom de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis integrado por:

- | | |
|----------------------------------|-----------------|
| 1. Wilfredo Mendoza Caballero | Presidente |
| 2. Amada Victoria Larco Aguilar | Primer miembro |
| 3. José Víctor Ruiz Ccance | Segundo miembro |
| 4. Nilda Doris Montes Villanueva | Asesor(a) |

Se reunieron para la sustentación virtual de la tesis titulada **Evaluación de la capacidad de *Nostoc cf. sphaericum* para la ficorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha, Jauja-Junín**, que presentan los bachilleres en Ciencias Ambientales, **Diana Yasmína Benites Alva y Nelson Guillermo Mori de la Cruz**, cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**.

Terminada la sustentación y luego de deliberar, el Jurado acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de **SOBRESALIENTE** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare EXPEDITA para conferirle el TÍTULO de INGENIERO AMBIENTAL.

Lima, 13 de diciembre del 2023.

Wilfredo Mendoza Caballero
Presidente

Amada Victoria Larco Aguilar
1° miembro

José Víctor Ruiz Ccance
2° miembro

Nilda Doris Montes Villanueva
Asesor(a)

Anexo 2

CARTA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR(A) DE **TESIS** / INFORME ACADÉMICO/ TRABAJO DE INVESTIGACIÓN/ TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL CON INFORME DE EVALUACIÓN DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO

Lima, 15 de febrero de 2024

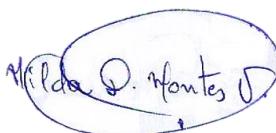
Señor(a),
Wilfredo Mendoza Caballero
Jefe del Departamento de Investigación
Facultad de Ingeniería Agraria

Reciba un cordial saludo.

Sirva el presente para informar que **la tesis** / informe académico/ trabajo de investigación/ trabajo de suficiencia profesional, bajo mi asesoría, con título: Evaluación de la capacidad de *Nostoc cf. sphaericum* para la ficorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha, Jauja-Junín, presentado por Diana Yasmina Benites Alva (2015101885 y DNI 73134076) y Nelson Guillermo Mori De La Cruz (2015101757 y DNI 70562570) para optar el título profesional/grado académico de Ingeniero Ambiental ha sido revisado en su totalidad por mi persona y **CONSIDERO** que el mismo se encuentra **APTO** para ser sustentado ante el Jurado Evaluador.

Asimismo, para garantizar la originalidad del documento en mención, se le ha sometido a los mecanismos de control y procedimientos antiplagio previstos en la normativa interna de la Universidad, **cuyo resultado alcanzó un porcentaje de similitud de 0 %** (poner el valor del porcentaje).* Por tanto, en mi condición de asesor(a), firmo la presente carta en señal de conformidad y adjunto el informe de similitud del Sistema Antiplagio Turnitin, como evidencia de lo informado.

Sin otro particular, me despido de usted. Atentamente,



Firma del Asesor (a)
DNI N°: 08633219
ORCID: 0000-0001-7348-1130
Facultad de Ingeniería Agraria - UCSS

* De conformidad con el artículo 8°, del Capítulo 3 del Reglamento de Control Antiplagio e Integridad Académica para trabajos para optar grados y títulos, aplicación del software antiplagio en la UCSS, se establece lo siguiente:

Artículo 8°. Criterios de evaluación de originalidad de los trabajos y aplicación de filtros

El porcentaje de similitud aceptado en el informe del software antiplagio para trabajos para optar grados académicos y títulos profesionales, será máximo de veinte por ciento (20%) de su contenido, siempre y cuando no implique copia o indicio de copia.

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado a mis bondadosos y trabajadores padres Víctor y Alejandra, a mi querido hermano Roberth por su amor y dedicación conmigo y a mi hermanito Cristian que cuida mis pasos desde el cielo.

Diana Yasmina Benites Alva

Dedico el presente trabajo a mis padres Emiliano y Doris por haberme formado con valores, a mis hermanos Yosi, Roly, Jairo y Dayci por su apoyo incondicional en todo momento, y a mis abuelos, tíos y familia, quienes me brindaron su apoyo durante mi formación académica.

Nelson Guillermo Mori de la Cruz

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida y la salud.

A la Dra. Nilda Doris Montes Villanueva por su dedicación, apoyo desinteresado y orientación no solo a nivel profesional sino también personal para lograr el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A la Blga. Teresa Damaris Rebaza Cárdenas por compartir sus conocimientos y experiencias con nosotros, por su apoyo desinteresado en el desarrollo de la presente investigación.

A la Universidad Católica Sedes Sapientiae, en especial a los docentes de la Facultad de Ingeniería Agraria por recibirnos y aportar a nuestra vida académica con conocimientos y valores y sobre todo inculcarnos la vocación de servicio hacia la comunidad.

A los compañeros y amigos que conocimos en nuestra vida universitaria.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE APÉNDICES	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	5
1.1 Antecedentes	5
1.2 Bases teóricas especializadas.....	19
1.2.1 Laguna Huaylacancha.....	19
1.2.2 Piscicultura	19
1.2.3 Tipos de piscicultura.....	20
1.2.4 Truchicultura	20
1.2.5 Efluentes piscícolas	21
1.2.6 Cianobacterias	23
1.2.7 Nostoc.....	24
1.2.8 Fotobiorreactores	27
1.2.9 Ficorremediación	29
1.2.10 Parámetros de medición de calidad de las aguas	30
1.2.11 Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua.....	31
1.2.12 Procesos de remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales.....	31
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	35
2.1 Diseño de la investigación	35
2.2 Lugar y fecha	35
2.3 Descripción del experimento	36
2.3.1 Construcción de los fotobiorreactores	37
2.3.2 Colecta y caracterización morfológica de muestras de la cianobacteria <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	38

2.3.3	Muestreo y caracterización fisicoquímica de aguas de la laguna Huaylacancha.....	40
2.3.4	Evaluación de la capacidad de ficorremediación de <i>Nostoc cf. sphaericum</i> en fotobiorreactores de las aguas de la laguna Huaylacancha	43
2.4	Tratamientos	44
2.5	Unidades experimentales	45
2.6	Identificación de variables y su mensuración	46
2.6.1	Caracterización fisicoquímica	46
2.6.2	Porcentaje de ficorremediación de nitratos y fosfatos.....	48
2.6.3	Medición del incremento biomasa de <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	48
2.7	Diseño estadístico del experimento	49
2.8	Análisis estadístico de datos	49
2.9	Materiales y equipos	50
CAPÍTULO III: RESULTADOS		51
3.1	Caracterización morfológica de la cianobacteria <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	51
3.2	Parámetros fisicoquímicos de muestras de agua de la laguna Huaylacancha.....	53
3.3	Efecto de la biomasa inicial de <i>Nostoc cf. sphaericum</i> , iluminación y fotoperiodo en la ficorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha.....	54
3.3.1	Concentración de Nitratos	54
3.3.2	Concentración de Fosfatos	58
3.3.3	Oxígeno disuelto.....	60
3.3.4	Potencial de hidrógeno (pH).....	65
3.4	Incremento de biomasa inicial de <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	71
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN.....		74
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES		81
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES		83
REFERENCIAS		84
TERMINOLOGÍA		93
APÉNDICES		95

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Clasificación taxonómica de la cianobacteria Nostoc sphaericum</i>	27
Tabla 2. <i>Puntos de muestreo establecidos en la laguna Huaylacancha</i>	41
Tabla 3. <i>Estructura de los bloques y tratamientos experimentales</i>	45
Tabla 4. <i>Parámetros evaluados en la investigación, unidades de medida y metodologías</i>	49
Tabla 5. <i>Materiales y equipos utilizados en la ejecución del proyecto</i>	50
Tabla 6. <i>Características macroscópicas y microscópicas de muestras de Nostoc cf. sphaericum</i>	51
Tabla 7. <i>Condiciones fisicoquímicos del agua de las cochas de colecta de Nostoc cf. sphaericum</i>	53
Tabla 8. <i>Resultados de la caracterización fisicoquímica de los puntos de muestreo en la laguna Huaylacancha</i>	54
Tabla 9. <i>Análisis de varianza de la concentración de nitratos considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación</i>	55
Tabla 10. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de la concentración de nitratos según el fotoperiodo*biomasa inicial y la biomasa inicial*periodo de ficorremediación</i>	56
Tabla 11. <i>Niveles de remoción de nitratos según el periodo de ficorremediación y la biomasa inicial del Nostoc cf. sphaericum</i>	58
Tabla 12. <i>Análisis de varianza de la concentración de fosfatos (mg/L) considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación</i>	59
Tabla 13. <i>Valores promedio, desviaciones estándar y % de remoción de fosfatos según el periodo de ficorremediación.</i>	60
Tabla 14. <i>Análisis de varianza de la concentración del oxígeno disuelto considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación</i>	61
Tabla 15. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de oxígeno disuelto según la iluminación y la biomasa inicial del Nostoc cf. sphaericum</i>	62

Tabla 16. <i>Valores promedio y desviaciones estándar del oxígeno disuelto según la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación y según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación</i>	64
Tabla 17. <i>Análisis de varianza del pH considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación</i>	66
Tabla 18. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de pH según la iluminación y el fotoperiodo y la iluminación y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum</i>	67
Tabla 19. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de pH según la iluminación y el periodo de ficorremediación y según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación</i>	69
Tabla 20. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de pH según el periodo de ficorremediación y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum</i>	71
Tabla 21. <i>Análisis de varianza del incremento de biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum</i>	72
Tabla 22. <i>Valores promedio y desviaciones estándar del incremento de biomasa (g) según el fotoperiodo y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum</i>	72

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Morfología de las células especializadas de las cianobacterias.....	24
<i>Figura 2.</i> Guía gráfica de identificación de familias de cianobacterias heterocitasas (<i>Nostocales</i>) a nivel de órdenes y familias	25
<i>Figura 3.</i> Mapa de puntos de muestreo de agua en la laguna Huaylacancha.....	36
<i>Figura 4.</i> Fotobiorreactores dispuestos en el módulo experimental	38
<i>Figura 5.</i> Colecta de la cianobacteria <i>Nostoc</i> cf. <i>sphaericum</i> Reserva Paisajística Nor Yaayos-Cochas.....	39
<i>Figura 6.</i> Caracterización macroscópica y microscópica de <i>Nostoc</i> cf. <i>sphaericum</i>	40
<i>Figura 7.</i> Actividad acuícola en lagunas de Reserva Paisajística Nor Yaayos-Cochas.....	41
<i>Figura 8.</i> Jaulas de cultivo de trucha en los tres puntos de muestreo en la laguna Huaylacancha.....	42
<i>Figura 9.</i> Muestras de agua de la laguna Huaylacancha en los puntos de muestreo.....	43
<i>Figura 10.</i> Inoculación de la cianobacteria <i>Nostoc</i> cf. <i>sphaericum</i>	44
<i>Figura 11.</i> Configuración del fotobiorreactor utilizando matraz Erlenmeyer.....	46
<i>Figura 12.</i> Ilustración de las características macroscópicas y microscópicas de muestras de <i>Nostoc</i> cf. <i>sphaericum</i>	52
<i>Figura 13.</i> Concentración de nitratos (mg/L) según el fotoperiodo*biomasa inicial	57
<i>Figura 14.</i> Valor promedio de la concentración de nitratos (mg/L) según el periodo de fitorremediación*biomasa inicial.....	57
<i>Figura 15.</i> Concentración promedio de fosfatos (mg/L) según el periodo de fitorremediación (días).....	60
<i>Figura 16.</i> Valores promedio del oxígeno disuelto (mg/L) según la iluminación y la biomasa	62
<i>Figura 17.</i> Valores promedio de oxígeno disuelto (mg/L) según el periodo de fitorremediación y la biomasa inicial.....	64
<i>Figura 18.</i> Valores promedio de oxígeno disuelto (mg/L) según el periodo de fitorremediación y el fotoperiodo.	65
<i>Figura 19.</i> Valores promedio de pH (mg/L) según la iluminación y el fotoperiodo.	68
<i>Figura 20.</i> Valores promedio de pH (mg/L) según la iluminación y la biomasa inicial.....	68

<i>Figura 21.</i> Valores promedio de pH (mg/L) según la iluminación y el periodo de ficorremediación	70
<i>Figura 22.</i> Valores promedio de pH según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación	70
<i>Figura 23.</i> Valores promedio de pH según periodo de ficorremediación y la biomasa inicial de <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	71
<i>Figura 24.</i> Valores promedio del incremento de biomasa (g) según la biomasa inicial	73
<i>Figura 25.</i> Valores promedio del incremento de biomasa (g) según el fotoperiodo.	73

ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice A. Registro fotográfico de la investigación.....	95
Apéndice B. Certificado de calibración del equipo colorímetro DR900.....	101
Apéndice C. Certificado de calibración del equipo multiparámetro (pH, oxígeno disuelto y conductímetro).....	103
Apéndice D. Certificado de calibración del equipo luxómetro.	109
Apéndice E. Autorización de colecta de la cianobacteria <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	111

RESUMEN

La acuicultura continental en el Perú ha presentado un continuo crecimiento, implicando el uso intensivo de recursos hídricos y la descarga de efluentes que contaminan los cuerpos de agua. En este estudio, se evaluó la capacidad de ficorremediación de la cianobacteria *Nostoc* cf. *sphaericum* de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha-Junín y así mejorar la calidad del agua. Se caracterizó morfológicamente la cianobacteria y se realizó un experimento factorial 2^3 con iluminación (1500, 3000 lux), fotoperiodo (12, 24 h) y biomasa inicial del *Nostoc* cf. *sphaericum* (20, 40 g) evaluando parámetros fisicoquímicos del agua durante 16 días de ficorremediación. La caracterización de la cianobacteria correspondió al género *Nostoc* con forma ovalada, color marrón dorado a oliva, textura gelatinosa, célula vegetativa de $6 \times 6 \mu\text{m}$ y heterocistos de $7 \times 6 \mu\text{m}$. La caracterización fisicoquímica de las muestras de agua presentó en promedio: nitratos 1,92 mg/L, fosfatos 0,9 mg/L, pH 8, OD 5,4 mg/L, STD 218 ppm, E 277 $\mu\text{S/cm}$ y temperatura 12,1 °C. Los resultados experimentales se analizaron a través de ANOVA ($p \leq 0,05$) para evaluación de los efectos principales y efectos de interacción de los factores considerados. El ANOVA de nitratos evidenció efectos de interacción de biomasa*fotoperiodo y biomasa*periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$), alcanzando 1,09 mg/L con 24 h luz y 20 g de biomasa inicial, y 0,78 mg/L para 16 días y 20 g. Los fosfatos evidenciaron efecto del periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$), presentando 0,07 mg/L en 8 días. El OD evidenció efectos de iluminación*biomasa, fotoperiodo*periodo de ficorremediación y biomasa*periodo de ficorremediación, presentando 12,75 mg/L en 12 días con 12 h luz. La remoción de nitratos fue de 59,4 % con 40 g de biomasa inicial, y de fosfatos 55 %, en 16 días de ficorremediación. La cianobacteria *Nostoc* cf. *sphaericum* disminuye significativamente los niveles de fosfatos y nitratos de aguas piscícolas y presenta potencial biorremediador de otros tipos de aguas contaminadas.

Palabras claves: ficorremediación, cianobacteria, *Nostoc* cf. *sphaericum*, efluente piscícola

ABSTRACT

Inland aquaculture in Peru is continuously growing, involving the intensive use of water resources and the discharge of effluents that pollute water bodies. In this study, the phycoremediation capacity of the cyanobacterium *Nostoc cf. sphaericum* in waters with fish farming activity in the Huaylacancha-Junín lagoon was evaluated to improve water quality. The cyanobacteria were characterized morphologically and a 2³ factorial experiment was carried out with illumination (1 500, 3 000 lux), photoperiod (12, 24 h) and initial biomass of *Nostoc cf. sphaericum* (20, 40 g) evaluating physicochemical parameters of the water during 16 days of phyco-remediation. The characterization of the cyanobacteria corresponded to the *Nostoc* genus with oval shape, golden brown to olive color, gelatinous texture, vegetative cell of 6x6 µm and heterocysts of 7x6 µm. The physicochemical characterization of the water samples showed on average: nitrates 1,92 mg/L, phosphates 0,9 mg/L, pH 8, OD 5,4 mg/L, STD 218 ppm, EC 277 µS/cm and temperature 12,1 °C. Experimental results were analyzed through ANOVA ($p \leq 0,05$) for evaluation of main effects and interaction effects of the factors considered. The ANOVA of nitrates evidenced interaction effects of biomass*photoperiod and biomass*phycoremediation period ($p \leq 0,05$), reaching 1,09 mg/L with 24 h light and 20 g of initial biomass, and 0,78 mg/L for 16 days and 20 g. Phosphates evidenced effect of phycoremediation period ($p \leq 0,05$), presenting 0,07 mg/L in 8 days. The OD evidenced effects of illumination*biomass, photoperiod*phycoremediation period and biomass*phycoremediation period, presenting 12,75 mg/L in 12 days with 12 h light. Nitrate removal was 59,4 % with 40 g of initial biomass, and phosphate removal was 55 % in 16 days of phycoremediation. The cyanobacterium *Nostoc cf. sphaericum* significantly reduces phosphate and nitrate levels in fish waters and has bioremediation potential for other types of contaminated waters.

Key words: phycoremediation, cyanobacteria, *Nostoc cf. sphaericum*, fish effluent.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad en continuo crecimiento, en el 2018, la pesca mundial ascendió a 179 millones de toneladas, de las cuales 82 millones de toneladas procedieron de la producción acuícola. La acuicultura representó el 46 % de la producción total y el 52 % del pescado para consumo humano (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2020); lo que implica mayor uso de los recursos hídricos y el vertimiento de grandes cantidades de efluentes piscícolas con fósforo, nitrógeno y restos fecales a los cuerpos naturales de agua ocasionando la alteración de las propiedades físicas, químicas y biológicas del agua, de los organismos bióticos y el ecosistema en general.

En el Perú, la acuicultura presentó un crecimiento del 13 % en la última década, pasando de producir 25,9 mil TM de especies acuícolas en el año 2004 a 90,9 mil TM en el 2015, de este último el 45 % corresponde a la crianza de la trucha (Saldarriaga y Regalado, 2017). Sin embargo, el inadecuado manejo de esta actividad productiva ha llevado a generar impactos sobre los cuerpos naturales de agua que se refleja en diversas regiones, como es el caso de las lagunas de la cuenca del Perené en la región Junín, los cuales presentaron un incremento de fósforo total, disminución de la concentración de oxígeno disuelto, evidenciando índices bajos de diversidad de comunidades bentónicas (Mariano *et al.*, 2010); así mismo, la laguna Arapa en Puno presentó diferencias significativas en acidez, dióxido de carbono y fósforo, este último alcanzó niveles de 32,79 mg/m³ clasificando al cuerpo de agua en un nivel eutrófico (Vásquez *et al.*, 2016).

En la región Junín, Perú, se encuentra la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas área natural protegida de categoría de uso directo, que implica el aprovechamiento o extracción de sus recursos naturales (Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado [SERNANP], 2016), una de las actividades desarrolladas es la acuicultura en ríos y lagunas; la reserva paisajística presenta acuicultura en la mayoría de sus lagunas, siendo la laguna Huaylacancha uno de los cuerpos de agua con presencia de cultivo de truchas contando para febrero del 2021 con 110 jaulas; según lo evaluado por Ñahuin (2017), las

lagunas aledañas Vichecocha y Ñahuincocha que también tienen cultivo de truchas presentan aguas de calidad media tanto en época de lluvia y en estiaje. El cultivo de “trucha arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), como evidencia el estudio de Vásquez *et al.* (2016), causa un aumento significativo de fósforo en las lagunas.

La ficorremediación de aguas procedentes de la acuicultura, es fundamental para la conservación de los cuerpos de agua natural con la finalidad de garantizar la disponibilidad del recurso hídrico; así como para la continuidad de funciones y servicios ambientales que cumple el agua, minimizando los riesgos de enfermedades de origen hídrico y supliendo la demanda del recurso, gracias a su reutilización. Por otro lado, la conservación de las lagunas en la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas es crucial para proteger la biodiversidad, los recursos hídricos, el valor cultural y económico, así como para abordar el cambio climático y promover la investigación científica en la región.

Las especies de microalgas estudiadas que poseen capacidad para la ficorremediación de aguas contaminadas son principalmente del género *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Ankistrodesmus*; y en cuanto a las cianobacterias pertenecen en su mayoría al género *Spirulina*, *Oscillatoria* y *Nostoc* (Azarpira *et al.*, 2014a; Kotteswari *et al.*, 2012), este último, posee una amplia distribución y en los Andes se encuentra en toda su extensión, siendo conocido también como “cushuro” por los pobladores locales, generalmente crece de forma natural en épocas de lluvia y se puede encontrar en forma esférica o laminar de coloración verde-azulado o verde-oliva (Ponce, 2014), sin embargo, requiere de mayores estudios para descubrir sus potencialidades en el campo biotecnológico. Las microalgas y cianobacterias juegan un papel fundamental en medios acuáticos eutróficos, debido a sus características metabólicas y fisiológicas para utilizar la luz del sol y producir oxígeno necesario para degradar la materia orgánica y, en ese sentido los residuos de fósforos y nitratos generados por la degradación de alimento de trucha utilizado en las actividades productivas de la acuicultura se convierten en biomasa de potencial interés industrial y comercial (Azarpira *et al.*, 2014b; Sengar *et al.*, 2011).

En este sentido, en la tentativa de dar solución a la problemática descrita, la investigación se planteó una serie de objetivos con el fin de evaluar la capacidad de *Nostoc cf. sphaericum* para la ficorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha. Estos objetivos comprendieron la caracterización morfológica de *Nostoc cf. sphaericum*, la determinación de los parámetros fisicoquímicos de las aguas de la laguna Huaylacancha, la evaluación de los efectos de la biomasa inicial, la iluminación y el fotoperiodo en el proceso de ficorremediación; y la evaluación del efecto del periodo de ficorremediación de *Nostoc cf. sphaericum* en los parámetros fisicoquímicos. Paralelamente, se generó información relevante acerca del cultivo de esta cianobacteria en condiciones de laboratorio, similares a su hábitat natural mediante la utilización de fotobiorreactores.

El presente informe de tesis se ha estructurado en seis capítulos. En el capítulo I “Marco teórico” se abordan los antecedentes y se exponen los principales fundamentos teóricos relacionados al tema de investigación. En el capítulo II “Materiales y métodos” se presenta el lugar y el tiempo de estudio, los fundamentos metodológicos y la descripción detallada de la investigación. En el capítulo III “Resultados” se presentan los principales hallazgos de la investigación y los análisis estadísticos realizados. En el capítulo IV “Discusión” se hace un contraste de los hallazgos con los antecedentes. En el capítulo V “Conclusiones” se expone de forma concisa los descubrimientos del estudio y en el capítulo VI “Recomendaciones” se presentan lineamientos a considerar para futuras investigaciones.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la capacidad de ficorremediación de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* de aguas con actividad piscícola intensiva de la laguna Huaylacancha, Jauja-Junín.

Objetivos específicos

- Realizar la caracterización morfológica de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* colectada de las cochas de la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos de las aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha.
- Evaluar el efecto de la biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum*, iluminación y fotoperiodo en la ficorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha.
- Evaluar el efecto del periodo de ficorremediación de *Nostoc cf. sphaericum* en los parámetros fisicoquímicos de las aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Internacionales

Hawrot-Paw *et al.* (2019) evaluaron la capacidad de *Chlorella minutissima* para la remoción de murientes y la producción de biomasa algal utilizando aguas residuales de acuicultura de salmón. Para ello, realizaron cultivos previos en medio sintético (F/2) de la microalga de cepas de la colección de Algas Bálticas (CCBA), a 23 °C y periodos de 16 h de luz iluminados con LEDs y 8 horas de oscuridad. El diseño experimental constó de dos fotobiorreactores de 14 L donde cultivaron la microalga empleando agua residual de salmón y medio sintético F/2 previamente esterilizados bajo condiciones del cultivo inicial. Durante el experimento, llevaron cabo los análisis fisicoquímicos del pH, nitrógeno total (TN), nitrógeno nitrito (NO⁻²), nitrógeno nitrato (NO⁻³), nitrógeno amónico, fósforo total (TP) e ion ortofosfato (PO₄⁻³) del agua al inicio y a los 2, 4, 6, 8 y 10 días. Por otro lado, el contenido de biomasa fue determinado en base al crecimiento de las microalgas evaluado por densidad óptica. Los datos obtenidos fueron analizados por medio de un análisis de varianza y la prueba de Tukey (p = 0,001) para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados indicaron que el pH pasó de 7,98 a 8,09 en el día 10; el nitrógeno y el fósforo total se redujeron en 88 y 99 % respectivamente; la reducción de nitritos fue de 77,46 %, los nitratos se redujeron en 88,64 %, y los ortofosfatos en un 99,1 %; el nitrógeno amónico no presentó cambios y se mantuvo en < 0,05 mg/L. La concentración máxima de biomasa de *C. minutissima* fue obtenida al día 8 en el cultivo en aguas residuales (4,69 g/L), presentando mejores resultados respecto al cultivo en medio sintético (3,61 g/L). En conclusión, este estudio demostró la eficacia de *C. minutissima* en la eliminación de nutrientes de aguas residuales de acuicultura, convirtiéndolas en una fuente viable de biomasa de microalgas.

Ortiz-Villota *et al.* (2018) evaluaron a nivel de laboratorio la biorremediación de NO_3^- , NO_2^- y PO_4^{3-} para reducir la contaminación del agua de la laguna Ubaque utilizando cepas de microalgas *Spirulina maxima* (Sm), *Spirulina platensis* (Sp) y *Chlorella vulgaris* (Cv). El estudio fue desarrollado en tres etapas: en la primera, analizaron muestras de agua de cuatro puntos de la laguna en el laboratorio de la Universidad Libre de Bogotá. La segunda etapa involucró la aclimatación de las cepas en condiciones similares a la laguna Ubaque, con 17 °C de temperatura, pH 7,3 y 80 % de humedad relativa, durante una semana. La tercera etapa consistió en cultivar $0,5 \times 10^6$ células de cada una de las tres cepas de microalgas en fotobiorreactores de 10 L. El experimento fue de tipo factorial, considerando los factores tiempo de retención (0,17, 1,3, 5 y 5,83 días) y concentración de la cepa (1,89, 5, 12,5, 20 y 23,11 (V/V)). El agua de la laguna Ubaque mostró niveles de NO_3^- entre 0,5 y 0,7 mg/L, NO_2^- de 0,6 a 0,8 mg/L, y PO_4^{3-} de 0,07 a 0,08 mg/L. Durante la adaptación, *C. vulgaris* presentó un mayor crecimiento en comparación con *S. maxima* y *S. maxima*. Por otro lado, la remoción de nitratos fue de 88,24 % con *C. vulgaris* en cuatro días de retención, de 85,9 % con la *Spirulina máxima* y de 64 % para la cepa *S. platensis*, en cinco días de retención; la remoción de nitritos fue de 87,2 % con la *C. vulgaris* en comparación de un 82 % con *S. maxima* y *S. platensis*; la remoción de fosfatos fue óptima, con 90 % tanto para la cepa *C. vulgaris* como para la *S. maxima* y un 84 % para la *S. platensis*. El análisis de varianza (ANOVA) evidenció efectos significativos ($p < 0,05$) de los factores tiempo, concentración y la interacción de ambos factores sobre las respuestas de remoción de la *C. vulgaris*, a diferencia de las cepas *S. maxima* y *S. platensis*. El estudio concluyó que, *C. vulgaris*, en un tiempo de retención 3,13 días y concentración V/V de 12,98 % fue la más adecuada para remover nutrientes como NO_3^- , NO_2^- y PO_4^{3-} de la laguna de Ubaque.

Nogueira *et al.* (2018) evaluaron la eficiencia del tratamiento del agua residual proveniente del cultivo de "Tilapia del Nilo" *Oreochromis niloticus* utilizando la cianobacteria *Spirulina platensis*, con la finalidad de cumplir los estándares ambientales de Brasil. La cianobacteria fue obtenida del Centro de Biotecnología Acuícola CEBIAQUA/UFC y cultivada en medio Jourdan a partir de una cantidad inicial de 300 mL. Para el experimento instalaron tres estanques de 500 L con tilapia a 0,1 peces/L, alimentados con raciones comerciales. Tras una semana, se generaron 1 200 L de agua residual, que se transfirieron a una piscina de 2 400 L con *S. platensis* al 10 % de salinidad, iluminación continua, aireación y circulación con bombas. Los parámetros de cultivo evaluados fueron la absorbancia de la *S. platensis*

monitoreado diariamente; el rendimiento y la productividad por medio del proceso de secado en un horno durante 24 h. Los parámetros fisicoquímicos de pH, temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, amoníaco, nitrito, nitrato y fosfato fueron evaluados diariamente en un periodo de nueve días. Los resultados fueron analizados a través análisis de varianza (ANOVA) ($p < 0,05$) y posterior prueba de comparación de medias de Tukey. Los resultados del estudio mostraron que *S. platensis* inició con 170 000 tricomas/mL en el día 1 y concluyó con 550 000 tricomas/mL en el día 9. En cuanto a la remoción de nutrientes, *S. platensis* tuvo una capacidad de remoción de 100 % nitritos, de 98,7 % para nitratos y de 94,8 % para fosfatos, alcanzado durante los primeros 3 días de cultivo y evidenciando una relación directa entre la multiplicación celular de la cianobacteria y la reducción de nutrientes. Los valores de pH pasaron de 8,2 a 8,9, el oxígeno disuelto alcanzó 6,1 mg/L y la temperatura fue 31,2 °C. El estudio concluyó, que la aplicación de la *S. platensis* para el tratamiento de aguas residuales piscícolas permite que el efluente sea descargado a los cuerpos acuáticos naturales, cumpliendo con la normativa ambiental de descarga de efluentes.

Saha *et al.* (2018) evaluaron la eficacia de *Nostoc carneum* para la biorremediación de efluentes industriales en condiciones de laboratorio. Los efluentes residuales fueron tomados en un centro industrial en Jharkhand, India, y realizaron la caracterización fisicoquímica. La cepa de *N. carneum* Agardh fue obtenida del Instituto Regional de Investigación Agrícola, Chipilima, Orissa y fue cultivada en medio BG11. El experimento estuvo constituido por tres tratamientos con tres réplicas. El primero, formado por las aguas residuales sin medio de cultivo y el cultivo de la cianobacteria por separado, que representaron los controles. El segundo tratamiento, fue 100 % agua residual con 50 mL de medio cultivo e inoculados con 2 mL de *N. carneum* y, el tercero, 100 % agua residual sin medio de cultivo e inoculados con 2 mL de *N. carneum*. Las unidades experimentales fueron mantenidas a una temperatura de 25 °C con iluminación continua de 2200 lux. Los parámetros evaluados incluyeron pH, DBO, DQO, cloruro, sulfato y fosfato, los cuales fueron analizados al inicio, al día 15 y 30 del experimento, mediante métodos estándar APHA. Los resultados evidenciaron que los tratamientos con inóculos de la cianobacteria lograron mayores niveles de remoción en comparación al control, por otro lado, el segundo tratamiento con adición del medio de cultivo BG11 favoreció el aumento del pH desde 7,8 a 8,07 y la reducción de la DBO, DQO, cloruro, sulfato y fosfato en 75, 78, 23, 74,16 y 90,03 % respectivamente, mientras que, en

el tercer tratamiento los niveles de remoción de estos parámetros fueron de 40, 48, 5, 24,87 y 25 %, respectivamente. En conclusión, *Nostoc carneum* posee capacidad para ser utilizado como biorremediador de agua residuales industriales.

Ramos y Pizarro (2018) evaluaron el crecimiento y la eficiencia de remoción de nutrientes por la microalga *C. vulgaris* en aguas residuales del cultivo de *Seriola lalandi* “pez dorado”. La microalga fue cultivada hasta alcanzar un crecimiento exponencial de $2,06 \times 10^6$ células/mL en bidones de 2 L, a partir de cepas del laboratorio de la Universidad de Antofagasta. El medio de cultivo fue enriquecido con Guillard y mantenido con aireación constante y una intensidad lumínica de $15,7 \pm 1,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El experimento consistió en la evaluación de dos condiciones, *indoor* o laboratorio y *outdoor* o exterior, asimismo, cada condición tuvo un control utilizando agua de mar procesada y medio de cultivo Guillard con tres repeticiones haciendo en total 12 unidades experimentales. En total obtuvieron 300 L de agua residual de piscicultura del cultivo del “pez dorado” *Seriola lalandi* y posteriormente fue filtrado (1 μm) y desinfectado para su empleo en el estudio. La evaluación del crecimiento de la microalga fue realizada cada dos días mediante la cámara Neubauer y los parámetros físicoquímicos fueron evaluados todos los días durante 8 días. Realizaron el análisis de varianza de una vía y prueba de Tukey ($P < 0,05$) de los resultados evidenciando que el parámetro nitrito disminuyó en 91,67 y 88,41 %, en condiciones de laboratorio y en exterior, respectivamente. Por otro lado, el nitrato fue removido en 57,47 y 29,31 % para los dos casos de estudio. En cuanto al parámetro de amonio se alcanzó una remoción de 42,22 % en las dos condiciones. Por último, el fosfato se redujo en 65,78 % en *indoor* y 75,78 % en *outdoor*. En conclusión, la capacidad de remoción de nutrientes sugiere su utilidad en el tratamiento de aguas residuales acuícolas y similares. Además, las microalgas muestran potencial en la ficorremediación para reducir impactos en recursos hídricos.

Maynés (2018) evaluó diferentes concentraciones de aguas residuales como fuentes de nutrientes para el cultivo de cianobacterias del género *Nostoc*. La investigación constó de tres etapas; en la primera, implementó una planta piloto con la finalidad de obtener aguas pretratadas. La segunda etapa consistió en el cultivo de cianobacterias en su mayoría del género *Nostoc*, en un tanque de agitación durante 30 días alimentado con medio BG11, a

partir del cual obtuvo la biomasa de cianobacterias. En la tercera etapa, realizó los experimentos en tres fotobiorreactores (R1, R2 y R3) con agua residual de la planta piloto y digestato, R1 estuvo compuesto de agua residual con 10 mg/L de nitrógeno y 0,75 mg/L de fósforo durante 70 días, R2 fue alimentado con 87 % de agua residual y 12 % de digestato con 146,6 y 2,53 mg/L de nitrógeno y fósforo respectivamente; mientras que R3 tuvo 75 % de agua residual y 25 % de digestato con 283 y 4,3 mg/L de nitrógeno y fósforo, respectivamente, durante un periodo de 44 días. El resultado del estudio evidenció que el cultivo de la cianobacteria *Nostoc* sp. con aguas residuales en R1, R2 y R3 logró una producción de cianobacterias de 79, 85 y 90,3 %, respectivamente, mientras que el cultivo con medio sintético logró apenas una producción de cianobacterias de 70 %. Concluyeron que las aguas residuales son una buena fuente de nutrientes para la producción de biomasa de cianobacterias y al mismo tiempo, una alternativa para mejorar la calidad del agua.

Ortega y Vinueza (2016) realizaron una caracterización de la morfología microscópica de la cianobacteria *Nostoc* sp. y evaluaron la correlación con las variables climáticas. La cianobacteria fue colectada en Pichincha-Ecuador utilizando cuadrantes al azar de 1 m² a altitudes entre 2 800 - 2 100 m s.n.m. En el laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana, se limpiaron las colonias de *Nostoc* sp. y prepararon laminillas de 2 cm de diámetro centrifugadas a 400 rpm y teñidas con azul de metileno para su caracterización. La caracterización consistió en determinar variables como número y diámetro de heterocistos, células vegetativas, área de mucílago y longitud de filamento por cada 100 células. Los factores ambientales considerados fueron la precipitación, temperatura, humedad relativa y radiación solar. El análisis estadístico incluyó regresión lineal múltiple y correlación de Pearson utilizando el programa R (R Core 2013) para examinar la correlación entre las características morfológicas y las variaciones climáticas. Los resultados indicaron que, entre mayo y septiembre, el mes de mayo registró el mayor número de heterocistos (14). El análisis de Pearson mostró que los factores climáticos no se correlacionan con la cantidad de heterocistos, pero la precipitación y la radiación solar influyen ($p=0,06$). Además, la precipitación, la temperatura y radiación solar están directamente correlacionadas e influyen en el número de los heterocistos. La mayor radiación solar y menor humedad cambian el diámetro de heterocistos, superando 7,66 y 8 μm en julio y septiembre, respectivamente. En cuanto a longitud del filamento, los tamaños más grandes se hallaron en mayo (8,13 μm) y

agosto (113,4 μm), sin relación climática según análisis de Pearson. La mayor área de mucílago fue en junio (844,61 μm^2) y julio (679,8 μm^2). El análisis de correlación indicó que el área de mucílago no tiene relación con las variables climáticas, debido a reducción de colonias y formación de mucílago en transición de lluvia a sequía, favoreciendo retención de agua. En conclusión, la cianobacteria *Nostoc* sp. fue capaz de adaptarse a diferentes variables climáticas ya que puede resistir a temperaturas elevadas o bajas precipitaciones, sin embargo, los heterocistos se encuentran influenciados por la precipitación, radiación solar y temperatura, esto de acuerdo con el análisis de regresión lineal multivariada.

El-Sheekh *et al.* (2014) evaluaron la capacidad de tratar aguas residuales domésticas e industriales de *Nostoc muscorum* y *Anabaena subcylindrica* para su reutilización en el riego de plantas. Las aguas residuales fueron recolectadas en una estación depuradora de aguas domésticas y en el efluente de una empresa productora de sal y refrescos en Kafr ElZayat, Egipto, y luego analizadas en el laboratorio. Cada muestra de agua fue dividida en tres partes: la primera sirvió para los análisis fisicoquímicos, la segunda como control y la tercera, para evaluar la capacidad de tratamiento de las cianobacterias; las dos últimas partes fueron esterilizadas para el experimento. Las cianobacterias fueron recolectadas en áreas contaminadas y luego aisladas en un medio de cultivo Allen. Posteriormente, se agregaron a las aguas residuales e incubaron a 30 ° C bajo luz continua durante 10 días. Los resultados mostraron que tanto *N. muscorum* como *A. subcylindrica* tuvieron eficacia similar en el tratamiento de aguas residuales industriales y domésticas. Los resultados evidenciaron un aumento en el pH de 6,8 a 8,2 y la conductividad eléctrica en un rango de 4,7 - 23,9 %. Los sólidos disueltos disminuyeron en 4,4 - 23,3 % y la Demanda Bioquímica de Oxígeno en 50 - 57 %. La eliminación de fosfato, nitrato y amoníaco mostró eficiencias en un rango de 20,8 - 95, 19,6 - 80 y 20,9 - 96 % respectivamente. En conclusión, ambas cianobacterias son capaces de tratar aguas residuales industriales y domésticas, produciendo aguas tratadas aptas para ser utilizadas en riego.

Azarpira *et al.* (2014b) evaluaron la eficiencia de *Oscillatoria limosa* y *Nostoc commune* para la remoción de nutrientes de las aguas residuales municipales a nivel de laboratorio. En el experimento utilizaron un diseño en bloques completamente al azar, para ello las cianobacterias *O. limosa* y *N. commune* fueron colectadas, aisladas y reproducidas en medio

de cultivo sólido (agar BG 11) a temperatura de 25 °C, iluminación de 2 500 lux durante 18 h luz / 6 h oscuridad. En el experimento aplicaron cinco tratamientos con tres repeticiones por cada especie de alga, basado en una mezcla de agua residual y 25, 50, 75, 100 y 125 mL de medio de cultivo BG11 en un matraz cónico de 250 mL, inoculando en cada uno 0,5 µg de cada alga (*Nostoc* y *Oscillatoria*). Los parámetros analizados fueron NO_3^{-2} , PO_4^{-2} , SO_4^{-2} y Cl^- , antes y después del tratamiento para ambas cepas. Como resultado lograron porcentajes de remoción con nivel de significancia ($p < 0,05$) para *O. limosa* y *N. commune*, de 97 y 96 % de NO_3^{-2} , 93 y 84 % de PO_4^{-2} , 95,8 y 92 % de SO_4^{-2} , 98,6 y 95,2 % de Cl^- , en promedio la remoción fue entre 84 a 98 % de los contaminantes. En base a los resultados, *O. limosa* presentó mayor eficiencia de remoción que el *N. commune*, sin embargo, ambas especies presentaron potencial fitorremediador de aguas residuales.

Cadena *et al.* (2013) realizaron un estudio sobre bioprospección de la cianobacteria *Nostoc* sp. colectada en el Parque Nacional Cayambe-Coca en los Andes ecuatorianos con el objetivo de caracterizar en morfotipos en base a la textura, coloración, talla y morfología microscópica, además, determinaron el contenido de carotenoides y clorofila α en cada morfotipo y, evaluaron la tolerancia a la desecación del morfotipo verrugoso verde a 70 °C. Asimismo, realizaron el aislamiento del morfotipo predominante, para ello homogenizaron 0,5 g de biomasa en 4 mL de medio BG11c (con nitrógeno) y la biomasa resuspendida fue sembrada en medio BG11₀ (sin nitrógeno) en condiciones de flujo fotónico de $56 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y fotoperiodo de 12:12 h. El estudio identificó seis morfotipos de *Nostoc*, incluyendo formas esférico-gelatinosas, amorfo-gelatinosas, verrugoso verde, verrugoso negro, globoso y granuloso-gelatinoso. Los morfotipos exhibieron una variedad de colores y texturas, predominando la textura gelatinosa y la forma globosa esférica. Las células vegetativas presentaron un tamaño microscópico de 4,48 µm de ancho y 4,8 µm de largo, mientras que los heterocistos midieron 7,5 µm de ancho y 8,67 µm de largo. Los morfotipos III, IV y V presentaron los niveles más altos de clorofila α , entre 23 - 26 µg/mL, y los morfotipos II y VI mostraron los niveles más altos de carotenoides, 11 y 8 µg/mL respectivamente. La prueba de tolerancia a la desecación en el morfotipo verrugoso verde demostró una notable capacidad de rehidratación, con recuperación total de la morfología y pigmentación verde de las células vegetativas en 10 días. El morfotipo verrugoso verde se aisló con éxito y fue cultivado en medios de agar sólido y líquido, demostrando adaptación

a ambientes extremos y condiciones de laboratorio. El estudio evidencia la diversidad morfológica de la cianobacteria *Nostoc* sp., su adaptabilidad a entornos extremos y a condiciones de laboratorio, lo que la convierte en un recurso biológico valioso para investigaciones fisioecológicas, de bioprospección y biotecnología.

Kotteswari *et al.* (2012) evaluaron la eficiencia de *Nostoc* sp. como tratamiento terciario de efluentes lácteos. Para ello, tomaron muestras de agua residual láctea de una planta lechera, la cianobacteria *Nostoc* sp. fue colectada en puntos de vertido del efluente lácteo, posteriormente fue aislado y cultivado en un medio de nutrientes BG11 bajo condiciones de laboratorio con iluminación de 3 000 lux, fotoperiodos de 12 h luz/12 h oscuridad y a 24 °C. Los tratamientos planteados fueron (A) efluente lácteo con medio BG11, (B) efluente lácteo y (C) medio BG11, cada tratamiento fue inoculado con 2 g *Nostoc* sp. y tuvo tres repeticiones. El estudio tuvo una duración de 15 días y se evaluaron parámetros fisicoquímicos como sólidos suspendidos totales (TSS), sólidos disueltos totales (TDS), alcalinidad total (AT), fosfatos, DBO₅ y pH antes y después del tratamiento. Los resultados mostraron una tasa de crecimiento máxima de 330 mg/L de *Nostoc* sp. al día 15, así mismo, los niveles de los parámetros evaluados se redujeron en 53,93 % de TSS, 20,21 % de TDS, 18,13 % de AT, 21,08 % de fosfatos, 40,44 % de DBO₅ y el pH incrementó desde 5,15 hasta 7,83. El estudio concluyó que, el tratamiento de aguas residuales lácteos con *Nostoc* sp. fue eficiente, rentable y ecológico, pudiéndose emplear como tratamiento terciario por su potencialidad de reducir los nutrientes.

Ganapathy *et al.* (2011) estudiaron la diversidad de cianobacterias, bacterias y hongos presentes en efluentes de destilerías con la finalidad de emplear en el proceso de tratamiento, las cianobacterias aisladas fueron colocadas con agar sólido a 25 ± 2 °C, iluminación de 2 500 lux (18 h/día) y las colonias formadas fueron transferidas a un medio líquido BG11 para su identificación taxonómica; asimismo, realizaron el aislamiento e identificación de hongos y bacterias mediante tinción con lactofenol y tinción Gram, respectivamente. En el estudio identificaron seis géneros de cianobacterias *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nostoc* y *Plectonema*; tres géneros de hongos *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*; además de seis especies de bacterias *E. coli*, *E. aerogenes*, *Lactobacillus* sp.,

P. aeruginosa, *P. vulgaris* y *S. sonnei*. Para el tratamiento del efluente de destilería utilizaron la cianobacteria *Nostoc muscorum*, con dos tratamientos, el primero, el efluente sin inóculo (control) y el segundo, el efluente con medio BG11 inoculado con 3 mL de *Nostoc muscorum*, el experimento fue realizado durante un mes. Como resultado encontraron que, el pH inicial del efluente fue de 3,7 y aumentó hasta 6,7; la eliminación de CO₂ fue del 80 % y del bicarbonato fue de 74 %, el oxígeno disuelto inicial fue de 1,2 mg/L y a partir del quinto al décimo día aumentó a 2,1 mg/L, el nitrógeno inorgánico y el fósforo total fueron eliminados en más del 55 % y, el fósforo inorgánico en un 36 %, el calcio y magnesio en un 68 %. En conclusión *N. muscorum* es una cianobacteria con potencial para el tratamiento de efluentes de destilerías.

Deng *et al.* (2008) estudiaron la morfogénesis de *Nostoc sphaeroides* desde tricomas individuales hasta la formación de macrocolonias, describiendo aspectos fisiológicos y cambios estructurales. La cianobacteria fue aislada de muestras de cultivo de arroz en Hefeng Condado-China y cultivada en medio BG11₀ a de 25°C e iluminación continua de 50 μM fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los tricomas de *N. sphaeroides* homogeneizados fueron incubados durante cuatro semanas en 10 mL de medio BG11 hasta alcanzar diámetros de 0,1 - 0,5 mm bajo diferentes condiciones de aireación, temperatura (15 y 29 °C), e iluminación (20, 200 y 500 μM fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Las macrocolonias se observaron mediante microscopio de luz y fluorescencia a partir de secciones transversales diseccionadas. Por otro lado, evaluaron la presencia de clorofila y ficobiliproteínas, midieron el peso seco, y analizaron la evolución del oxígeno como indicador de la actividad fotosintética en diferentes capas de las macrocolonias cultivadas a 200 μM fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y temperatura ambiente. En el análisis estadístico incluyeron cálculos de media, desviación estándar y ANOVA para detectar diferencias significativas. Los resultados indicaron que los tricomas de 3 mm de *N. sphaeroides* desarrollan una vaina y se convierten en filamentos en dos días. La división celular dentro de la vaina genera una masa celular que forma colonias aseriadas. En 15 días forman colonias esféricas de 50 - 200 μm conectadas o separadas por heterocistes. La colonia de mayor tamaño fue de 33 mm de diámetro en 120 días. La actividad fotosintética fue más alta en la capa externa y más baja en la interna. Las células centrales produjeron más pigmentos para enfrentar la falta de luz. La intensidad de luz influyó en la estructura: colonias cultivadas a 20 μM fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ presentaron estructuras homogéneas y anillos,

mientras que a $500 \mu\text{M}$ fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mostraron un color verde intenso y filamentos densos. En cuanto a la temperatura, las macrocolonias a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ fueron más elásticas que las cultivadas a $29 \text{ }^\circ\text{C}$. En conclusión lograron estudiar a detalle la morfogénesis en sus diferentes etapas de desarrollo, así como los efectos de factores ambientales en la estructura interna de las macrocolonias de *N. sphaeroides*.

Kamilya *et al.* (2006) evaluaron la eficacia de *Spirulina platensis* y *Nostoc muscorum* en el tratamiento de efluentes de cría de carpas *Catla Catla*, *Labeo rohita* y *Cirrhinus mrigala*. Las carpas fueron criadas durante 30 días en tanques de concreto con una dieta de pastel de aceite de “mostaza” y salvado de “arroz”. Las cianobacterias *S. platensis* y *N. muscorum* se obtuvieron del Laboratorio de Biotecnología Agrícola IIT Kharagpur y fueron cultivadas en medios CFTRI y BG11 a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, con iluminación de 3 000 lux, un fotoperiodo de 12 h luz /12 h oscuridad y burbujeo de aire. Llevaron a cabo experimentos en 6 acuarios con 20 L de efluente de cultivo de carpa, tres de los cuales fueron inoculados con 0,3 g/L de *S. platensis* y los otros tres con 0,2 g/L de *N. muscorum*. El estudio duró 7 días y midieron parámetros como N-NH_3 , N-NO_2 , N-NO_3 y P-PO_4^{3-} antes y durante el experimento. La clorofila fue medida con acetona y la proteína con el método de Lowry. Los resultados demostraron que *N. muscorum* removió el 83,60 % de N-NH_3 , 48,57 % de N-NO_2 , 14,17 % de N-NO_3 y 47,76 % de P-PO_4^{3-} , mientras que *S. platensis* alcanzó una remoción del 92,40 % de N-NH_3 , 44,28 % de N-NO_2 , 50,49 % de N-NO_3 y 41,79 % de P-PO_4^{3-} . Los valores de pH fueron 8,5 para *N. muscorum* y 9 para *S. platensis*. Las tasas de crecimiento fueron 0,11 g/día para *S. platensis* y 0,10 g/día para *N. muscorum*. En términos de clorofila y proteína, *N. muscorum* mostró 35,63 y 48,82 % respectivamente, mientras que *S. platensis* presentó 54,84 y 43,84 %. Este estudio muestra el potencial de *S. platensis* y *N. muscorum* en el tratamiento de efluentes piscícolas.

Jorge *et al.* (2000) investigaron la producción de biomasa y ficobiliproteínas por *Nostoc* sp. aisladas en el laboratorio de bioquímica de la Universidad de Estadual de Londrina y cultivada en medio BG11 durante 21 días en matraces Erlenmeyer de 250 mL en triplicado a intensidades luminosas de 500, 1 000 y 2 000 lux. La biomasa fue determinada por gravimetría a partir de muestras centrifugadas y resuspendidas y, las ficobiliproteínas de

muestras sonicadas, precipitadas con sulfato de amonio y centrifugadas para realizar lecturas del sobrenadante a absorbancias de 560 nm y 620 nm para la ficoeritrina y ficocianina, respectivamente. El análisis de varianza de los resultados mostraron diferencias significativas entre la producción de biomasa, días de cultivo y las intensidades lumínicas; la mayor producción se obtuvo en el día 21 del cultivo para las tres intensidades lumínicas, sin embargo, a 2 000 lux se logró el mayor rendimiento en biomasa de 1,034 g/L alcanzando una productividad de 0,049 g/L día; en cuanto a la producción de ficobiliproteínas, a 500 lux hubo aumento a lo largo del periodo de cultivo, a 1 000 lux el incremento fue hasta el día 17 y a 2 000 lux solo durante los primeros 10 días de cultivo; pudieron observar que a pesar de haber obtenido un mejor rendimiento en la producción de biomasa a 2 000 lux, el aumento de la luminosidad no fue eficaz en la producción de ficobiliproteínas. El estudio concluyó que, la biomasa disuelta no permite que todas las células reciban iguales cantidades de luz limitando el adecuado aprovechamiento de la intensidad lumínica para lograr una mayor productividad.

Nacionales

Echevarria *et al.* (2019) evaluaron el efecto de los nutrientes Guillard y Bayfolan sobre la tasa de crecimiento de *Nostoc* sp. Las muestras de la cianobacteria fueron colectadas en la laguna Conococha, Ancash y acondicionadas en el Laboratorio de Larvicultura de la Universidad Científica del Sur. El estudio tuvo tres tratamientos: el control, Guillard y Bayfolan, estos dos últimos con tres niveles de concentración: 0,05, 0,1 y 0,2 mL/L. Las biometrías fueron el diámetro (cm) y peso (g) a los 0, 15, 30 y 45 días, y evaluaron el pH y temperatura del medio de cultivo. Los resultados de los tratamientos no evidenciaron diferencias significativas ($p > 0,05$), respecto a la evolución por día de peso y talla, el cultivo con Bayfolan a 0,1 mL/L produjo mayor diámetro final de $0,553 \pm 0,015$ cm respecto al cultivo con Guillard a 0,1 mL/L, que presentó un diámetro final de $0,240 \pm 0,148$ cm; el peso final fue de $0,155 \pm 0,016$ g con Guillard a 0,2 mL/L y el menor peso fue de $0,043 \pm 0,01$ g con Guillard a 0,1 mL/L; en cuanto a la mortalidad con Guillard a 0,2 y 0,1 mL/L fue de 60 % mientras que, el cultivo con Bayfolan a 0,1 mL/L no presentó mortalidad. Además, los parámetros de pH y temperatura para Guillard resultaron en promedio $8 \pm 0,7$ y $18 \pm 0,4$ °C y para Bayfolan, $7,6 \pm 0,6$ y $18 \pm 1,4$ °C. Finalmente, a 0,05 mL/L de Bayfolan produjo el mayor diámetro y peso en las colonias de *Nostoc* sp., mientras a 0,2 mL/L de Guillard

produjo el mayor incremento de biomasa de las colonias, sin embargo, la mortalidad incrementó.

Huayhua-Huamani *et al.* (2019) evaluaron la eficiencia de remoción de NO_3^- y PO_4^{3-} de las aguas del río Torococha utilizando *Chlorella* sp. Las muestras de la microalga *Chlorella* sp. y aguas residuales a ser tratadas fueron obtenidas del riachuelo Torococha y de la laguna de oxidación de la ciudad de Juliaca. En ambos lugares, midieron *in situ* los parámetros de oxígeno disuelto, pH y temperatura. El experimento fue realizado en el laboratorio de la Universidad Nacional de Juliaca (UNAJ), donde implementaron seis fotobiorreactores abiertos con capacidades de almacenamiento de 10,8 y 6 L, estos contaron con iluminación LED de 9 *Watts* con periodos de luz de 18 horas/día. La microalga *Chlorella* sp. fue inoculada en seis fotobiorreactores, siendo los fotobiorreactores FBRT1, FBRT2 y FBRT3 destinados al tratamiento de las aguas del riachuelo Torococha y los fotobiorreactores FBRL1, FBRL2 y FBRL3, destinados al tratamiento de las aguas de la laguna de oxidación. Los resultados evidenciaron que el oxígeno disuelto y pH fueron influenciados por la actividad fotosintética en el día, generando valores altos en el día y bajos en la noche. Respecto a la remoción de los nutrientes NO_3^- y PO_4^{3-} , los nitratos alcanzaron mayor remoción en todos los fotobiorreactores, mientras que el fosfato solo tuvo una notoria remoción en el FBRT1, con buena formación de biopelículas. Los investigadores lograron diseñar un sistema de fotobiorreactores para el cultivo de la *Chlorella* sp. y ponerlo en funcionamiento durante un periodo de 12 días, obteniendo con este medio de cultivo una remoción de 93 % de NO_3^- y 30 % del PO_4^{3-} .

Ávila *et al.* (2018) evaluaron la capacidad de *Chlorella* sp. y *Chlamydomonas* sp., en forma libre e inmovilizada para reducir los niveles de nitratos (N-NO_3^-) y fosfatos (PO_4^{3-}) en agua residual municipal. Las cepas de las microalgas fueron aisladas de una planta de tratamiento de aguas residuales en Lima y cultivadas en Medio Basal Bold (MBB) a una temperatura de 21,8 °C e iluminación constante; así mismo, tomaron muestras del efluente de la planta de tratamiento y posteriormente fueron caracterizados, filtrados y esterilizados en autoclave. Una vez obtenidas las biomasas de las microalgas (libres e inmovilizadas en alginato) inocularon en 250 mL de agua residual y fueron mantenidas durante 10 días bajo las mismas condiciones del aislamiento. Utilizaron un diseño experimental completamente aleatorizado

con arreglo factorial 2^2 , cuyos factores fueron las cepas y las formas de cultivo. El mayor nivel de remoción de N-NO_3^- fue de 75,08 % con *Chlamydomonas* sp. en forma inmovilizada y 83,69 % de PO_4^{3-} por *Chlorella* sp. en forma libre, asimismo, los análisis indicaron que durante el experimento removieron alrededor del 50 y 70 % de N-NO_3^- y PO_4^{3-} , respectivamente. En cuanto al desarrollo celular de las microalgas, *Chlamydomonas* sp. tuvo mayor crecimiento exponencial que *Chlorella* sp. tanto en el cultivo libre como inmovilizado. Concluyeron que las cepas de microalgas libres e inmovilizadas poseen la capacidad de reducir los nutrientes orgánicos de las aguas residuales municipales.

Adrian (2018) evaluó la influencia de las profundidades de cochas construidas para la producción de *Nostoc* sp. (cushuro) en un ecosistema de humedal. La investigación fue de tipo exploratoria, explicativa y experimental, con un diseño de asignación aleatoria y post prueba, debido a que en los tratamientos inoculó cantidades iguales de *Nostoc* sp. y realizó la evaluación al término del estudio. Las muestras de la cianobacteria fueron extraídas de humedales pertenecientes al sector Carpa mediante el método del cuadrante (1x1). La biomasa obtenida fue de 690 g/m² y está misma cantidad fue sembrada en cochas circulares de 4 m² de 10, 20, y 30 cm de profundidad, con tres réplicas cada una que recibieron flujo continuo de agua; adicionalmente, construyó tres cochas dentro de la laguna Patococha para compararlas con las cochas experimentales. Durante 8 meses de manera mensual utilizando un cuadrante de 20x20 cm extrajo *Nostoc* sp. para medir el diámetro y peso de las colonias y evaluó el pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, temperatura y turbiedad del agua de las cochas, además, tomó muestras de suelo para su análisis en el laboratorio. Los resultados del ANOVA y prueba de Duncan determinaron la influencia de la profundidad de las cochas de cultivo. La mayor producción alcanzó a profundidades de cocha de 10 cm con un total de 526,34 g/m², seguido de la profundidad de cocha de 20 cm con 488,63 g/m², obteniendo la menor producción a profundidades de cocha de 30 cm, con un 466,95 g/m². La evaluación de los parámetros de la calidad del agua y suelo evidenciaron condiciones adecuadas para la producción de la cianobacteria *Nostoc* sp.

Vásquez-Villalobos *et al.* (2017) realizaron el cultivo de la cianobacteria *Spirulina* sp. en fotobiorreactores a escala de laboratorio (FBL) utilizando iluminación LED en un rango de 1,25 a 41,7 klux y fotoperiodos de 12/12 a 24/0 h luz/oscuridad (L/O). La biomasa fue

determinada mediante la relación $\log N/N_0$ (N: número de células/ N_0 : número de células iniciales). Introdujeron aire mediante un blower (0,02 L/s) y controlaron el pH, la temperatura y el número de células. Realizaron pruebas hidráulicas para determinar los parámetros de operación y caudal de aire en fotobiorreactores de canal bucle cerrado abierto (FB-BCAA). La producción de biomasa de *Spirulina* sp. en FB-BCAA fue evaluado bajo iluminación de 21,5 klux suministrada por LEDs con una separación de 28,9 cm y una distancia del FB-BCAA de $6,76 \pm 0,50$ cm. El volumen de cultivo fue de 2,5 L. El cultivo en FBL produjo 1,655 g de biomasa para fotoperiodo 12/12 y 1,620 g para 24/0. El pH varió de 9,82 a 10,50 y la temperatura de 27,6 a 29,7 °C. Las pruebas hidráulicas en FB-BCAA resultaron en un volumen máximo de operación de 2,5 L, velocidad del agua de 26 cm/s y caudal de aire promedio de 73,3 mL/s. Los parámetros Reynolds (Re) y Froude (Fr) y Vedernikov fueron <1 , indicando estabilidad del fluido. Los resultados para el fotoperiodo 12/12 en FB-BCAA mostraron una producción de biomasa de 0,72 g, adaptación (λ) de 4,62 h, velocidad de crecimiento específica (μ_{max}) de $0,033 \text{ h}^{-1}$, tiempo de generación (G) de 20,81 h y coeficiente de regresión (R) de 0,96. Para 24/0, los resultados fueron producción de biomasa de 0,85 g, adaptación (λ) de 9,86 h, μ_{max} de $0,026 \text{ h}^{-1}$, G de 27,1 h y R de 0,94. El estudio demostró que el fotoperiodo, la intensidad lumínica y los parámetros hidráulicos influyen en el cultivo de *Spirulina* sp.

Vásquez *et al.* (2016) evaluaron los efectos de la acuicultura intensiva de trucha en jaulas flotantes en la laguna Arapa, específicamente en relación con la calidad del agua y el contenido de fósforo y desarrollaron un modelo matemático simplificado para prever el comportamiento del fósforo en la laguna y analizar su balance. La investigación fue realizada en jaulas flotantes en la zona de producción de trucha de la laguna Arapa, aplicando un diseño experimental BACI (*Before-After – Control-Impact*) donde incluyeron muestreos y evaluaciones antes y después del impacto, tanto en el área impactada como en la zona control. Los análisis físicos y químicos del agua fueron realizados utilizando un kit de análisis de agua HANNA Instruments e implementaron un modelo matemático simplificado del fósforo basado en un equilibrio de masas. Los resultados de la evaluación de la calidad del agua revelaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los parámetros de acidez, dióxido de carbono, fosfatos y conductividad eléctrica, con incrementos en los valores; los sólidos suspendidos totales disminuyeron. La cantidad total de fósforo vertido a la laguna debido a la digestión del alimento fue de 611 kg, estimando una acumulación de 246 kg en los

sedimentos. El fósforo proveniente del alimento balanceado fue identificado como una fuente significativa de contaminación, y se desarrolló un modelo matemático para prever su comportamiento, proporcionando mediante el estudio información valiosa sobre los efectos ambientales de la acuicultura intensiva y destacando la importancia de gestionar adecuadamente la alimentación para reducir la contaminación. Los autores concluyeron que la actividad de crianza de truchas en jaulas flotantes impactó la calidad del agua en la laguna Arapa, especialmente en lo que se refiere a las concentraciones de fósforo.

1.2 Bases teóricas especializadas

1.2.1 Laguna Huaylacancha

La laguna Huaylacancha está ubicada en la subcuenca Cochas en el distrito de Canchayllo, provincia de Jauja del departamento de Junín, el ingreso principal es en el km 42 de la Carretera Central (puente Pachacayo), entre Jauja y Yauli la Oroya. Se encuentra dentro de la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas que tiene como objetivo conservar la cuenca del río Pachacayo y la cuenca alta del río Cañete, que poseen ecosistemas con belleza excepcional y alberga comunidades campesinas con un valor cultural donde sus actividades coexisten con la naturaleza (SERNANP, 2016). La laguna Huaylacancha permite el desarrollo de actividades como la truchicultura realizadas por las comunidades del distrito de Canchayllo.

Por otro lado, la Empresa de Electricidad del Perú S.A. [ELECTROPERU], (2022) mediante la Memoria Anual 2021 da conocer sobre el proyecto “Ampliación del Afianzamiento Hídrico de la Presa Huaylacancha en la Sub Cuenca Cochas en el Distrito de Canchayllo, Provincia de Jauja Departamento de Junín” donde destaca la importancia del afianzamiento hídrico mediante la elevación de la presa aumentando el volumen útil de la laguna hasta en 6,3 MMC para garantizar la seguridad, calidad y sostenibilidad del suministro eléctrico.

1.2.2 Piscicultura

La piscicultura es una actividad productiva controlada que consiste en la cría de peces, con la finalidad de abastecer la demanda de productos ícticos a las poblaciones. El cultivo o cría

de peces evita la sobreexplotación de los recursos ícticos de los medios naturales, además promueve el incremento de la economía local y nacional (Pereyra, 2013).

1.2.3 Tipos de piscicultura

Según el “manual de cultivo de Gamitana en ambientes convencionales” desarrollado por Eufracio y Palomino (2013), existen tres tipos de piscicultura según la densidad de carga y manejo de las especies y estas pueden ser: extensivas, cuando el hombre no alimenta a los peces y solo interviene en la siembra y cosecha de los mismos (500 - 1 000 kg/ha); semi - intensivas, cuando el hombre suministra alimento a los peces y el cultivo (10 - 15 t/ha) se realiza en estanques no sofisticados y en embalses construidos en hondonadas teniendo mínimo control de las aguas; e intensivas, cuando se suministra alimentación artificial, se tiene control de los parámetros de la calidad del agua como temperatura, oxígeno disuelto, pH, alcalinidad, nitrógeno amoniacal, transparencia y se cultiva un mayor número de peces (25 - 30 o más t/ha). La piscicultura de acuerdo con el número de especies cultivadas puede ser de tipo: monocultivo, cuando se cultiva una sola especie y policultivo cuando se cultivan dos especies o más.

1.2.4 Truchicultura

Es una actividad productiva orientada al cultivo o crianza de “trucha arco iris” *Oncorhynchus mykiss* abarcando su ciclo biológico completo en cuerpos de aguas naturales o artificiales (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero [FONDEPES], 2021).

Alimento balanceado para la producción de truchas

El alimento balanceado es diseñado para cumplir con los requerimientos nutricionales de las truchas, combinando insumos de origen animal y vegetal. La importancia del alimento balanceado es que en ella radica el éxito de la producción de truchas, en el mercado existe una diversidad de precios, siendo los más caros y de más reciente aparición considerados de mejor calidad. En cuanto a los tipos de alimento balanceado, se describen dos: extruido y pelletizado. El alimento extruido se somete a un tratamiento térmico que incluye acondicionamiento con vapor, generación de presión mecánica y cocción, lo que reduce la actividad de agua y la contaminación microbiana, permitiendo una conservación más

prolongada, resaltando este tipo de alimento debido a su versatilidad, alta productividad, calidad, bajo costo, eficiencia energética y ausencia de efluentes. Por otro lado, el alimento pelletizado tiene un menor costo de inversión y gasto de energía, pero presenta desventajas como menor digestibilidad, baja adición de grasa, y la tendencia a hundirse en el agua debido a su estructura y falta de compactación; se desaconseja su uso debido a su menor digestibilidad y contenido bajo en grasa.

En cuanto a la composición química del alimento balanceado, destacan cinco componentes nutricionales para la alimentación de las truchas: proteína, grasa, carbohidratos, vitaminas y minerales. La deficiencia del calcio y fósforo puede reducir la tasa de crecimiento, provocar escaso apetito y ocasionar deformaciones en los huesos durante el desarrollo de las truchas. Los niveles ideales de estos componentes son importantes en la dieta de las truchas para garantizar un crecimiento saludable (Sinty, 2017).

1.2.5 Efluentes piscícolas

Los efluentes piscícolas son las aguas residuales resultantes del proceso de cultivo de peces como las especies *Colossoma macropomum*, *Oreochromis* sp., entre otros. Estas especies son alimentadas con harina de pescado, torta de “algodón”, torta de “soya”, harina de sangre, moyuelo de “trigo”, polvillo de “arroz”, entre otros productos (Alcántara-Bocanegra, 2006). Las especies cultivadas excretan estos alimentos, teniendo como resultado grandes cantidades de materia orgánica en el agua, además de nutrientes como el nitrógeno y fósforo.

Características contaminantes

La actividad acuícola semi-intensiva e intensiva implica el suministro de una alimentación artificial a los peces, con gran contenido de nutrientes para suplir los requerimientos fisiológicos de estos organismos. En este sentido, los efluentes piscícolas presentan contaminantes derivados principalmente de la alimentación artificial tales como los restos de alimento sin digerir, los desechos biológicos propios de su metabolismo y el alimento no consumido. Los estudios de la dinámica de nutrientes de la alimentación una vez ingresada al agua sostienen que los peces solo logran aprovechar alrededor del 70 - 75 % del total del alimento, esto implica que, cerca del 25 al 30 % llega a formar parte de los desechos. Estos desechos derivados de la alimentación, son ricos en fósforo (P) y nitrógeno (N) los cuales

son los dos contaminantes de mayor importancia dado que propician el deterioro del medio acuático (Fernández *et al.*, 2009).

La acuicultura desencadena el aporte de nutrientes provenientes de la descomposición de residuos de comida, heces y peces muertos, generando alteraciones significativas en la flora natural del entorno acuático. Además, la contaminación del agua se amplía con la presencia de residuos de membranas, ovas, medicamentos veterinarios y hormonas, así como con la presencia de posibles microorganismos como bacterias, virus y parásitos (Quality and Safety Agrofoods [QSAFE] y Federación Colombiana de Acuicultores [FEDEACUA], 2017).

Además, Jojoa *et al.* (2019), describe la problemática de la acuicultura, debido a los desechos de los peces por alimentos no consumidos, desechos metabólicos, heces y residuos de medicamentos, alcanzando concentraciones de residuos sólidos de 5 a 50 mg/L. A pesar de mejoras en la conversión alimenticia con el uso de alimentos extruidos, se estima un desperdicio del 2 % para estos y del 9 % para los pelletizados. La producción de 1 kg de trucha requiere aproximadamente 1,4 kg de alimento, del cual el 25% se convierte en carne y el 75 % se libera como nitrógeno, fósforo, carbono y pérdidas (alimento no capturado, heces no digeridas y excreción). Las heces fecales de peces contienen entre 3,6 - 35 % de nitrógeno y 15 - 70 % de fósforo. El nitrógeno (N) y fósforo (P) son dos elementos importantes de la proteína, que es el componente principal de los alimentos para peces, reportando en la producción de 1 tonelada de pescado en jaulas una carga de 47,3 - 320,6 kg de nitrógeno. Se estima que más del 60 % del fósforo y el 80 % del nitrógeno provenientes de los desechos de las especies cultivadas terminan en la columna de agua. Asimismo, aproximadamente el 10 % de las descargas de fósforo se atribuyen a la mortalidad de los peces durante el cultivo.

Efectos negativos sobre el ambiente

El vertimiento de las aguas piscícolas a los cuerpos naturales genera el crecimiento masivo de algas debido a la carga de nutrientes, las algas consumen el oxígeno presente en el agua generando el proceso de eutrofización (Fernández *et al.*, 2009). La eutrofización es un proceso caracterizado por el aumento de la concentración de nutrientes claves como el

fósforo y el nitrógeno en los cuerpos acuáticos derivado del vertimiento directo de las aguas residuales municipales e industriales a los ecosistemas acuáticos, el uso excesivo de fertilizantes, abonos y pesticidas. Concretamente, el fósforo y el nitrógeno en el agua dulce conllevan a una floración algal excesiva que disminuye la concentración de oxígeno disuelto en el agua y pone en riesgo la vida acuática (Álvarez, 2015).

1.2.6 Cianobacterias

Las cianobacterias son el grupo más grande y antiguo de los organismos procariotas de amplia diversidad morfológica (unicelulares, filamentosas y coloniales) con capacidad fotosintética oxigénica; morfológicamente son bacterias Gramnegativas con paredes celulares formadas por azúcares y aminoácidos, poseen membranas intracelulares denominadas tilacoides y clorofila *a*, los cuales les permiten realizar fotosíntesis (Moncayo, 2017). Además, poseen pigmentos como los carotenoides y las ficobiliproteínas, el carotenoide brinda protección contra la oxidación a otros pigmentos, la ficobiliproteína que agrupa a la ficocianina le da coloración azul y a la ficoeritrina que da la coloración rojo o pardo; asimismo presentan un sistema eficiente para la captación de energía, su cantidad depende de la disponibilidad de nitrógeno en el medio (Berrendero-Gómez, 2008). Estos organismos contribuyen con la producción de oxígeno, pueden reciclar nutrientes de diversas fuentes (agua y aire) y debido a su buena adaptación ecológica y fisiológica a diversos ambientes pueden encontrarse en aguas dulces, saladas, salobres y zonas de mezcla de estuarios (Dirección Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación, 2015).

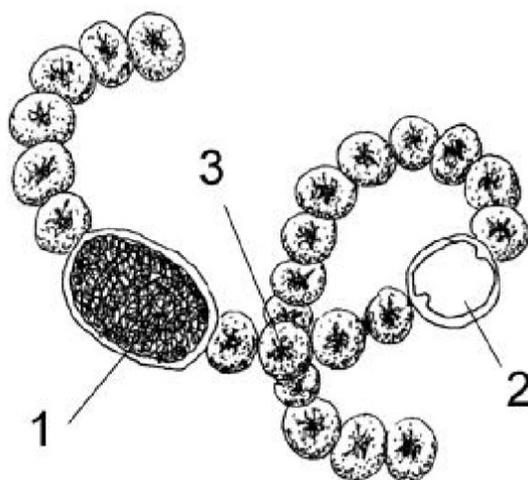
Células especializadas

Las cianobacterias son capaces de desarrollar diferentes tipos de células especializadas a partir de células vegetativas (clorofila *a*, ficocianina, ficoeritrina, tilacoides, otros) que dotan a estos organismos con la capacidad de adaptación a diversos ambientes. Las células especializadas más destacadas son los acinetos, los heterocistes y los hormogonios (Figura 1), los acinetos, también llamadas células esporuladas, se logran diferenciarlas cuando en el medio donde se encuentran existe principalmente ausencia de fósforo y luz, y cuando el medio es favorable germinan para producir nuevos filamentos; los heterocistes, son células donde se realiza la fijación de N_2 por la enzima nitrogenasa, la diferenciación se da cuando la fuente de nitrógeno es deficiente, además, la forma, el número y el orden de

estas células en el tricoma permiten su identificación taxonómica; los hormogonios se diferencian principalmente en la cianobacterias filamentosas, pueden poseer movilidad y su función principal es la reproducción.

Figura 1

Morfología de las células especializadas de las cianobacterias



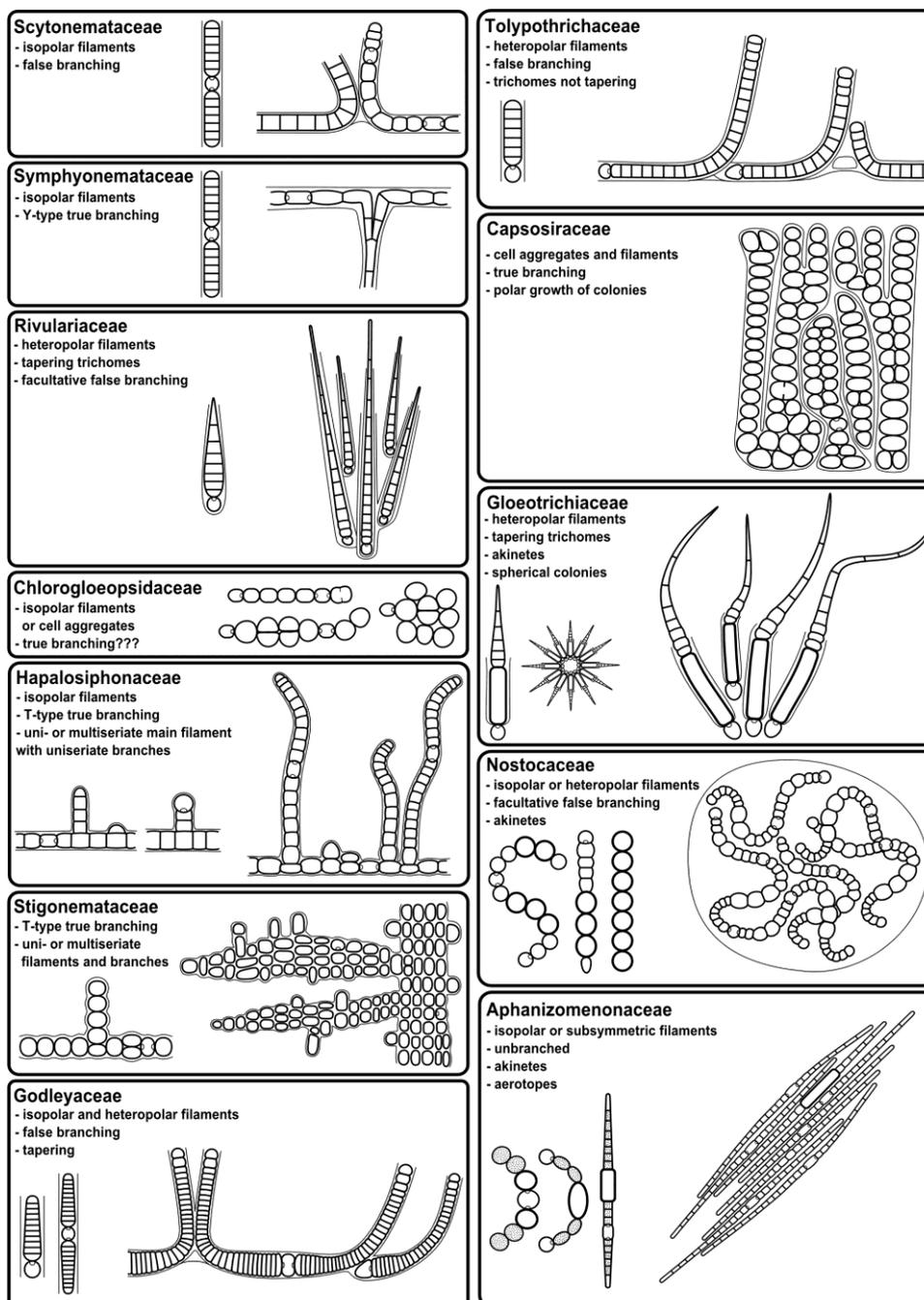
Nota. Estructura de cianobacterias (1) heterocisto (2) acineto (3) célula vegetativa. Tomado de Moncayo, A. (2017). Caracterización morfológica, análisis proximal y análisis microbiológico de una muestra de la cianobacteria *Nostoc* sp., recolectada en el páramo de Papallacta. p. 13. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9327/3/T-UCE-0008-001-2017.pdf>

1.2.7 *Nostoc*

Según la clasificación taxonómica para géneros de cianobacterias propuesto por Komárek *et al.*, (2014), el género *Nostoc* es un grupo de cianobacterias que pertenecen a la familia *Nostocaceae* (Tabla 1), esta familia comprende un grupo de organismos heterocísticas no ramificadas con filamentos isopolares o heteropolares y producen acinetos (Figura 2). Son de aspecto membranoso, coriáceo y filamentosos de color pardo verdoso o amarillento, con tricomas numerosos cubiertos por una matriz mucilaginosa cuyo tamaño varía desde 1 a 8 cm (Blasco-Zumeta, 2016; Mendoza, 2021).

Figura 2

Guía gráfica de identificación de familias de cianobacterias heterocitasas (Nostocales) a nivel de órdenes y familias



Nota. Características de forma para clasificación e identificación de cianobacterias. Tomado de Komárek *et al.*, (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. 86(6) p. 303. <http://www.preslia.cz/P144Komarek.pdf>

Nostoc sphaericum

Según lo descrito por Deng *et al.* (2008), Ponce (2014) y Corpus-Gomez *et al.* (2021) *Nostoc sphaericum* es una colonia de cianobacterias de coloración verde claro y verde oscuro y marrón, debido a pigmentos celulares como la clorofila *a* y la ficocianina; en algunos casos presentan coloración marrón debido al contenido de ficoeritrina. Su distribución abarca la principalmente Cordillera Andina, en el Perú en altitudes superiores a los 3 000 a 5 000 m s.n.m. en regiones como Cajamarca, Amazonas, Ancash, Huancayo, Cuzco, Junín, Puno, La Libertad, parte de la selva de Huánuco y Cerro de Pasco. Se encuentra en estado latente hasta la época de lluvias cuando comienzan rehidratarse y crecer alrededor de lagos y manantiales de aguas cristalinas y puras, ricas en nitrógeno y con contenido natural de cloruro de calcio, sulfatos de magnesio y otros elementos presentes en las lagunas y suelos húmedos. Además, la especie *Nostoc sphaericum* se encuentra en pozas de cultivo de arroz inundado o zonas de montaña en lugares como Noruega, China e Indonesia.

Asimismo, presentan una textura gelatinosa y esférica, y forma colonias tanto microscópicas, en tricomas simples que guardan similitud con las cuentas de un rosario, como macroscópicas con un diámetro que varía desde 10 a 25 mm, también, estas colonias macroscópicas presentan una capa externa firme como envoltura y no posee celulosa en su pared celular. Por otro lado, la cianobacteria ha desarrollado la fotosíntesis oxigénica y fija CO₂ atmosférico mediante el ciclo de Calvin.

Esta cianobacteria se caracteriza por su aspecto traslúcido similar a uvas y su sabor neutral. En cuanto a su composición nutricional presenta todos los aminoácidos, un 35 % de proteínas, un 42 % de grasas y minerales como calcio, fósforo, hierro, sodio y potasio, vitaminas B1, B2, B5 y B8, lo cual la convierte en un alimento nutricional. En su forma deshidratada, presenta mayor cantidad de proteínas, calcio y hierro en comparación con la carne de cuy. Además, el hidrocoloide natural del *Nostoc sphaericum* puede reemplazar los estabilizantes sintéticos en la industria alimentaria y farmacéutica.

Tabla 1*Clasificación taxonómica de la cianobacteria Nostoc sphaericum*

Clasificación científica	
Reino	<i>Protista (Primoplantae)</i>
División	<i>Cyanobacteria</i>
Clase	<i>Cyanophyceae</i>
Orden	<i>Nostocales</i>
Familia	<i>Nostocaceae</i>
Género	<i>Nostoc</i>
Especie	<i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahault

Nota. Tomado de Bornet É. y Flahault C. (1886 '1888'). Revision des Nostocacées hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France (quatrième et dernier fragment). <https://img.algaebase.org/pdf/AC11010A02dc21D98DOto1160BEC/16287.pdf>

1.2.8 Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores son dispositivos técnicos cerrados donde el cultivo de microorganismos fotosintéticos (microalgas, cianobacterias, entre otros) tienen poco o nulo contacto con la atmósfera. Las ventajas de los fotobiorreactores en comparación a los sistemas de cultivos abiertos es que presenta menores costos, alta productividad de biomasa de los microorganismos fotosintéticos, reducen los riesgos de contaminación del cultivo, proporcionando mayor control del cultivo y de las condiciones hidrodinámicas y de temperatura. El diseño técnico apropiado de los fotobiorreactores es fundamental para la producción de biomasa de los cultivos, en la actualidad se cuentan con diversos diseños de fotobiorreactores de tipo plano o tubular los cuales pueden ser adaptados a diversas configuraciones y metodología de operación (Benavente *et al.*, 2012).

Parámetros de diseño de fotobiorreactores

Ramírez *et al.* (2013), recomienda tener en consideración los siguientes parámetros para el diseño de fotobiorreactores:

Suministro de luz. El adecuado suministro de este parámetro permitirá evitar que la distancia entre el fotobiorreactor y la energía lumínica, la formación de biopelículas, el aumento celular del cultivo y la geometría de los fotobiorreactores generen zonas oscuras. La

denominada zona oscura impide el adecuado crecimiento de los microorganismos fotosintéticos, además, para sistemas cerrados como los fotobiorreactores se recomienda utilizar luz artificial (luz LED, lámparas de tungsteno, entre otros).

Provisión de CO₂. El carbono que necesitan los microorganismos fotosintéticos lo obtienen del gas CO₂ o bicarbonato HCO₃⁻, el CO₂ necesario para el cultivo se encuentra entre el 5 - 15 % de la aireación que se da a través de inyección continua o intermitente a los fotobiorreactores.

Acumulación de Oxígeno. En los fotobiorreactores el oxígeno se acumula debido al proceso de fotosíntesis que realizan las cianobacterias, el oxígeno al quedar atrapado en el fotobiorreactor genera un efecto tóxico, por ende, es necesario acondicionar una unidad de degasificación o aumentar la turbulencia del medio del cultivo con la finalidad de disminuir la concentración de oxígeno.

Mezcla. Este parámetro permite generar condiciones homogéneas de iluminación, favorecer la transferencia de nutrientes y energía, romper gradientes de difusión en la superficie celular, evitar la formación de estratos térmicos, retirar el oxígeno producto de la fotosíntesis y sobre todo evitar la formación de aglomerados que disminuyan la transferencia de masa, para ello, se recomienda utilizar un sistema híbrido de fotobiorreactor donde el aire ingrese a través de un tubo central.

El potencial de hidrogeno. Este parámetro tiende a incrementar debido al consumo de carbono por parte de los microorganismos fotosintéticos, disminuyendo la disponibilidad de nutrientes y afectando la polaridad de los compuestos del medio de cultivo; de allí la importancia de monitorear este parámetro.

Previsiones generales para escalamiento. Es recomendable para fotobiorreactores tubulares una longitud de 80 m y diámetro no mayor a 0,1 m con flujo de velocidad de 0,3 - 0,5 m/s y para fotobiorreactores tubulares verticales un diámetro no mayor a 0,2 m. La tapa de los fotobiorreactores debe permitir el ingreso de instrumentos de medición (potenciómetro, oxímetro) y permitir el ingreso y salida de gases.

1.2.9 Ficorremediación

La ficorremediación es el uso de microalgas, macroalgas y cianobacterias para la biotransformación de contaminantes, nutrientes, metales pesados y xenobióticos presentes en las aguas residuales. Las investigaciones actuales están encaminadas a la aplicación de las microalgas, macroalgas y cianobacterias para remediar nutrientes como el nitrógeno y el fósforo presentes en los efluentes, debido a que estos organismos requieren para su crecimiento nutrientes como el nitrógeno y fósforo para la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos para su desarrollo; otro requerimiento es el gas CO₂ que las hace tener una relación con las bacterias que habitan en el mismo medio que ellas, las bacterias generan CO₂ que es consumido por las macroalgas, microalgas y cianobacterias y estas generan O₂ que las bacterias necesitan para aumentar su población; la colaboración de estos dos organismos genera la biotransformación de los contaminantes presentes en las aguas y por ende, la mejora de la calidad de las aguas (Gani *et al.*, 2015).

La ficorremediación se ha utilizado en diversas aplicaciones: (a) eliminación de nutrientes y compuestos xenobióticos con la ayuda de bioabsorbentes a base de algas; (b) eliminación de nutrientes de aguas residuales municipales y efluentes ricos en materia orgánica, como también, en el tratamiento de efluentes residuales ácidas y metálicas; (c) transformar y degradar de xenobióticos; (d) captura de CO₂; y (e) detección de compuestos tóxicos con biosensores a base de algas (Gani *et al.*, 2015).

Sivasubramaniam (2013), citado por Gani *et al.* (2015) enumeró los beneficios del uso de microalgas en el tratamiento de la contaminación de las aguas residuales, los cuales se resumen en:

- La ficorremediación es un proceso rentable, ecológico y seguro.
- Las microalgas empleadas son organismos fotosintéticos no patógenos y no producen sustancias tóxicas.
- La ficorremediación reduce efectivamente la carga de nutrientes de las aguas residuales.
- La ficorremediación aumenta los niveles de oxígeno disuelto a través de la actividad fotosintética y elimina el CO₂ residual del aire.

- La biomasa de algas puede ser usada como alimento en la acuicultura y para la producción de biofertilizante.

1.2.10 Parámetros de medición de calidad de las aguas

Son indicadores matemáticos que permiten evaluar el grado de contaminación de los cuerpos acuáticos naturales, denominados parámetros físicoquímicos, los más relevantes son el pH, oxígeno disuelto, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), nitritos, nitratos, fosfatos y sólidos totales (ST). Estos parámetros permiten tener una extensa información de las características del agua y son monitoreados con mayor frecuencia que los parámetros microbiológicos (Samboni *et al.*, 2010).

Oxígeno disuelto (OD)

Es un elemento vital para la sobrevivencia de toda la vida acuática, la fuente principal es el aire que difunde el oxígeno por turbulencia en los ríos y por vientos en las lagunas. Los valores óptimos se encuentran en el rango de 7 a 8 mg/L.

Potencial de hidrógeno (pH)

Es la medida de la acidez o basicidad del agua de acuerdo con la concentración de hidrogeniones (H^+), el rango de medida es de 0 a 14. La mayoría de las especies acuáticas se desarrollan de manera adecuada en el rango de 6,5 a 8, mientras que en rangos diferentes la macrofauna es mínima.

Temperatura

La temperatura es un parámetro importante en el tratamiento de aguas residuales, debido a que en altas temperaturas el pH disminuye y en bajas temperaturas el pH aumenta.

El ion fosfato (PO_4^-) se forma del mineral fósforo inorgánico. Los fosfatos son sales del ácido fosfórico, son nutrientes indispensables para el desarrollo de las plantas, sin embargo, la presencia de grandes cantidades en los cuerpos acuáticos causa eutrofización, favorece el

crecimiento de lemnaceae, lirios, algas y cianobacterias, los mismos que al concluir su ciclo de vida se descomponen en el agua agotando el parámetro de oxígeno disuelto (Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA], 2009).

Nitratos

Los nitratos son compuestos indispensables para el desarrollo de las plantas, por ende, son producidos en forma industrial. Las actividades humanas son las principales generadoras de nitratos y nitritos en grandes concentraciones que contaminan los suelos y cuerpos acuáticos, estos compuestos están formados por el elemento nitrógeno, el nitrito (NO^{-2}) generalmente se convierte en nitrato (NO_3^{-}) (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017).

1.2.11 Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua

El Ministerio del Ambiente (MINAM, 2017) aprobó los estándares de calidad ambiental (ECA) para agua mediante el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM estableciendo como Categoría 2: *Extracción, cultivo y otras actividades marino-costeras y continentales* y la Subcategoría C4: *Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos o lagunas*, cuyo uso está destinado a la extracción o cultivo de especies hidrobiológicas para consumo humano; encontrándose bajo esta categoría la laguna Huaylacancha.

1.2.12 Procesos de remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales

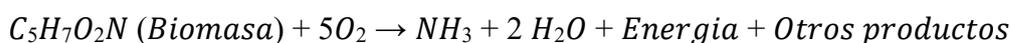
Cinética del nitrógeno

El nitrógeno en las aguas residuales se debe a diversas causas como la disolución atmosférica, materiales geológicos que contienen considerables cantidades de este elemento y la actividad antrópica de origen doméstico o industrial. Los efluentes piscícolas contienen nitrógeno principalmente por restos de alimentación y el proceso metabólico de los peces, la actividad piscícola introduce cerca 52 - 95 % de nitrógeno a los cuerpos naturales de agua (Iturbide, 2008). El nitrógeno es uno de los elementos más importantes en los ciclos biogeoquímicos debido a que se produce en diferentes estados de oxidación como nitrógeno orgánico, amoniacal (NH_4^{+}) u oxidado (NO^{2-} y NO^{3-}). En la naturaleza existen diferentes formas de remoción de estos compuestos, estos incluyen, la amonificación,

nitrificación/desnitrificación y metabolización por parte de organismos autótrofos (Quispe, 2018).

Las microalgas requieren de nitrógeno y fósforo, pues son esenciales para la formación de su biomasa, estos nutrientes son incorporados a sus organismos por absorción directa y se conoce que son eficientes en la biorremediación de estos nutrientes (Hernández-Pérez y Labbé, 2014). Las vías biológicas más importantes implicadas en la remoción del nitrógeno incluyen la amonificación, nitrificación y desnitrificación:

Amonificación. Es un proceso de oxidación endógena del nitrógeno orgánico, depende de la concentración de este, y este se acelera en medios aerobios, como resultado se obtiene amoniaco (NH_3) que por disolución se transforma en amonio (NH_4^+), este proceso resulta debido a la descomposición bacteriana y la hidrólisis del nitrógeno orgánico. La siguiente ecuación representa el proceso de amonificación:



La amonificación es importante en la remoción de nitrógeno, debido a que, este proceso hace posible que el nitrógeno orgánico esté disponible para la nitrificación (Water Environment Federation, 2011).

Nitrificación. Comprende dos reacciones biológicas en serie en el cual el nitrógeno amoniacal se transforma a nitratos, esta conversión se da gracias a las bacterias quimioautótrofas que son capaces de captar la energía producto de la oxidación de compuestos inorgánicos. La primera reacción que se produce es la transformación del amoniaco (NH_3) a nitrito (NO_2^-) por acción de las bacterias aeróbicas *Nitrosomas* y la segunda reacción es la transformación de nitrito a nitrato (NO_3^-) por acciones de bacterias facultativas *Nitrobacter*. La presencia de nitritos es muy inestable debido a que la cinética de reacción es limitada por la facilidad de transformación a nitratos (Cárdenas y Sánchez, 2013).

Desnitrificación. Es aquella etapa en el cual el nitrato (NO_3^-) pasa a nitrito y, posteriormente a nitrógeno gaseoso (óxido nítrico NO , óxido nitroso N_2O y nitrógeno diatómico N_2) en

medio de una fuente de carbono orgánica. La acción de una variedad de microorganismos (bacterias heterotróficas) en la desnitrificación es debido a que el nitrato y el nitrito reemplazan al oxígeno en la cadena de transporte de electrones (respiración microbiana), el nitrógeno gaseoso (N_2) es removido del agua a la atmósfera en condiciones anóxicas, sin embargo, en condiciones aeróbicas la desnitrificación se da cuando el nitrato (NO_3^-) se acumula en la biomasa. En este incrementa el pH debido a que la concentración de la alcalinidad incrementa y la concentración de ácido carbónico disminuye (Claros, 2012).

Cinética del fósforo

El fósforo de manera natural tiene su origen en la erosión de la roca apatita [$Ca_5(PO_4)_3OH$] y otros minerales fosforados, de forma antrópica las actividades industriales y agrícolas aportan grandes cantidades de fósforo a los medios acuáticos los mismos que ocasionan eutrofización. Es considerado un factor limitante, pues el fitoplancton lo utiliza en una relación de 106C:16N:1P, es más sencillo de controlar pues no presenta fases gaseosas como el nitrógeno y el carbono. En los medios acuáticos se encuentran en forma de ortofosfatos (PO_4^{2-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$), polifosfatos (Na^+PO_4)₆, $Na_5P_3O_{10}$) y organofosfatos. Para la transformación del fósforo están involucrados diversos procesos que involucran al fitoplancton, el zooplancton, la descomposición del detritus, la mineralización del fósforo orgánico, el equilibrio de partición disuelto/particulado, la sedimentación, la difusión con el sedimento, la adsorción sobre sólido y coprecipitación.

En las evaluaciones que buscan determinar los niveles de eutrofización de las lagunas se suele medir el fósforo proveniente del fitoplancton, debido a que, por cada miligramo de carbono utilizado por el fitoplancton se libera un miligramo de fósforo al medio acuático, además, el zooplancton presenta herbivorismo sobre el fitoplancton y consecuencia de ello aporta fósforo al medio acuático por excreción y muerte celular. También se suele medir, el fósforo orgánico que es el fósforo proveniente de la materia orgánica (fitoplancton y zooplancton) y la mineralización del fósforo orgánico tiene como producto al fósforo inorgánico. Por otro lado, la sedimentación de arcillas adsorbentes del fósforo promueven la disminución del elemento en la columna de agua, pero incrementa su contenido en las profundidades de las lagunas, convirtiendo a estas zonas en una fuente neta de fósforo biodisponible; estas sedimentaciones pueden afectar a los medios acuáticos de poca

profundidad y lagunas con escasa renovación, debido a que, la acumulación de fósforo soluble asociado a arcillas en algún momento pasará al agua intersticial y luego a la columna de agua llegando a generar un problema de hipereutrofización en las lagunas (Zouiten, 2012).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

1.3 Diseño de la investigación

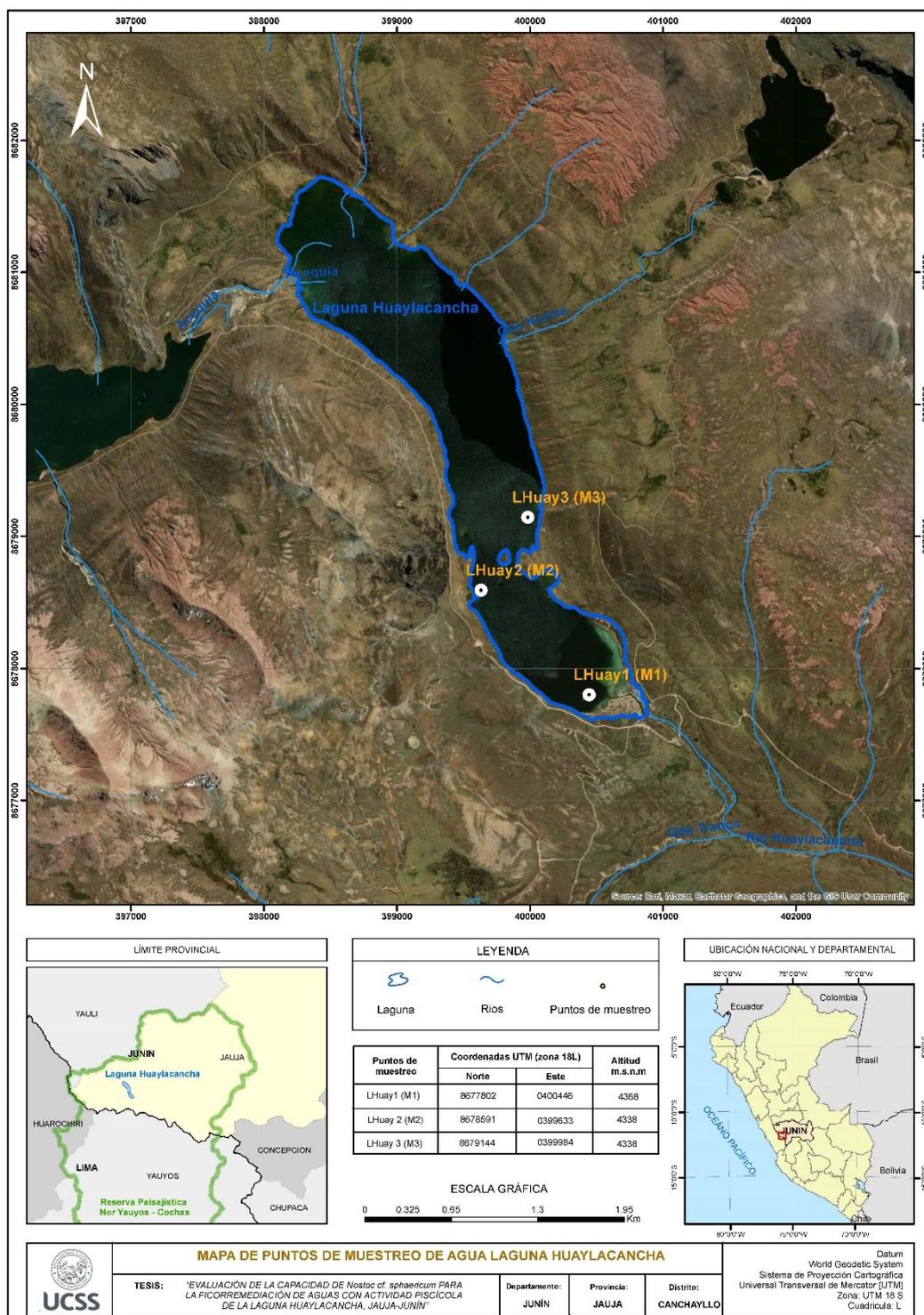
La investigación fue de carácter experimental debido a que se evaluó a través de tratamientos la capacidad de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* para ficorremediar aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha, Jauja-Junín. Asimismo, el estudio presentó un enfoque cuantitativo debido a que se recolectaron datos con el propósito de probar las hipótesis fundamentadas con base en la medición numérica de las variables en estudio y el análisis estadístico, a fin de establecer la capacidad de ficorremediación de la cianobacteria. Es de alcance exploratorio debido a que, el problema planteado en el presente estudio ha sido poco investigado y se presenta una nueva perspectiva sobre la aplicación biotecnológica de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* (Hernández *et al.*, 2014).

1.4 Lugar y fecha

La investigación comprendió trabajos de campo como colecta de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* y toma de muestras de agua de la laguna Huaylacancha (Figura 3). El desarrollo experimental se llevó a cabo durante el mes de octubre del 2021, en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la Facultad de Ingeniería Agraria de la Universidad Católica Sedes Sapientiae - Lima.

Figura 3

Mapa de puntos de muestreo de agua en la laguna Huaylacancha



1.5 Descripción del experimento

La investigación se realizó en tres etapas experimentales; (i) construcción de fotobiorreactores (Huayhua-Huamani *et al.*, 2019; Vásquez-Villalobos *et al.*, 2017), (ii)

caracterización morfológica y microscópica de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* (Deng *et al.*, 2008; Cadena *et al.*, 2013; Ortega y Vinueza, 2016) y (iii) evaluación de la capacidad de ficorremediación de cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* (Maynés, 2018; Saha *et al.*, 2018; El-Sheekh *et al.*, 2014; Kamilya *et al.*, 2006).

1.5.1 Construcción de los fotobiorreactores

Para la construcción de los fotobiorreactores se utilizaron 24 matraces Erlenmeyer de 1 L de capacidad, con las siguientes condiciones: iluminación suministrada por tubos LED de 8 watts de 60 cm de largo y 800 lúmenes instalados al exterior del matraz en dos niveles (3 000 y 1 500 lux) medido mediante un luxómetro Extech modelo LT300 (ver Apéndice D), fotoperiodos de luz/oscuridad 12/12 horas (encendido y apagado mediante un kit Arduino a las 6:00 y 18:00 h respectivamente) y 24/0 horas, temperatura del laboratorio a $16 \pm 1,5$ °C controlado a través del aire acondicionado y aireación general constante de 4 L/min mediante una bomba de aire. En la Figura 4, se muestra el módulo experimental por niveles, en el 1° nivel la iluminación fue de 1 500 lux con fotoperiodo de 24 horas luz para los tratamientos T4 y T3, en el 2° nivel la iluminación fue de 3 000 lux con fotoperiodo de 24 horas luz para los tratamientos T8 y T7, en el 3° nivel la iluminación fue de 1 500 lux con fotoperiodo de 12 horas luz para los tratamientos T2 y T1 y en el 4° nivel la iluminación fue de 3 000 lux con fotoperiodo de 12 horas luz para los tratamientos T6 y T5.

Figura 4

Fotobiorreactores dispuestos en el módulo experimental



1.5.2 Colecta y caracterización morfológica de muestras de la cianobacteria *Nostoc* cf. *sphaericum*

La cianobacteria *Nostoc* cf. *sphaericum* fue colectado de cochas pertenecientes a la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas con coordenadas UTM 0421804 E y 8672810 N a una altitud de 4 357 m s.n.m. La colecta se realizó utilizando guantes de látex, empleando el método del cuadrante 1x1 m (Figura 5a), el cual consistió en colectar la cantidad de *Nostoc* cf. *sphaericum* que se encuentre por cuadrante, repitiendo el proceso hasta obtener la cantidad de 1 000 g, necesaria para el estudio. Asimismo, se contó con los permisos de la Dirección Regional de Producción de la región Junín para la colecta de las muestras de cianobacteria (ver Apéndice E).

Las muestras de *Nostoc* cf. *sphaericum* colectadas fueron almacenadas en dos frascos PET con tapa circular cada uno con 1 L de capacidad, previamente enjuagado con agua mineral, el cual se llenó hasta un 80 % de su capacidad total para evitar compactar las colonias

globulares y se adicionó agua mineral para la preservación y posterior transporte (Figura 6a). Asimismo, se midió características del hábitat como pH, temperatura y oxígeno disuelto del agua de las cochas en las que se colectó la cianobacteria (Figura 5b). Por último, las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la Facultad de Ingeniería Agraria de la UCSS.

Figura 5

Colecta de la cianobacteria Nostoc cf. sphaericum Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas

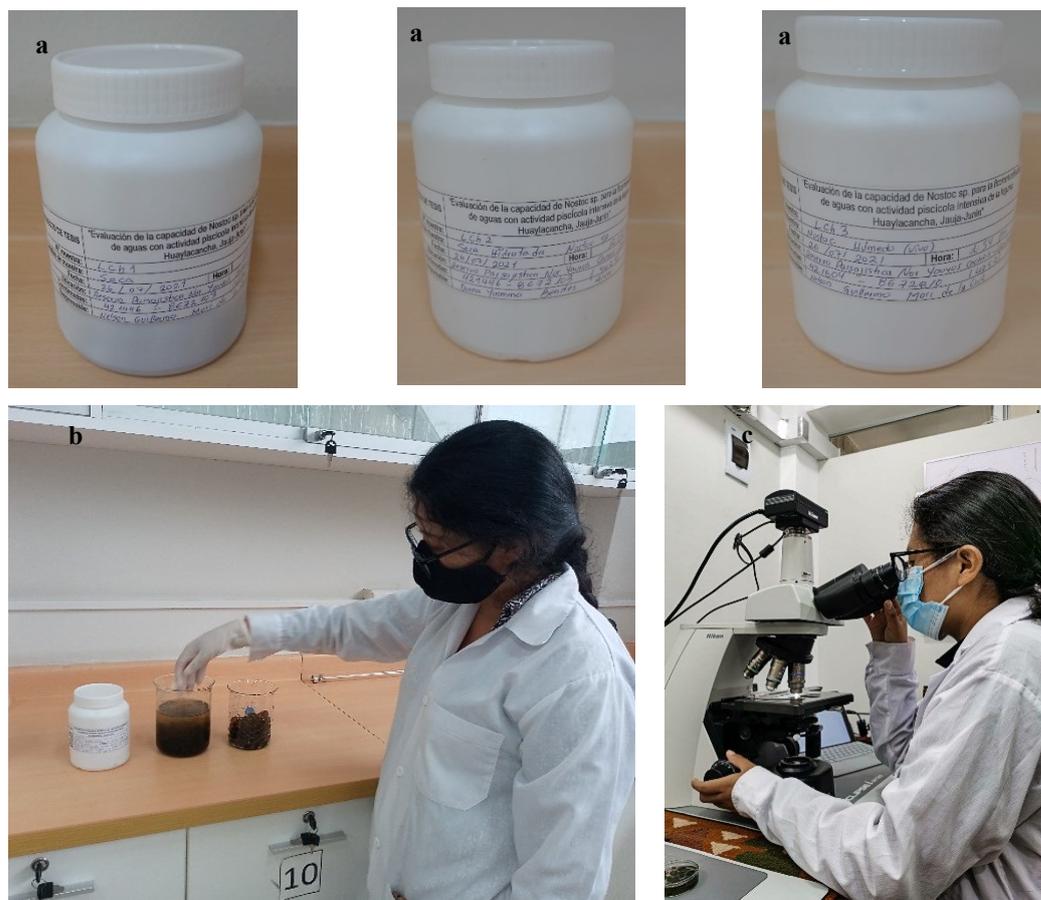


Nota. Colecta *Nostoc cf. sphaericum* (a) y medición de parámetros de campo (b).

En el laboratorio, se llevó a cabo la limpieza de las muestras de *Nostoc cf. sphaericum*, retirando materiales extraños y lavando con agua de mineral (Figura 6a y 6b) y observando al microscopio con la finalidad de determinar la presencia de otras cianobacterias, microalgas o protozoarios. Posteriormente, se realizó la caracterización morfológica en base a la observación macroscópica de la forma, tamaño, color y textura de las colonias; y a nivel microscópico, haciendo uso de un microscopio Nikon eclipse Ci-L (DS-Fi3) con aumento de 40x, 60x y 100x, para determinar el tamaño, forma de la célula vegetativa, presencia de vaina mucilaginosa y presencia de heterocistos (Figura 6c). Los rasgos macroscópicos y microscópicos observados fueron comparados con investigaciones previas donde se detalla las características distintivas del género *Nostoc cf. sphaericum*. para su identificación (Moncayo, 2017).

Figura 6

Caracterización macroscópica y microscópica de Nostoc cf. sphaericum



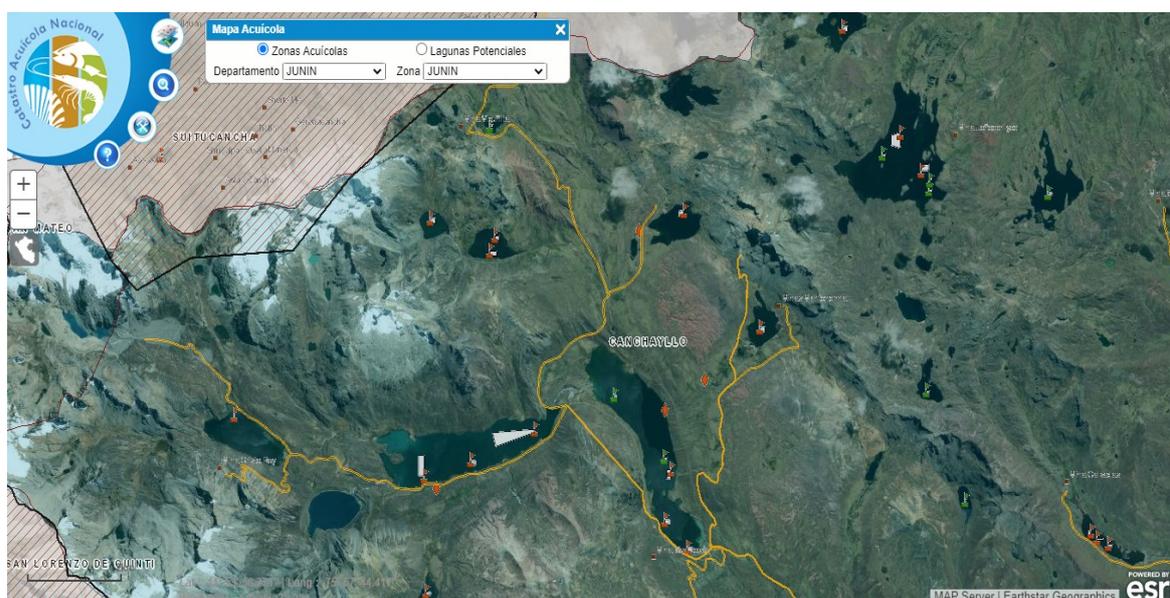
Nota. Muestras de *Nostoc cf. sphaericum* (a) limpieza de muestras de *Nostoc cf. sphaericum* (b) y caracterización macroscópica y microscópica (c).

1.5.3 Muestreo y caracterización fisicoquímica de aguas de la laguna Huaylacancha

Las muestras de agua se tomaron de la laguna Huaylacancha siguiendo el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de Recursos Hídricos Superficiales (Autoridad Nacional del Agua [ANA], 2016). Los puntos de muestreo fueron determinados según los criterios establecidos en el protocolo, que comprende aspectos como la actividad antrópica, actividad productiva de crianza de truchas *Oncorhynchus mykiss* y entre otros (Figura 7). En cada punto de muestreo se midieron los siguientes parámetros de campo: temperatura, pH, y OD con un equipo multiparámetro HANNA Instruments modelo HI 9813-6 (Tabla 2 y Figura 8).

Figura 7

Actividad acuícola en lagunas de Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas



Nota. Las banderas rojas representan concesiones para la categoría productiva de “Acuicultura de Micro y Pequeña Empresa (AMYPE)” del Catastro Acuícola Nacional. Tomado de Ministerio de la Producción [PRODUCE] (2021). <http://catastroacuicola.produce.gob.pe/web/>

Tabla 2

Puntos de muestreo establecidos en la laguna Huaylacancha

Puntos de muestreo	Coordenadas UTM (zona 18 L)		Altitud m s.n.m.
	N	E	
LHuay1 (M1)	8677802	0400446	4 368
LHuay2 (M2)	8678591	0399633	4 338
LHuay3 (M3)	8679144	0399984	4 373

Con el fin de determinar los parámetros de nitratos y fosfatos, se procedió a tomar 10 L de muestras de agua de cada uno de los tres puntos de muestreo (Figura 9) mediante la utilización de bidones de plástico y debidamente rotulados, que fueron transportadas al laboratorio bajo cadena de frío en una caja térmica (*cooler*) a 4 °C. Además, en cada punto se detalló las características y condiciones del cuerpo de agua superficial, así como la actividad humana y otros factores que podrían alterar el estado natural de la laguna.

Figura 8

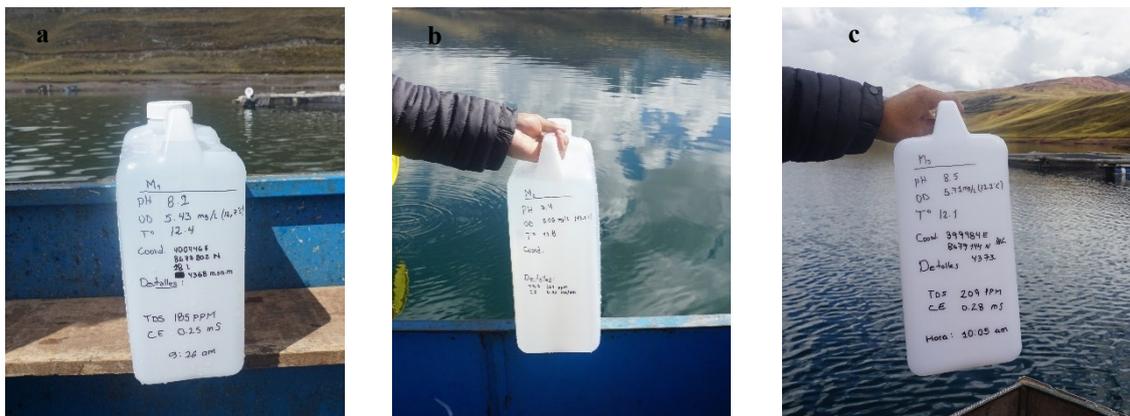
Jaulas de cultivo de trucha en los tres puntos de muestreo en la laguna Huaylacancha



Nota. Puntos de toma de muestras de agua LHuay 1 (M1), LHuay 2 (M2), LHuay 3 (M3).

Figura 9

Muestras de agua de la laguna Huaylacancha en los puntos de muestreo



Nota. Muestras de agua M1 (a), M2 (b) y M3 (c).

1.5.4 Evaluación de la capacidad de fitorremediación de *Nostoc cf. sphaericum* en fotobiorreactores de las aguas de la laguna Huaylacancha

Las biomásas de 20 g y 40 g de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* se inocularon en los fotobiorreactores con un litro de muestra de agua de la laguna Huaylacancha (Figura 10). Para evaluar la capacidad de fitorremediación de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* se analizaron los parámetros de nitratos y fosfatos mediante el colorímetro HACH DR900 (ver Apéndice B), temperatura, pH y oxígeno disuelto con multiparámetro HACH HQ40d (ver Apéndice C). El periodo de experimentación fue de 16 días, en el que se analizaron cada 4 días, todos los parámetros mencionados en cada una de las 24 unidades experimentales (fotobiorreactores). Para ello, se tuvo en cuenta el uso de los instrumentos adecuados y la metodología de análisis a emplear por cada parámetro. Asimismo, se determinó el incremento de biomasa de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* a través de la diferencia de la biomasa inicial y final.

Figura 10

*Inoculación de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum**



1.6 Tratamientos

La investigación se realizó utilizando un diseño en bloques completos al azar, considerando cada bloque a la muestra de agua colectada en un punto de muestreo. La estructura de los tratamientos correspondió a un experimento factorial 2^3 , siendo el primer factor la iluminación (1500 y 3000 lux), el segundo factor el fotoperiodo (12/12 y 24/0 luz/oscuridad) y el tercer factor la biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum* (20 y 40 g), como se detalla en la Tabla 3. En base a la configuración factorial se obtuvo un total de 8 tratamientos dispuestos en tres bloques (M1, M2 y M3).

Tabla 3*Estructura de los bloques y tratamientos experimentales*

Bloques	Tratamientos	Factores		
		Iluminación (lux)	Fotoperiodo (h)	Biomasa inicial (g)
M1	T1	1 500	12:12	20
	T2	1 500	12:12	40
	T3	1 500	24:0	20
	T4	1 500	24:0	40
	T5	3 000	12:12	20
	T6	3 000	12:12	40
	T7	3 000	24:0	20
	T8	3 000	24:0	40
M2	T1	1 500	12:12	20
	T2	1 500	12:12	40
	T3	1 500	24:0	20
	T4	1 500	24:0	40
	T5	3 000	12:12	20
	T6	3 000	12:12	40
	T7	3 000	24:0	20
	T8	3 000	24:0	40
M3	T1	1 500	12:12	20
	T2	1 500	12:12	40
	T3	1 500	24:0	20
	T4	1 500	24:0	40
	T5	3 000	12:12	20
	T6	3 000	12:12	40
	T7	3 000	24:0	20
	T8	3 000	24:0	40

1.7 Unidades experimentales

La unidad experimental consistió en 01 fotobiorreactor a base de matraz de Erlenmeyer de 1 L de capacidad, como se muestra en la Figura 11. Cada tratamiento tuvo tres réplicas, resultando un total de 24 fotobiorreactores.

Figura 11

Configuración del fotobiorreactor utilizando matraz Erlenmeyer



1.8 Identificación de variables y su mensuración

Las variables o parámetros evaluados en el presente estudio se definieron en función de cada uno de los objetivos a ser alcanzados en la investigación, las mismas se detallan a continuación:

1.8.1 Caracterización fisicoquímica

La caracterización de parámetros físicos y químicos se realizó de acuerdo con los Métodos Estándar para evaluar la calidad de agua y aguas residuales (American Public Health Association [APHA] *et al.*, 2017).

Temperatura (grados Celsius)

El método empleado para determinar la temperatura fue SM 2550 B, utilizando un termómetro digital (APHA *et al.*, 2017).

Potencial de hidrógeno (pH)

El pH fue medido según el método SM 4500 H + B basado en la actividad de iones H^+ . Para ello se utilizó un equipo multiparámetro debidamente calibrado conectado a una sonda de pH (APHA *et al.*, 2017).

Oxígeno disuelto

Para la medición del oxígeno disuelto (OD), se utilizó la metodología del SM 4500-O G o método de electrodo de membrana, el cual consiste en calibrar el equipo con agua destilada, evitando la calibración con el agua problema ya que esto daría un resultado erróneo. Para la medición de las muestras de aguas piscícolas se consideró tener suficiente flujo de muestra a través de la superficie de la membrana. Finalmente, para validar el efecto de la temperatura se debe comprobar de manera frecuente de uno a dos puntos los datos de corrección de la temperatura (APHA *et al.*, 2017).

Determinación de nitratos

Para la medición del parámetro nitratos se utilizó el Método de Reducción de Cadmio (SM 4500- NO_3^- E), en el cual el cadmio metálico reduce el nitrato de la muestra a nitrito. El ion nitrito reacciona con ácido sulfanílico para formar una sal de diazonio intermedia. La sal se acopla con ácido gentísico para formar una solución de color ámbar. El procedimiento de medición emplea 10 mL de muestra de agua problema en una celda con contenido de un sobre de reactivo en polvo NitraVer 5 Nitrato Hach, la celda se agita por 1 minuto para luego dejar reposar por un intervalo de 5 minutos, para finalmente realizar la lectura en el equipo colorímetro DR900, teniendo en cuenta que se debe realizar la lectura del blanco por cada muestra de agua problema (APHA *et al.*, 2017).

Determinación de fosfatos

Para la medición de los fosfatos se utilizó el método del ácido ascórbico (Standard Method 4500-PE) en el cual, el ortofosfato reacciona con el molibdato en un medio ácido para producir una mezcla complejo fosfato/molibdato. El ácido ascórbico luego reduce el complejo, lo que da un intenso color azul molibdeno. El procedimiento de medición emplea

10 mL de muestra de agua problema en una celda con contenido de un sobre de reactivo en polvo PhosVer® 3 fosfato1 Hach, la celda se agita por 10 a 15 segundos para luego dejar reposar por un intervalo de 2 minutos, finalmente se realiza la lectura en el equipo colorímetro DR900, teniendo en cuenta que se debe realizar la lectura del blanco por cada muestra de agua problema (APHA *et al.*, 2017).

1.8.2 Porcentaje de ficorremediación de nitratos y fosfatos

Para determinar el porcentaje de ficorremediación se empleó la siguiente ecuación, el mismo que relaciona variación de los parámetros de nitratos y fosfatos antes y después del tratamiento:

$$\% \text{ remoción} = 100 - ((100 * C_i) / C_f)$$

Donde:

C_i: Concentración inicial (nitratos y fosfatos).

C_f: Concentración luego del tratamiento (nitratos y fosfatos).

1.8.3 Medición del incremento biomasa de *Nostoc cf. sphaericum*

El incremento de biomasa de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$K = (bf - bi)$$

Donde:

bf: biomasa final de *Nostoc cf. sphaericum*

bi: biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum*

K: incremento de biomasa

En la Tabla 4, se muestra el resumen de los parámetros evaluados y las metodologías empleadas en el estudio.

Tabla 4*Parámetros evaluados en la investigación, unidades de medida y metodologías*

Parámetros	Unidad	Metodología
Temperatura	°C	2550 B temperatura
Potencial de hidrógeno (pH)	Unidad de pH	SM 4500 H ⁺ B
CE	μS/cm	SM 2510 CONDUCTIVITY
TDS	ppm	2540 SOLIDS
Oxígeno disuelto	mg/L	SM 4500-O G
Nitratos	mg/L	SM 4500-NO ₃ ⁻ E nitratos
Fosfatos	mg/L	SM 4500-P E fosfatos
Porcentaje de remoción de nitratos y fosfatos	%	$\% r = 100 - ((100 * Cf) / Ci)$
Incremento de biomasa de <i>Nostoc cf. sphaericum</i>	g	$K = (bf - bi)$

1.9 Diseño estadístico del experimento

Para la generación de los datos experimentales, se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con arreglo factorial 2³, siendo los factores la iluminación, el fotoperiodo y la biomasa inicial de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum*, considerando como bloques las muestras de aguas M1, M2 y M3 procedentes de distintos puntos de muestreo de la laguna Huaylacancha. La finalidad del bloqueo fue reducir y controlar la varianza del error experimental debido a las distintas concentraciones de nutrientes en cada punto de muestreo. La investigación tuvo ocho tratamientos y tres bloques teniendo en total 24 unidades experimentales.

1.10 Análisis estadístico de datos

Los resultados experimentales se analizaron mediante análisis de varianza (software STATISTICA Ver. 10) ($p \leq 0,05$), considerando como fuentes de variación los bloques (M1, M2 y M3) y los factores de iluminación, fotoperiodo y biomasa inicial. Para la presentación de los resultados, se incluyeron gráficos de interacción, tablas de medias y desviaciones estándar.

1.11 Materiales y equipos

La ejecución del proyecto se realizó utilizando materiales y equipos propios y del Laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la FIA, estos se detallan en la Tabla 5.

Tabla 5

Materiales y equipos utilizados en la ejecución del proyecto

	Materiales y equipos	Unidad	Cantidad
Materiales	Bidones PET 10 L	Unidad	3
	Frascos PET 1 L	Unidad	3
	Kit arduino	Unidad	1
	Matraces Erlenmeyer de 1 L	Unidad	24
	<i>Nostoc cf. sphaericum</i> (Cushuro)	g	1 000
	Placas Petri	Unidad	25
	Tubos LED de 8 watts	Unidad	16
	Vasos precipitados	Unidad	5
Equipos	Aire acondicionado	Unidad	1
	Autoclave	Unidad	1
	Balanza analítica	Unidad	1
	Calibrador Vernier	Unidad	1
	Colorímetro HACH DR900	Unidad	1
	GPS	Unidad	1
	Luxómetro Extech modelo Lt300	Unidad	1
	Microscopio Nikon eclipse Ci-L (DS-Fi3)	Unidad	1
	Multiparámetro HACH HQ40d	Unidad	1
	Multiparámetro HANNA HI 9813-6	Unidad	1
Termómetro ambiental	Unidad	1	

CAPÍTULO III: RESULTADOS

2.1 Caracterización morfológica de la cianobacteria *Nostoc* cf. *sphaericum*

Las muestras de cianobacteria colectadas en la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas presentan características morfológicas descritas para *Nostoc* cf. *sphaericum* (Cadena *et al.*, 2013). En base a la observación macroscópica se determinó la forma, tamaño, color y textura de las colonias de *Nostoc* cf. *sphaericum*; y a nivel microscópico el tamaño y forma de la célula vegetativa, presencia de vaina mucilaginosas y presencia de heterocistos, tal como se detalla en la Tabla 6. Se realizaron 10 mediciones de células vegetativas y heterocistos en 10 glóbulos con la finalidad de determinar el tamaño a nivel microscópico. En la Figura 12, se muestran los glóbulos de *Nostoc* cf. *sphaericum* (a), mucílago (b), células vegetativas (c) y el heterocisto (d).

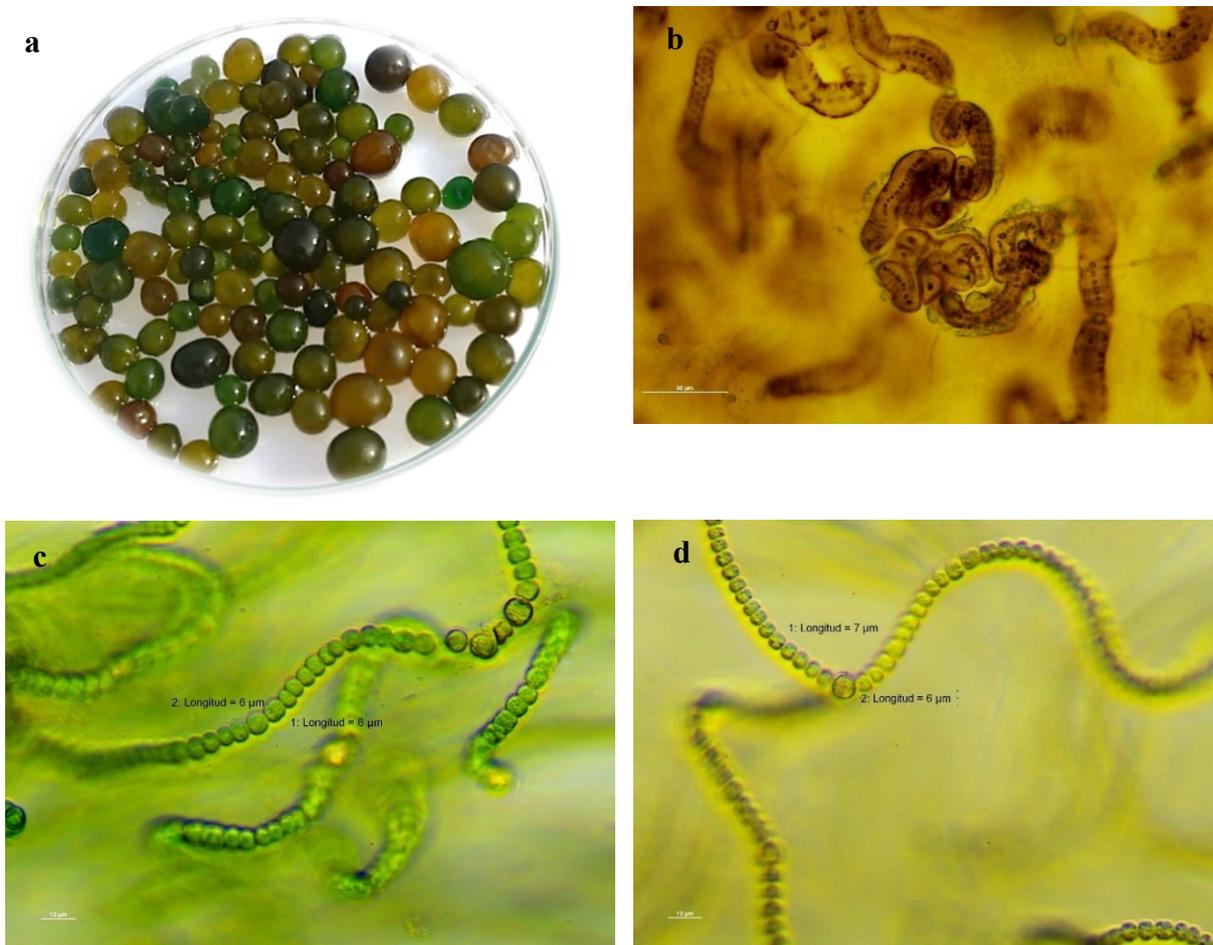
Tabla 6

Características macroscópicas y microscópicas de muestras de Nostoc cf. sphaericum

Características	Descripción
Nombre común	“cushuro”
Familia	Nostocaceae
Nombre científico	<i>Nostoc</i> cf. <i>sphaericum</i>
Forma	Esférica
Tamaño de diámetro	3,6 mm – 9,1 mm
Color	Marrón dorado a oliva
Textura	Gelatinosa
Mucílago	Fino y transparente
Célula vegetativa	En forma de barril casi esféricas 6x6 μ m
Heterocisto	En forma de barril casi esféricas 7x6 μ m

Figura 12

Ilustración de las características macroscópicas y microscópicas de muestras de *Nostoc cf. sphaericum*



Nota. a. Glóbulos. b. Mucilago. c. Célula vegetativa d. Heterocisto

En la Tabla 7, se muestra los resultados de la medición de las condiciones fisicoquímicas del agua de las cochas de colecta de *Nostoc cf. sphaericum* de la reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas, dónde se registraron en promedio 16,3 °C de temperatura, 7,8 de pH y 8,2 mg/L de oxígeno disuelto.

Tabla 7

Condiciones fisicoquímicos del agua de las cochas de colecta de Nostoc cf. sphaericum

Parámetro	Temperatura (°C)	pH	OD (mg/L)
Cocha 1	16,6	7,4	6,79
Cocha 2	16,4	7,7	8,93
Cocha 3	15,9	8,3	8,9
Promedio	16,3	7,8	8,2

2.2 Parámetros fisicoquímicos de muestras de agua de la laguna Huaylacancha

La caracterización fisicoquímica de los parámetros de nitratos, fosfatos, pH, temperatura y oxígeno disuelto de los tres puntos de muestreo M1, M2 y M3 de la laguna Huaylacancha como se muestran en la Tabla 8. Asimismo, en los tres puntos existen concesiones para el cultivo de trucha, en los puntos M1 y M2 la concesión abarca 1 hectárea y en el punto M3 abarca 1,8 hectáreas.

La concentración de nitratos fue de 1,33 mg/L en M1 y M2, mientras que, en M3 alcanzó 3,1 mg/L. La concentración de fosfatos en M1 fue de 1,37 mg/L y en M2 y M3 fue de 0,71 y 0,62 mg/L respectivamente. La temperatura del agua en M1 fue de 12,4 °C, en M2 fue de 11,8 °C y en el M3 fue de 12,1 °C. El pH de las muestras de agua fue de 8,2, 7,4 y 8,5 en los puntos M1, M2 y M3, respectivamente. En cuanto al Oxígeno Disuelto en M1 fue 5,43 mg/L, en M2 fue de 5,06 mg/L y en M3 fue de 5,71 mg/L. Los Sólidos Totales Disueltos (TDS) en M1 fue de 185 ppm, en M2 fue de 261 ppm y en M3 fue de 209 ppm; y la conductividad eléctrica (CE) en M1 fue de 250 μ S/cm, en M2 fue de 300 μ S/cm y en M3 fue de 280 μ S/cm.

Tabla 8

Resultados de la caracterización fisicoquímica de los puntos de muestreo en la laguna Huaylacancha

Puntos de muestreo	Parámetros fisicoquímicos						
	Nitratos (mg/L)	Fosfatos (mg/L)	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno disuelto (mg/L)	TDS (ppm)	CE (μS/cm)
M1	1,33	1,37	12,4	8,2	5,43	185	250
M2	1,33	0,71	11,8	7,4	5,06	261	300
M3	3,10	0,62	12,1	8,5	5,71	209	280
Promedio	1,92	0,90	12,1	8,03	5,40	218	277

2.3 Efecto de la biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum*, iluminación y fotoperiodo en la fitorremediación de aguas con actividad piscícola de la laguna Huaylacancha

2.3.1 Concentración de nitratos

Los resultados del análisis de varianza de la concentración de nitratos (Tabla 9) indican que hubo efecto significativo de los bloques ($p \leq 0,05$), asimismo se evidenciaron efectos principales significativos de la biomasa inicial ($p \leq 0,05$), periodo de fitorremediación ($p \leq 0,05$) y efectos de interacción fotoperiodo*biomasa inicial ($p \leq 0,05$) y biomasa inicial*periodo de fitorremediación ($p \leq 0,05$), significando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los valores de los nitratos obtenidos.

Tabla 9

Análisis de varianza de la concentración de nitratos considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Bloque	1,7891	2	0,8946	3,3685	0,039520
Iluminación	0,1635	1	0,1635	0,6158	0,434981
Fotoperiodo	0,0065	1	0,0065	0,0246	0,875691
Biomasa inicial	4,7689	1	4,7689	17,9574	0,000061
PF	23,0658	4	5,7664	21,7139	0,000000
Iluminación *Fotoperiodo	0,1635	1	0,1635	0,6158	0,434981
Iluminación *Biomasa inicial	0,1635	1	0,1635	0,6158	0,434981
Fotoperiodo*Biomasa inicial	1,1055	1	1,1055	4,1630	0,044702
Iluminación * PF	0,7196	4	0,1799	0,6774	0,609661
Fotoperiodo * PF	1,2037	4	0,3009	1,1331	0,347136
Biomasa inicial* PF	3,2447	4	0,8112	3,0545	0,021545
Iluminación * Fotoperiodo *Biomasa inicial	0,0065	1	0,0065	0,0246	0,875691
Iluminación *Fotoperiodo* PF	0,4579	4	0,1145	0,4311	0,785770
Iluminación * Biomasa inicial * PF	0,0654	4	0,0164	0,0616	0,992860
Fotoperiodo*Biomasa inicial * PF	0,5626	4	0,1406	0,5296	0,714298
Iluminación* Fotoperiodo* Biomasa inicial* PF	0,3532	4	0,0883	0,3325	0,855283
Error	20,7141	78	0,2656		

Nota. PF: Periodo de ficorremediación.

Al haber encontrado interacciones significativas en el ANOVA ($p \leq 0,05$); el análisis de la concentración de nitratos se centrará en el estudio de las interacciones entre el fotoperiodo y la biomasa inicial y entre la biomasa y el periodo de ficorremediación. Los promedios y las desviaciones estándar de la concentración de nitratos (mg/L) se muestran en la Tabla 10 y la Figura 13, donde se observa que, para 12 h de fotoperiodo no hubo diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la concentración de nitratos para biombras iniciales de 20 y 40 g, registrando en promedio 1,27 y 1,48 mg/L de nitratos para 20 y 40 g, respectivamente, mientras que, para 24 h de fotoperiodo, la concentración de nitratos promedio presentado con 40 g de biomasa inicial (1,68 mg/L) fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) que el nivel promedio

presentado con 20 g de biomasa inicial (1,09 mg/L), evidenciándose el efecto de interacción entre el fotoperiodo y la biomasa inicial.

Respecto a la interacción entre la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación, se observa en la Tabla 11 y Figura 14 que en el día 0 los análisis de caracterización mostraron 1,92 mg/L de nitratos, en el día 4 la concentración de nitratos para 20 g disminuyó a 1,4 mg/L, mientras que, para 40 g se incrementó a 2,36 mg/L; en el día 8, la concentración de nitratos disminuyó hasta 0,85 mg/L con 20 g y 1,29 mg/L para 40 g, en el día 12 la concentración de nitratos se mantuvo en 0,96 mg/L para 20 g y 1,40 mg/L para 40 g, finalmente en el día 16, se alcanzaron los niveles más bajos de nitratos, siendo estos de 0,78 y 0,92 mg/L para 20 y 40 g, respectivamente. En la Figura 14, se observa una tendencia decreciente en la concentración de nitratos para ambas biomasa, evidenciándose una mayor disminución durante todo el periodo de ficorremediación para biomasa inicial de 20 g de *Nostoc cf. sphaericum*.

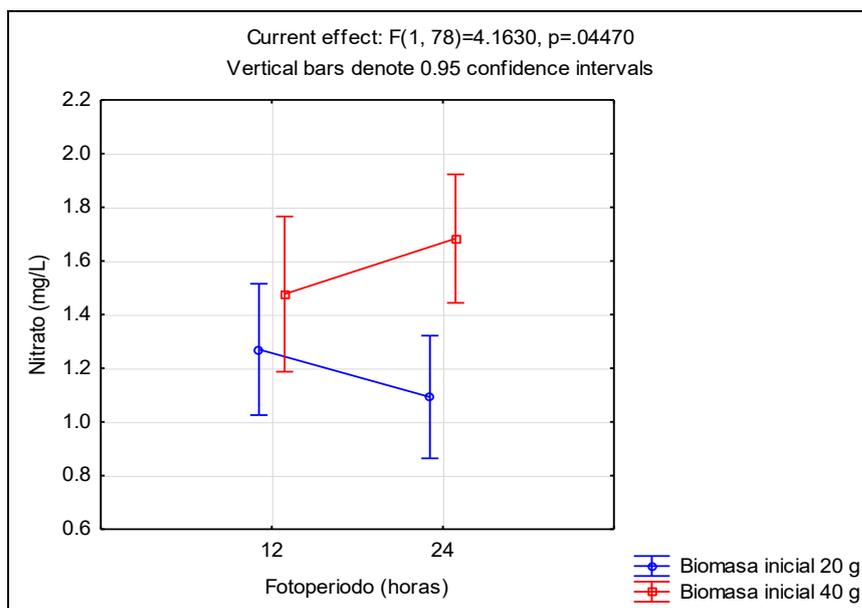
Tabla 10

*Valores promedio y desviaciones estándar de la concentración de nitratos según el fotoperiodo*biomasa inicial y la biomasa inicial*periodo de ficorremediación*

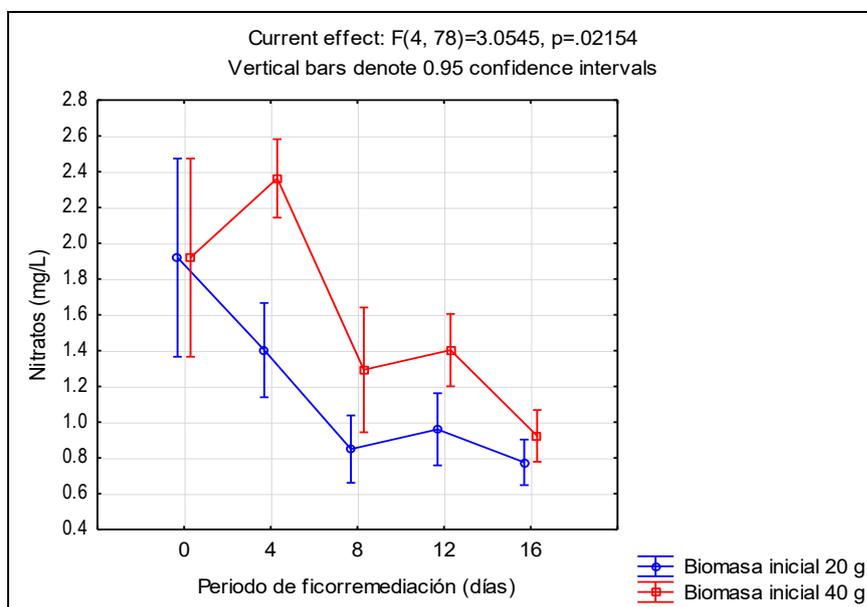
Fuente de variación		Promedio y desviación estándar de la concentración de nitratos (mg/L)	
		Biomasa inicial 20 g	Biomasa inicial 40 g
		Fotoperiodo (h)	
	12	1,27 ± 0,655	1,48 ± 0,775
	24	1,09 ± 0,613	1,68 ± 0,641
Periodo de ficorremediación (día)			
	0	1,92 ± 0,872	1,92 ± 0,872
	4	1,40 ± 0,415	2,36 ± 0,345
	8	0,85 ± 0,296	1,29 ± 0,549
	12	0,96 ± 0,318	1,40 ± 0,318
	16	0,78 ± 0,200	0,92 ± 0,228

Figura 13

*Concentración de nitratos (mg/L) según el fotoperiodo*biomasa inicial*

**Figura 14**

*Valor promedio de la concentración de nitratos (mg/L) según el periodo de fitorremediación*biomasa inicial*



Los niveles de remoción de nitratos se muestran en la Tabla 11, donde se observa que, con la biomasa inicial de 20 g se alcanzó una remoción máxima de 59,4 % y con 40 g, una reducción del 52,1 % en 16 días de fitorremediación. Para ambas biomasa iniciales se

evidenciaron niveles crecientes de remoción durante el periodo de fitorremediación, registrándose porcentajes mayores de remoción con 20 g de biomasa.

Tabla 11

Niveles de remoción de nitratos según el periodo de fitorremediación y la biomasa inicial del Nostoc cf. sphaericum

Periodo de fitorremediación (días)	Biomasa inicial 20 g		Biomasa inicial 40 g	
	Promedio de nitratos (mg/L)	Remoción (%)	Promedio de nitratos (mg/L)	Remoción (%)
0	1,92 ± 0,872	0	1,92 ± 0,872	0
4	1,40 ± 0,415	27,1	2,36 ± 0,345	+22,9 *
8	0,85 ± 0,296	55,7	1,29 ± 0,549	32,8
12	0,96 ± 0,318	50,0	1,40 ± 0,318	27,1
16	0,78 ± 0,200	59,4	0,92 ± 0,228	52,1

Nota: *Incremento del 22,9 % de la concentración de nitratos.

2.3.2 Concentración de fosfatos

Los resultados del análisis de varianza la concentración de fosfatos (Tabla 12) muestran efecto significativo de los bloques ($p \leq 0,05$), indicando que hubo diferencias significativas en los niveles de fosfatos en cada punto de muestreo. Asimismo, la tabla ANOVA muestra que el único factor con efecto significativo en los niveles de fosfatos fue el periodo de fitorremediación ($p \leq 0,05$).

Tabla 12

Análisis de varianza de la concentración de fosfatos (mg/L) considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de fitorremediación

Fuente de variación	SC	GL	CM	F	p
Bloque	0,0397	2	0,0198	8,8850	0,000334
Iluminación	0,0022	1	0,0022	1,0016	0,320017
Fotoperiodo	0,0017	1	0,0017	0,7830	0,378941
Biomasa inicial	0,0004	1	0,0004	0,1807	0,671969
PF	0,2612	4	0,0653	29,2547	0,000000
Iluminación *Fotoperiodo	0,0002	1	0,0002	0,0753	0,784540
Iluminación *Biomasa inicial	0,0001	1	0,0001	0,0373	0,847300
Fotoperiodo*Biomasa inicial	0,0005	1	0,0005	0,2150	0,644159
Iluminación * PF	0,0047	4	0,0012	0,5275	0,715797
Fotoperiodo * PF	0,0016	4	0,0004	0,1839	0,946121
Biomasa inicial* PF	0,0004	4	0,0001	0,0472	0,995718
Iluminación * Fotoperiodo *Biomasa inicial	0,0001	1	0,0001	0,0538	0,817265
Iluminación *Fotoperiodo* PF	0,0017	4	0,0004	0,1858	0,945160
Iluminación * Biomasa inicial * PF	0,0053	4	0,0013	0,5926	0,669013
Fotoperiodo*Biomasa inicial * PF	0,0010	4	0,0002	0,1096	0,978845
Iluminación* Fotoperiodo* Biomasa inicial*	0,0058	4	0,0014	0,6482	0,629826
PF					
Error	0,1741	78	0,0022		

Nota. PF: Periodo de fitorremediación.

Al no haber encontrado interacciones significativas, el análisis se centrará en el estudio del periodo de fitorremediación ($p \leq 0,05$). En la Tabla 13 y Figura 15, se muestran los valores promedio y las desviaciones estándar de la concentración de fosfatos (mg/L) según el periodo de fitorremediación, donde se observa que, en el día 0 la concentración de fosfatos se inició con un valor promedio de 0,20 mg/L, reduciéndose en el día 4 a 0,09 mg/L de fosfatos, alcanzando su nivel más bajo el día 8 con un valor promedio de 0,07 mg/L, equivalente al 65 % de remoción; sin embargo, en el día 12 se incrementó a 0,12 mg/L, finalizando el periodo de fitorremediación en el día 16 con 0,09 mg/L de fosfato, que representa una reducción de 55 %.

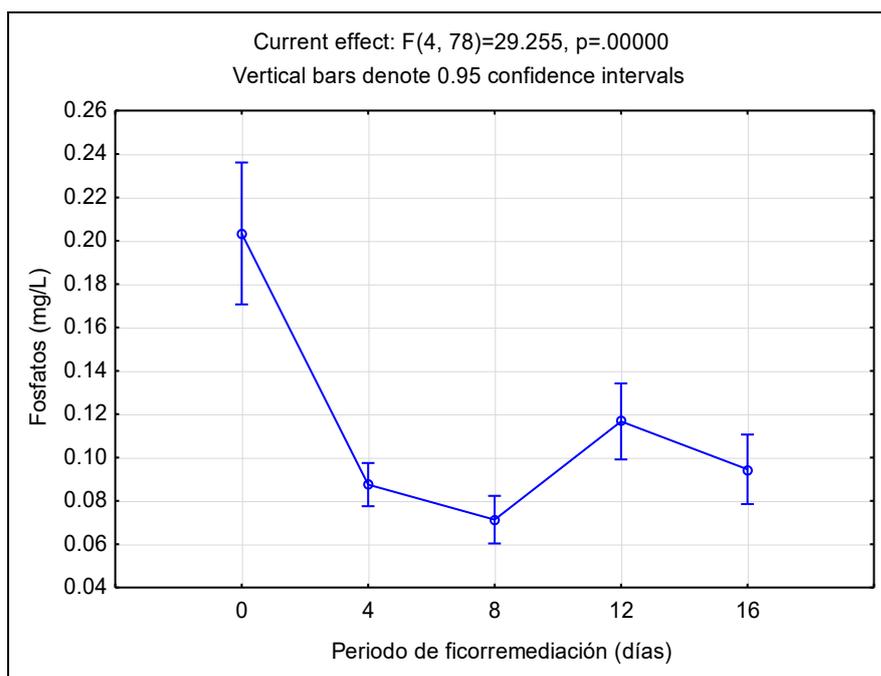
Tabla 13

Valores promedio, desviaciones estándar y % de remoción de fosfatos según el periodo de fitorremediación

Periodo de fitorremediación (días)	Promedio y desviación estándar del nivel de fosfatos (mg/L)	Remoción (%)
0	0,20 ± 0,0775	0
4	0,09 ± 0,0236	55
8	0,07 ± 0,0261	65
12	0,12 ± 0,0416	40
16	0,09 ± 0,0380	55

Figura 15

Concentración promedio de fosfatos (mg/L) según el periodo de fitorremediación (días)



2.3.3 Oxígeno disuelto

Los resultados del análisis de varianza del oxígeno disuelto (Tabla 14) indican que hubo efecto significativo de los bloques ($p \leq 0,05$), indicando que el nivel de oxígeno disuelto varía de acuerdo al punto de muestreo de la laguna. Asimismo, se evidencian efectos principales significativos del fotoperiodo ($p \leq 0,05$), biomasa inicial ($p \leq 0,05$), periodo de

ficorremediación ($p \leq 0,05$) y efectos de interacción entre la iluminación*biomasa ($p \leq 0,05$), el fotoperiodo*periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$) y biomasa*periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$), significando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los valores del oxígeno disuelto obtenido.

Tabla 14

Análisis de varianza de la concentración del oxígeno disuelto considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación

Fuente de variación	SC	GL	CM	F	p
Bloque	9,75	2	4,87	10,95	0,000064
Iluminación	0,06	1	0,06	0,13	0,718934
Fotoperiodo	6,27	1	6,27	14,07	0,000336
Biomasa inicial	4,57	1	4,57	10,27	0,001963
PF	346,74	4	86,68	19,471	0,000000
Iluminación *Fotoperiodo	0,04	1	0,04	0,08	0,776725
Iluminación *Biomasa inicial	2,05	1	2,05	4,60	0,035045
Fotoperiodo*Biomasa inicial	0,41	1	0,41	0,91	0,342547
Iluminación * PF	0,56	4	0,14	0,32	0,866389
Fotoperiodo * PF	5,55	4	1,39	3,12	0,019663
Biomasa inicial* PF	8,42	4	2,10	4,73	0,001812
Iluminación * Fotoperiodo *Biomasa inicial	0,01	1	0,01	0,02	0,878611
Iluminación *Fotoperiodo* PF	2,13	4	0,53	1,20	0,318270
Iluminación * Biomasa inicial * PF	1,77	4	0,44	0,99	0,417369
Fotoperiodo*Biomasa inicial * PF	0,16	4	0,04	0,09	0,985624
Iluminación* Fotoperiodo* Biomasa inicial*	1,42	4	0,35	0,80	0,531820
PF					
Error	34,73	78	0,45		

Nota. PF: Periodo de ficorremediación.

Al haber presentado interacciones significativas, el análisis se centrará en el estudio de las interacciones entre la iluminación * biomasa inicial, fotoperiodo * periodo de ficorremediación y entre la biomasa inicial * periodo de ficorremediación.

En la Tabla 15 y Figura 16 se muestran valores promedio y desviaciones estándar de oxígeno disuelto (mg/L) según los niveles de iluminación y la biomasa inicial, en donde se observa que, para una iluminación de 1 500 lux los niveles de oxígeno disuelto fueron de 10,13 y 10,78 mg/L para biomasa inicial de 20 y 40 g, respectivamente, siendo estos promedios significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) entre sí, en tanto que, para 3 000 lux los niveles de oxígeno disuelto fueron muy cercanos para ambas biomasa inicial, presentando promedios de 10,35 mg/L para biomasa inicial de 20 g y 10,48 mg/L para 40 g.

Tabla 15

Valores promedio y desviaciones estándar de oxígeno disuelto según la iluminación y la biomasa inicial del Nostoc cf. sphaericum

Iluminación (lux)	Promedio y desviación estándar del nivel de OD (mg/L)	
	Biomasa inicial 20 g	Biomasa inicial 40 g
	1 500	10,13 ± 1,760
3 000	10,35 ± 1,908	10,48 ± 1,842

En la Tabla 16 se muestran valores promedio y desviaciones estándar de oxígeno disuelto (mg/L) según la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación y según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación. En relación con la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación, en la Tabla 16 y Figura 17, se observa que, para ambos niveles de biomasa, el oxígeno disuelto en el día 0 se inició con 8,47 mg/L, aumentando su valor en el día 4 a 10,02 mg/L con 20 g de biomasa y 11,42 mg/L con 40 g de biomasa, sin embargo, en el día 8 los niveles de oxígeno disuelto se redujeron a 8,45 mg/L con 20 g y 8,49 mg/L con 40 g, para volver a incrementarse en los días 12 y 16 a 12,14 y 12,11 mg/L para 20 g de biomasa inicial y 12,21 y 12,56 mg/L para 40 g de biomasa inicial.

En relación al fotoperiodo y el periodo de ficorremediación se observa en la Tabla 16 y Figura 18 que, en el día 0 el oxígeno disuelto inició con 8,47 mg/L para 12 y 24 horas de fotoperiodo, aumentando en el día 4 a 10,89 mg/L para 12 h y 10,54 mg/L para 24 h de fotoperiodo y reduciendo en el día 8 a 8,83 y 8,10 mg/L para 12 y 24 horas de fotoperiodo

respectivamente, aumentando nuevamente en el día 12 a 12,75 mg/L para 12 h de fotoperiodo y 11,60 mg/L para 24 h, para finalizar en 16 días de ficorremediación con valores de 12,37 mg/L para 12 h y 12,34 mg/L para 24 horas de fotoperiodo.

Figura 16

Valores promedio del oxígeno disuelto (mg/L) según la iluminación y la biomasa

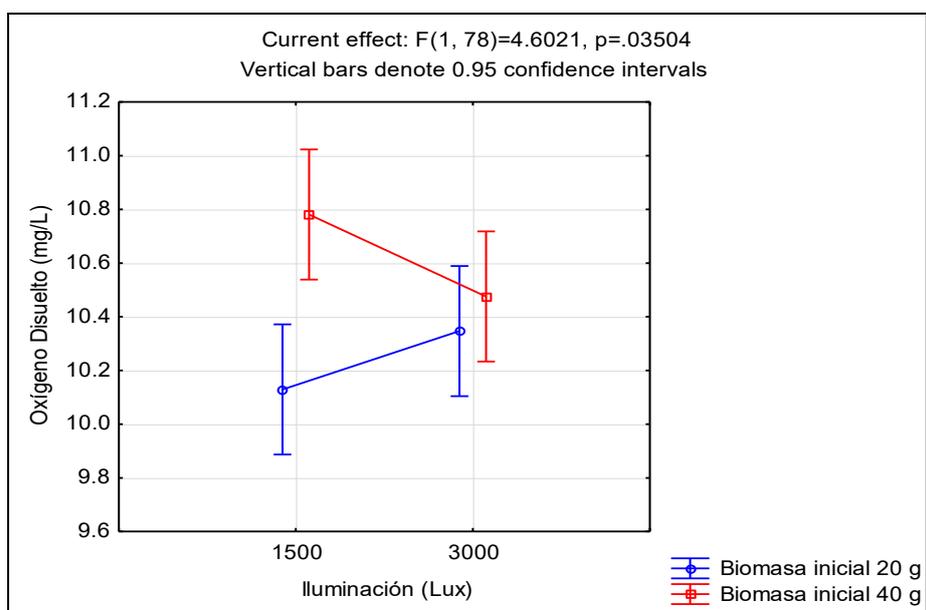


Tabla 16

Valores promedio y desviaciones estándar del oxígeno disuelto según la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación y según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación

Periodo de ficorremediación (días)	Promedio y desviación estándar de la concentración de oxígeno disuelto (mg/L)			
	Biomasa inicial	Biomasa inicial	Fotoperiodo	Fotoperiodo
	20 g	40 g	12 h	24 h
0	8,47 ± 0,572	8,47 ± 0,572	8,47 ± 0,572	8,47 ± 0,572
4	10,02 ± 0,666	11,42 ± 0,626	10,89 ± 0,894	10,54 ± 1,020
8	8,45 ± 0,721	8,49 ± 0,593	8,83 ± 0,601	8,10 ± 0,468
12	12,14 ± 1,034	12,21 ± 1,015	12,75 ± 1,042	11,60 ± 0,550
16	12,11 ± 0,845	12,56 ± 0,851	12,37 ± 0,851	12,30 ± 0,905

Figura 17

Valores promedio de oxígeno disuelto (mg/L) según el periodo de ficorremediación y la biomasa inicial

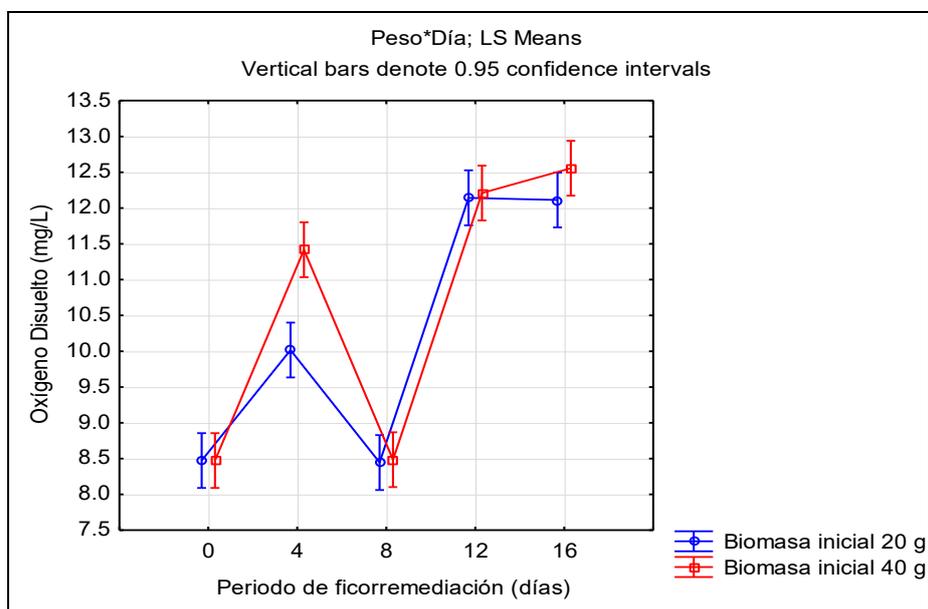
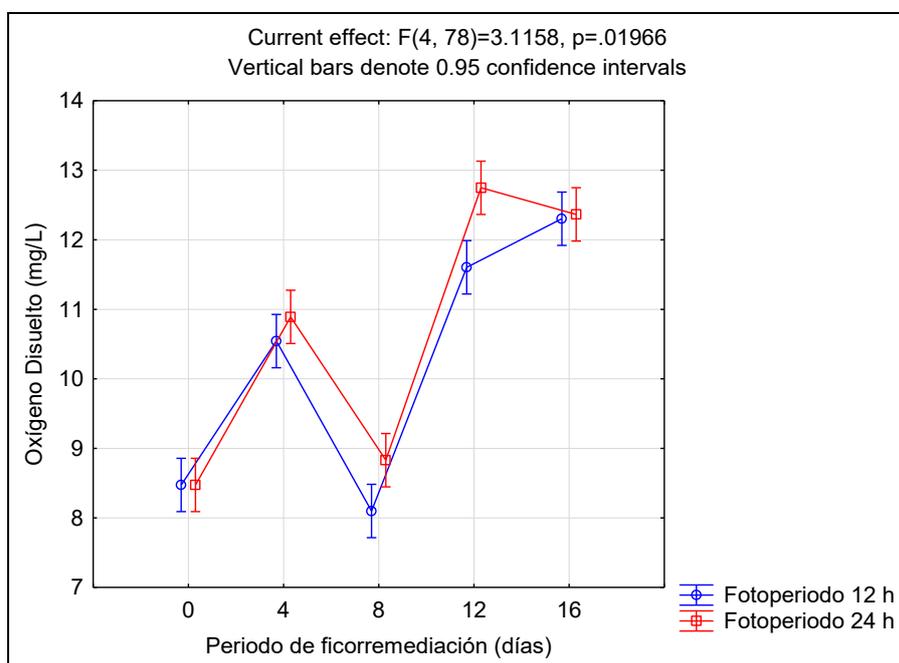


Figura 18

Valores promedio de oxígeno disuelto (mg/L) según el periodo de ficorremediación y el fotoperiodo



2.3.4 Potencial de hidrógeno (pH)

Los resultados del análisis de varianza del pH (Tabla 17) indican que hubo efecto significativo de los bloques ($p \leq 0,05$), asimismo se evidenciaron efectos principales significativos de la iluminación ($p \leq 0,05$), fotoperiodo ($p \leq 0,05$), biomasa inicial ($p \leq 0,05$), periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$) y efectos de interacción entre iluminación * fotoperiodo ($p \leq 0,05$); iluminación * biomasa inicial ($p \leq 0,05$), iluminación * periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$); fotoperiodo * periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$); y biomasa inicial * periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$), significando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los resultados del pH.

Tabla 17

Análisis de varianza del pH considerando los factores de iluminación, fotoperiodo, biomasa inicial y periodo de ficorremediación

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Bloque	0,44	2	0,22	7,0	0,001534
Iluminación	2,07	1	2,07	66,9	0,000000
Fotoperiodo	14,25	1	14,25	461,0	0,000000
Biomasa inicial	3,31	1	3,31	107,1	0,000000
PF	28,83	4	7,21	233,2	0,000000
Iluminación *Fotoperiodo	0,45	1	0,45	14,5	0,000279
Iluminación *Biomasa inicial	0,22	1	0,22	7,0	0,009929
Fotoperiodo*Biomasa inicial	0,00	1	0,00	0,1	0,791849
Iluminación * PF	0,62	4	0,15	5,0	0,001243
Fotoperiodo * PF	4,05	4	1,01	32,8	0,000000
Biomasa inicial* PF	1,02	4	0,26	8,3	0,000013
Iluminación * Fotoperiodo *Biomasa inicial	0,14	1	0,14	4,6	0,035975
Iluminación *Fotoperiodo* PF	0,36	4	0,09	2,9	0,026478
Iluminación * Biomasa inicial * PF	0,34	4	0,08	2,7	0,034032
Fotoperiodo*Biomasa inicial * PF	0,23	4	0,06	1,9	0,119207
Iluminación* Fotoperiodo* Biomasa inicial* PF	0,14	4	0,04	1,2	0,333454
Error	2,41	78	0,03		

Nota. PF: Periodo de ficorremediación.

El análisis se centrará en el estudio de las interacciones significativas entre iluminación * fotoperiodo, iluminación * biomasa inicial, iluminación * periodo de ficorremediación, fotoperiodo * periodo de ficorremediación y biomasa inicial * periodo de ficorremediación.

En cuanto a la interacción entre la iluminación y el fotoperiodo, se muestra en la Tabla 18 y Figura 19 que, el pH para 1 500 lux de iluminación fue de 8,79 con fotoperiodo de 12 h y 9,36 con fotoperiodo de 24 h, asimismo, para 3 000 lux de iluminación el pH fue de 8,93 con fotoperiodo de 12 h y 9.74 con fotoperiodo de 24 h, mostrando que, independientemente del nivel de iluminación, el pH con fotoperiodo de 12 h presentó en promedio valores

menores que con fotoperiodo de 24 h y, a su vez, para ambos fotoperiodos los valores de pH fueron superiores con 3000 lux de iluminación.

Respecto a la interacción entre iluminación y la biomasa inicial se muestra en la Tabla 18 y Figura 20 que, para 1 500 lux el pH con biomasa inicial de 20 g fue menor (8,86) que el pH con biomasa inicial de 40 g (9,28); de igual forma, para iluminación de 3 000 lux el pH con biomasa inicial de 20 g (9,21) fue inferior al pH con biomasa inicial de 40 g (9,46), evidenciándose que, una mayor iluminación produjo incremento en los valores de pH.

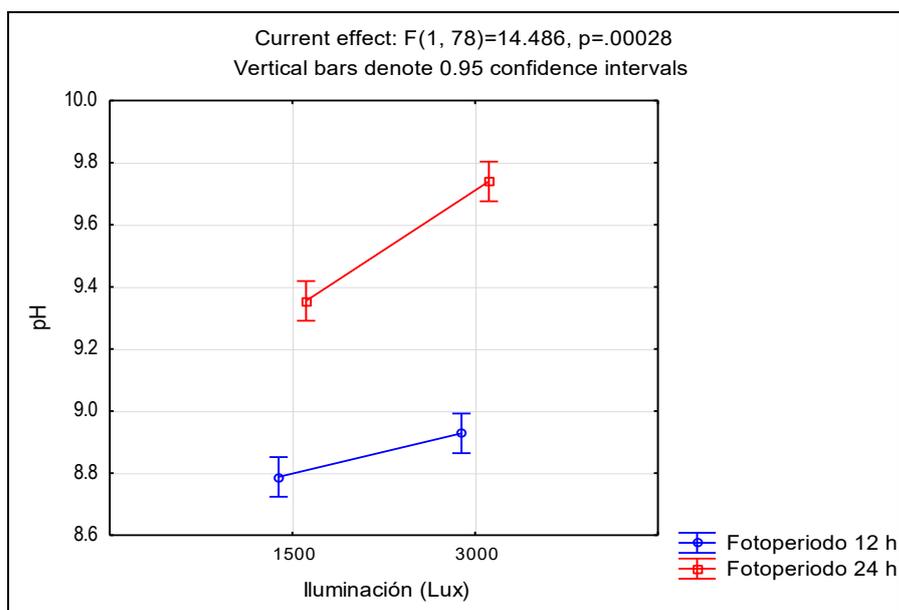
Tabla 18

Valores promedio y desviaciones estándar de pH según la iluminación y el fotoperiodo y la iluminación y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum

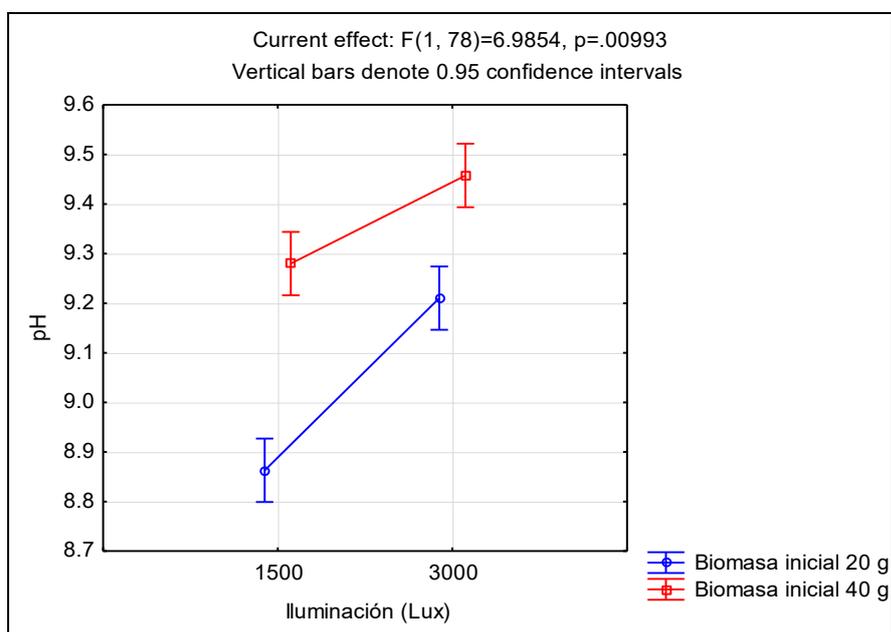
Iluminación (lux)	Promedio y desviación estándar del pH			
	Fotoperiodo	Fotoperiodo	Biomasa inicial	Biomasa inicial
	12 h	24 h	20 g	40 g
1 500	8,79 ± 0,458	9,36 ± 0,679	8,86 ± 0,542	9,28 ± 0,673
3 000	8,93 ± 0,493	9,74 ± 0,734	9,21 ± 0,715	9,46 ± 0,761

Figura 19

Valores promedio de pH (mg/L) según la iluminación y el fotoperiodo

**Figura 20**

Valores promedio de pH (mg/L) según la iluminación y la biomasa inicial



La Tabla 19 y Figura 21 muestran los valores promedio y desviaciones estándar según la iluminación y el periodo de fitorremediación, indicando que, para 1 500 lux de iluminación el pH en el día 0 fue 8,41, en el día 4 fue 8,89, el día 8 su valor incrementó hasta 9,39, para disminuir a 8,98 en el día 12 y finalmente subir a 9,69 en el día 16. Un comportamiento similar se verificó para 3 000 lux de iluminación, donde el pH inicial fue de 8,41, en el día

4 aumentó a 9,28, registrando un valor de 9,97 en 16 días de ficorremediación. Los promedios del pH con iluminación de 3 000 lux fueron mayores a los promedios con 1 500 lux durante el periodo de ficorremediación, evidenciando el efecto de la iluminación en el pH del agua.

Tabla 19

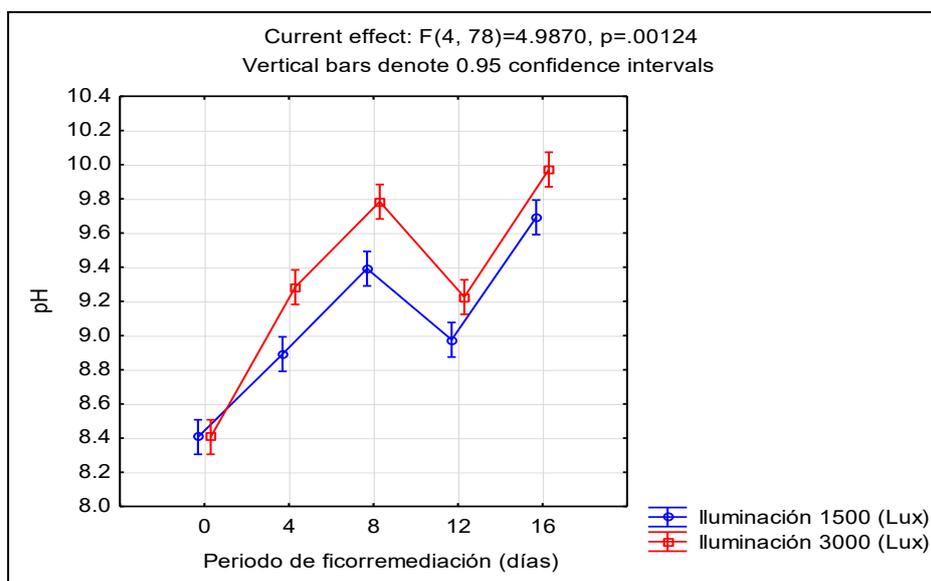
Valores promedio y desviaciones estándar de pH según la iluminación y el periodo de ficorremediación y según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación

Periodo de ficorremediación (días)	Promedio y desviación estándar del pH			
	Iluminación		Fotoperiodo	
	1 500 lux	3 000 lux	12 h	24 h
0	8,41 ± 0,077	8,41 ± 0,077	8,41 ± 0,077	8,41 ± 0,077
4	8,89 ± 0,368	9,28 ± 0,604	8,70 ± 0,181	9,48 ± 0,473
8	9,39 ± 0,487	9,78 ± 0,604	9,25 ± 0,412	9,93 ± 0,414
12	8,98 ± 0,583	9,23 ± 0,648	8,58 ± 0,260	9,62 ± 0,381
16	9,69 ± 0,655	9,97 ± 0,529	9,35 ± 0,425	10,31 ± 0,255

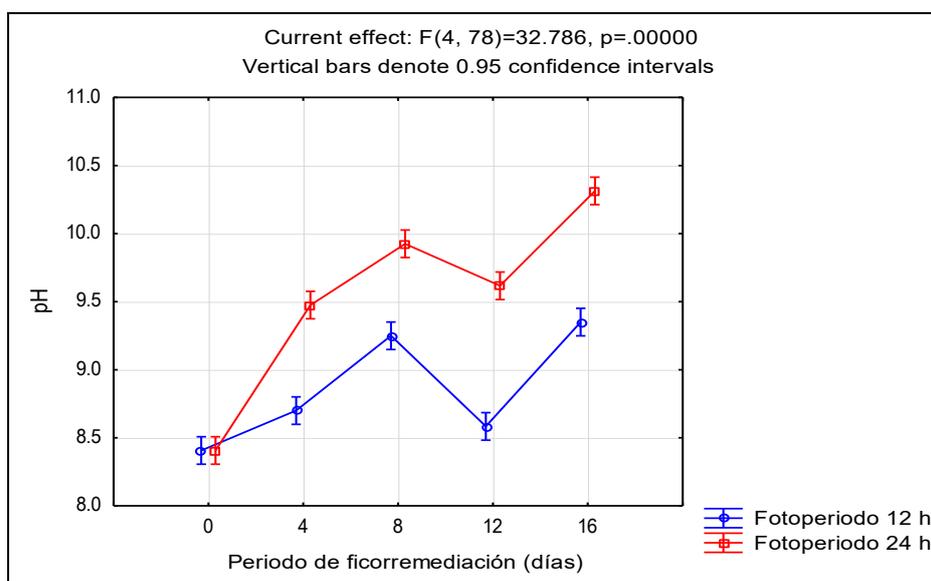
En cuanto a la interacción entre al periodo de ficorremediación y el fotoperiodo, se observa en la Tabla 19 y Figura 22 que, para un fotoperiodo de 12 h el pH en el día 0 fue 8,41 y 8,70 en el día 4, aumentando su valor hasta 9,25 en el día 8, para disminuir a 8,58 el día 12 y volver a aumentar a 9,35 el día 16. Un comportamiento similar se verificó para 24 h de fotoperiodo, donde el pH inicial registró un valor de 8,41 el día 0, incrementando a 9,48 el día 4 y a 9,93 el día 8, decreciendo a 9,62 el día 12, hasta alcanzar el valor de 10,31 en 16 días de ficorremediación. Durante el periodo de ficorremediación los valores del pH fueron significativamente superiores cuando el fotoperiodo fue de 24 h luz, respecto a los valores obtenidos con fotoperiodo de 12 h luz, evidenciando el efecto del fotoperiodo en los resultados del pH.

Figura 21

Valores promedio de pH (mg/L) según la iluminación y el periodo de ficorremediación

**Figura 22**

Valores promedio de pH según el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación



En la Tabla 20 y Figura 23 se muestran los valores promedio y desviaciones estándar del pH según la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación. Se observa que, para una biomasa inicial de 20 g el pH inició con un valor de 8,41 en el día 0, 8,89 en el día 4, 9,31 en el día 8, disminuyendo a 8,90 en el día 12 para volver a aumentar a 9,68 en el día 16. Un comportamiento muy similar se verificó para la biomasa de 40 g, iniciando con un pH de 8,41 el día 0, hasta alcanzar el valor de 9,99 en 16 días de ficorremediación. Los valores de

pH durante el periodo de fitorremediación fueron significativamente superiores cuando la biomasa inicial fue de 40 g, respecto a los valores obtenidos con biomasa inicial de 20 g, evidenciando el efecto de la biomasa en los resultados del pH.

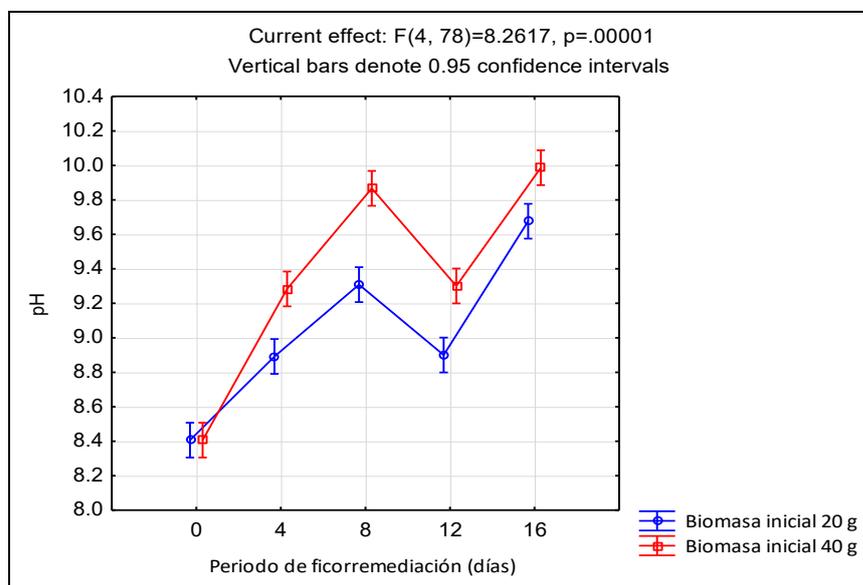
Tabla 20

Valores promedio y desviaciones estándar de pH según el periodo de fitorremediación y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum

Periodo de fitorremediación (días)	Promedio y desviación estándar del pH	
	Biomasa inicial 20 g	Biomasa inicial 40 g
0	8,41 ± 0,077	8,41 ± 0,077
4	8,89 ± 0,446	9,28 ± 0,549
8	9,31 ± 0,525	9,87 ± 0,380
12	8,90 ± 0,619	9,30 ± 0,568
16	9,68 ± 0,647	9,99 ± 0,530

Figura 23

Valores promedio de pH según periodo de fitorremediación y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum



2.4 Incremento de biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum*

Los resultados del análisis de varianza del incremento de biomasa inicial que se muestran en la Tabla 21 indican efectos principales significativos de los factores fotoperiodo ($p \leq 0,05$)

y biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum* ($p \leq 0,05$), significando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los valores del incremento de biomasa obtenidos.

Tabla 21

Análisis de varianza del incremento de biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Bloque	5,3130	2	2,6565	1,2408	0,319091
Iluminación	0,0887	1	0,0887	0,0414	0,841657
Fotoperiodo	10,5769	1	10,5769	4,9401	0,043225
Biomasa Inicial	42,3497	1	42,3497	19,7799	0,000552
Iluminación * Fotoperiodo	7,7840	1	7,7840	3,6356	0,077289
Iluminación * Biomasa Inicial	3,2922	1	3,2922	1,5377	0,235349
Fotoperiodo * Biomasa Inicial	0,0009	1	0,0009	0,0004	0,984267
Iluminación * Fotoperiodo * Biomasa Inicial	0,7773	1	0,7773	0,3631	0,556441
Error	29,9746	14	2,1410		

En la Tabla 22 se muestran valores promedio y desviaciones estándar del incremento de biomasa inicial (g) según el fotoperiodo y según la biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum*. El incremento de biomasa con fotoperiodo de 12 h fue de 4,29 g, inferior a lo encontrado con fotoperiodo de 24 h de 5,62 g, indicando que, a mayor tiempo de exposición a la luz se produjo mayor biomasa (Figura 24). De igual forma, con biomasa inicial de 20 g el incremento fue de 3,62 g mientras que con 40 g fue 6,28 g, verificando una diferencia de 2,66 g de incremento con respecto a lo encontrado con 20 g de biomasa (Figura 25).

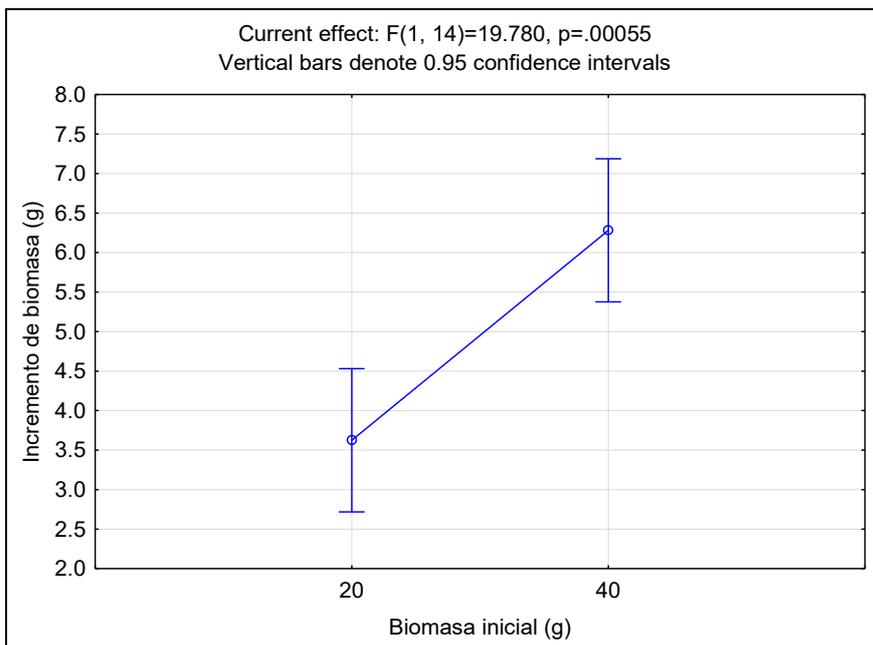
Tabla 22

Valores promedio y desviaciones estándar del incremento de biomasa (g) según el fotoperiodo y la biomasa inicial de Nostoc cf. sphaericum

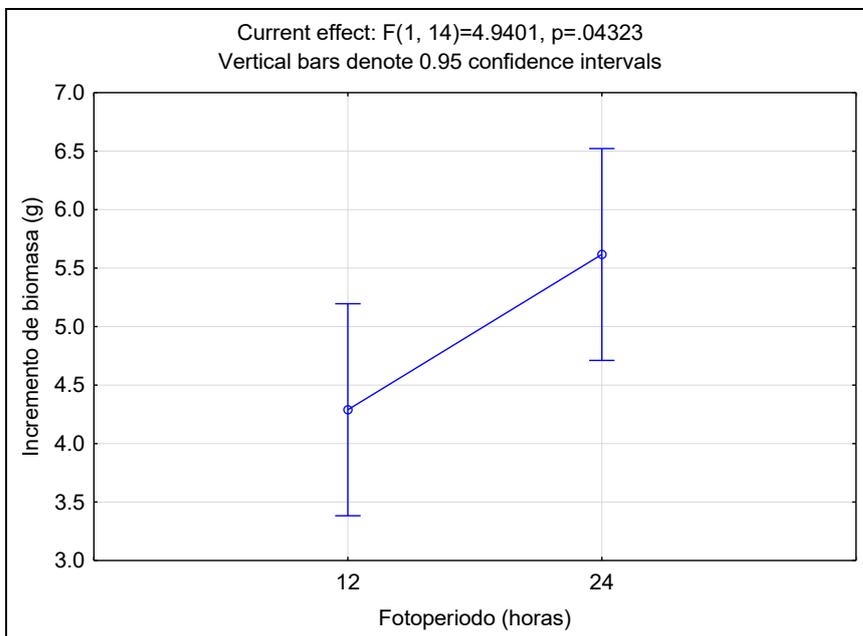
	Fotoperiodo 12 h	Fotoperiodo 24 h	Biomasa inicial 20 g	Biomasa inicial 40 g
Incremento de biomasa (g)	4,29 ±2,30	5,62 ±1,68	3,62 ±1,46	6,28 ±1,76

Figura 24

Valores promedio del incremento de biomasa (g) según la biomasa inicial

**Figura 25**

Valores promedio del incremento de biomasa (g) según el fotoperiodo



CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

La investigación desarrollada presenta una nueva perspectiva biotecnológica y forma parte de las primeras indagaciones sobre la aplicación del *Nostoc* cf. *sphaericum* para ficorremediación de aguas de piscicultura a nivel de laboratorio. Debido a que, la cianobacteria tiene una amplia distribución en los Andes peruanos, los estudios han sido en su mayoría enfocados a sus características nutricionales que evidenciaron su gran potencial alimentario (Ponce, 2014; Moncayo, 2017).

Caracterización morfológica

La morfología macroscópica y microscópica observada de la cianobacteria evidencia que pertenece al género *Nostoc* según la clasificación taxonómica propuesto por Komárek *et al.*, (2014), a nivel macroscópico se determinó la forma ovalada con diámetros de 3,6 a 9,1 mm, color marrón-dorado-oliva y textura gelatinosa; y a nivel microscópico fue posible observar un mucílago fino, diámetro de la célula vegetativa en forma de barril casi esféricas 6x6 μm y heterocisto en forma de barril casi esféricas 7x6 μm . Estas características son similares a los estudios realizados por Cadena *et al.* (2013), quienes describieron seis morfotipos de *Nostoc* cf. *sphaericum*, siendo el morfotipo Granulado-gelatinoso el que presenta mayor similitud a las características de las muestras de *Nostoc* cf. *sphaericum* del presente estudio, debido a que, presentan forma esférica con diámetros de 0,2 x 1,5 mm, textura gelatinosa, epidermis lisa y color verde claro-oscuro-oliva-marrón. En cuanto, a las características microscópicas descritas del morfotipo Verrugoso-verde III en promedio presentaron células vegetativas de 4,48 μm de ancho y de 4,8 μm de largo y heterocisto de 7,5 μm de ancho y 1,67 μm de largo, similares a las muestras de *Nostoc* cf. *sphaericum* descritas en este estudio. Asimismo, en el estudio de Ortega y Vinueza (2016) describieron diámetros de heterocistos de 8 μm en muestras del mes de septiembre y 6 μm en el mes de junio y, se encontró células vegetativas de 6,06 μm en el mes de julio y 3,68 μm en el mes de junio, observados al interior de una capa gruesa de mucílago.

Caracterización fisicoquímica de muestras de agua de la laguna Huaylacancha

Las características fisicoquímicas de las aguas de la laguna Huaylacancha en promedio presentaron las siguientes condiciones: la concentración de nitratos fue 1,92 mg/L, fosfatos fue 0,90 mg/L, la temperatura fue 12,1 ° C, oxígeno disuelto de 5,40 mg/L, pH de 8,03, TDS de 218 ppm y la CE de 277 μ S/cm. En contraste con el estudio de Ñahuin (2017), quien evaluó diferentes lagunas de la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas, donde las concentraciones reportadas de nitratos fueron 0,172 mg/L en la laguna Huallhua y 0,520 mg/L en la laguna Caullau, fosfatos de 2,052 mg/L en la laguna Ñahuincocha y 3,261 mg/L en la laguna Caullau, temperatura de 12 °C en la laguna Piquecocha, oxígeno disuelto de 4,4 mg/L en la laguna Vichcocha y Caullau y 4,9 mg/L en la laguna Piquecocha, TDS de 30 mg/L en la laguna Ñahuincocha y 170 mg/L en la laguna Papacocha y valores de pH de 7,99 en la laguna Vichcocha y 9 en la laguna Ñahuincocha; estos datos corresponden a la evaluación de la época de estiaje de julio y agosto meses en los que se realizó la caracterización fisicoquímica del presente estudio. Se resalta que, las concentraciones de nitratos son inferiores a lo encontrado en el presente estudio y las concentraciones de fosfatos son superiores, posiblemente influenciado por la actividad de piscicultura practicada en las diferentes lagunas de la reserva paisajística.

El cultivo de trucha se desarrolla en diferentes puntos de la laguna Huaylacancha; en el punto de muestreo M1 se emplearon 40 jaulas, en M2 32 jaulas y en M3 20 jaulas, con diferentes etapas de desarrollo de la trucha en cada jaula. Los análisis fisicoquímicos muestran concentraciones de fosfatos de 1,37 mg/L en M1, 0,71 mg/L en M2 y 0,62 mg/L en M3, estos resultados indican que, conforme aumenta el número de jaulas de trucha, se incrementa la concentración de fosfatos en el agua de la laguna. En cuanto a los niveles de nitratos, se observó que en M1 y M2 las concentraciones fueron de 1,33 mg/L, mientras que en M3 fue de 3,1 mg/L, posiblemente este valor se debe a las condiciones hidrográficas y la topografía del fondo del cuerpo de agua, dado que la profundidad en los puntos de muestreo M1 y M2 es bastante mayor respecto al punto M3.

Por otro lado, en el ECA para Agua en la Subcategoría C4: *Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos o lagunas* (MINAM, 2017), establece como concentración límite

de 13 mg/L de nitratos (NO_3^-) encontrando en el presente estudio 1,92 mg/L valor inferior a lo establecido, mientras que, la concentración límite del fósforo total es de 0,025 mg/L encontrándose en el presente estudio en promedio 0,90 mg/L concentración que excede el valor límite establecido. Asimismo, la diferencia de temperatura en los puntos de muestreo no debe sobrepasar los ± 3 °C, en la caracterización realizada en el presente estudio los puntos de muestreo M1, M2 y M3 presentaron 12,4, 11,8 y 12,1 °C, respectivamente; el parámetro de oxígeno disuelto debe ser ≥ 5 mg/L, encontrándose en el presente estudio 5,40 mg/L en promedio y el valor límite del pH de 6 a 9, encontrándose en el presente estudio 8,03 en promedio, valor que indica aguas ligeramente alcalinas.

Nitratos

El análisis de varianza del parámetro de nitratos evidenció efectos significativos de interacción entre la biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum* y el fotoperiodo ($p \leq 0,05$), donde la concentración promedio más baja fue 1,09 mg/L con 24 h de fotoperiodo y 20 g de biomasa inicial. Asimismo, se obtuvieron efectos significativos de interacción del periodo de ficorremediación y biomasa inicial de *Nostoc cf. sphaericum* ($p \leq 0,05$), donde la concentración de nitratos para 20 g de biomasa inicial disminuyó de 1,92 mg/L de concentración inicial a 0,78 mg/L en 16 días de ficorremediación, significando una remoción del 59,4 % de este parámetro; por otro lado, para una biomasa inicial de 40 g se obtuvo 0,92 mg/L en el día 16 que representa una reducción de nitratos del 52,1 %. Los resultados de este estudio fueron contrastados con literatura sobre la biorremediación de aguas residuales de piscicultura evidenciando que, las cianobacterias disminuyen la concentración de nitratos.

En tal sentido, estudios realizados tales como Kamilya *et al.* (2006), bioremediaron efluentes del cultivo de carpa logrando disminuir desde una concentración inicial de 1,27 mg/L hasta 1,09 mg/L de nitratos mediante el uso de 0,2 mg/L de *Nostoc muscorum* alcanzando una remoción del 14,17 % en un periodo de 7 días. Asimismo, en la investigación de Ramos y Pizarro (2018), lograron disminuir en 57,47 % las concentraciones de nitratos desde 0,58 mg/L hasta 0,25 mg/L en 8 días de biorremediación de aguas residuales de piscicultura empleando *Chlorella vulgaris*. De igual forma, Nogueira *et al.* (2018), obtuvieron una remoción del 98,7 % ($p < 0,05$) de nitratos de efluentes de cultivo de *Oreochromis niloticus*,

disminuyendo desde 28,33 mg/L hasta 0,35 mg/L en un periodo de 9 días mediante el uso de *Spirulina platensis*. En el trabajo realizado por Ortiz-Villota *et al.* (2018), se obtuvo una remoción de 88,24 % de la concentración de nitratos mediante el uso de *C. vulgaris* en cuatro días de retención, 85,9 % con *Spirulina maxima* y 64 % con *Spirulina platensis* en cinco días de retención de las aguas de laguna Ubaque con alta carga de nutrientes ubicado en Colombia y, en la investigación de Hawrot-Paw *et al.* (2019), la concentración de nitratos se redujo en un 88,64 %, pasando de 31,83 a 3,83 mg/L en 10 días de biorremediación de aguas de cultivo de salmón utilizando 1,3 g/L de biomasa de *Chlorella minutissima* en aguas de cultivo de salmón.

Fosfatos

En el análisis de varianza de la concentración de fosfatos, solo el periodo de ficorremediación tuvo efecto significativo ($p \leq 0,05$), presentando una concentración de 0,07 mg/L en el día 8 equivalente a una remoción de 65 %, sin embargo, al final del periodo la remoción fue de 55 % en el día 16 (0,09 mg/L). Niveles de remoción similares se reportaron en estudios como el de Kamilya *et al.* (2006), donde se alcanzó una remoción del 47,76 % en 7 días, disminuyendo la concentración de fosfatos de 0,67 a 0,39 mg/L mediante el uso de *Nostoc muscorum*. También, Ramos y Pizarro (2018), lograron disminuir en 65,78 % las concentraciones de fosfatos desde 3,4 hasta 1,16 mg/L en 8 días de biorremediación de aguas residuales de piscicultura empleando *Chlorella vulgaris*. De igual forma, Nogueira *et al.* (2018), obtuvieron una remoción de 84,8 % de fosfatos desde 0,96 hasta 0,05 mg/L de efluentes de cultivo de “tilapia del Nilo” en los primeros 3 días de un periodo de 9 días mediante el uso de *Spirulina platensis*, esto indica que, los fosfatos son nutrientes que son asimilados rápidamente por los organismos biorremediadores. Asimismo, en el estudio de Ortiz-Villota *et al.* (2018), fue posible reducir la concentración de fosfatos en un 90 % tanto para *Chlorella vulgaris* como para *Spirulina maxima* y un 84 % para *Spirulina platensis* de aguas de la laguna Ubaque en Colombia durante un periodo de 5 días de evaluación. Por último, Hawrot-Paw *et al.* (2019) lograron reducir los niveles de ortofosfatos en un 99,1 % en 10 días de biorremediación de aguas de cultivo de “salmón” como fuente de nutrientes para producir biomasa de *Chlorella minutissima*.

Oxígeno disuelto

La interacción entre la iluminación y la biomasa inicial produjo la concentración más alta de oxígeno disuelto, con un valor de 10,78 mg/L para 1 500 lux de iluminación y 40 g de biomasa inicial. En el estudio realizado por Echevarria (2021) se registraron valores de oxígeno disuelto de $6,93 \pm 0,47$ mg/L a una intensidad de 2 000 lux, con la finalidad de determinar el crecimiento de *Nostoc punctiforme* considerando su tamaño en milímetros (mm) y peso en gramos (g). El presente estudio evidenció que a mayor cantidad de biomasa se produjo mayor concentración de oxígeno disuelto, importante para el crecimiento de las cianobacterias.

Respecto a la interacción entre el fotoperiodo y el periodo de ficorremediación se obtuvo una concentración máxima de 12,75 mg/L en 12 días de ficorremediación con fotoperiodo de 12 h luz, desde una concentración inicial de 8,74 mg/L. En estudios sobre biorremediación de efluentes piscícolas, como el realizado por Nogueira *et al.* (2018), alcanzaron concentraciones de oxígeno disuelto de 6,1 mg/L en un periodo de 9 días, mientras que, en el presente estudio, en 8 días con 12 horas de fotoperiodo se alcanzó una concentración máxima de 8,83 mg/L. Asimismo, en otro estudio en aguas del río Torococha, contaminadas con efluentes residuales domésticas realizado por Huayhua-Huamani *et al.* (2019), se observó un incremento en la concentración de oxígeno disuelto desde 2,86 hasta 6,8 mg/L en 12 días de tratamiento con iluminación LED durante 18 horas/día utilizando *Chlorella* sp. De igual forma, Ganapathy *et al.* (2011) lograron incrementar el oxígeno disuelto inicial de 1,2 a 2,1 mg/L en 15 días con iluminación de 18 horas luz (2 500 lux) en el tratamiento de efluentes de destilería mediante *Nostoc muscorum*, indicando que la actividad fotosintética influye directamente en el oxígeno disuelto y el pH, debido a los niveles de iluminación y el fotoperiodo. Por otro lado, Adrian (2018) reportó el incremento del oxígeno disuelto al estudiar la producción de *Nostoc* sp. en su hábitat natural alcanzando concentraciones de 8,34 hasta 9,58 mg/L.

Diversos estudios muestran que las microalgas y cianobacterias son eficaces para aumentar significativamente la concentración de oxígeno disuelto en el agua, siendo fundamental para los procesos de ficorremediación y tratamiento de efluentes, como evidencian los resultados

del presente estudio, donde se registraron incrementos en el oxígeno disuelto en períodos de tiempo relativamente cortos (8 días) bajo condiciones de iluminación de 1 500 lux y fotoperiodo de 12 h luz. La actividad fotosintética de estas cianobacterias y microalgas emerge como un factor clave para mejorar la calidad de las aguas contaminadas.

Potencial de hidrógeno

La interacción entre la iluminación y el fotoperiodo influye directamente en los valores del pH, resultando el menor valor promedio de 8,79 con 1 500 lux y 12 horas luz, mientras que, el mayor promedio fue de 9,74 con 3 000 lux y 24 horas de luz, posiblemente al recibir constante luz los glóbulos de *Nostoc cf. sphaericum* tuvieron mayor actividad fotosintética. En cuanto a la interacción entre la iluminación y la biomasa inicial, los valores de pH, variaron desde 8,86 con 1 500 lux y 20 g hasta 9,46 con 3 000 lux y 40 g. En el estudio se evidenció que, a mayor iluminación, a mayor fotoperiodo y a mayor biomasa inicial los valores del pH se incrementaron considerablemente, como sucedió en el estudio realizado por Saha *et al.* (2018), donde el valor del pH tuvo una variación desde 7,8 a 8,5 con una iluminación de 2 200 lux al tratar efluentes industriales en condiciones de laboratorio con 2 mL de *N. carneum* en un periodo de 15 días.

Por otro lado, en la interacción de la iluminación y el periodo de ficorremediación ($p \leq 0,05$) se observó que, los valores del pH fueron 9,67 a 1 500 lux y 9,97 a 3 000 lux en 16 días de ficorremediación, evidenciándose que una mayor iluminación produjo mayores valores de pH durante todo el periodo de ficorremediación. Este incremento también fue descrito por Nogueira *et al.* (2018) en un estudio para tratar efluentes piscícolas utilizando la *Spirulina platensis*, donde el pH tuvo una tendencia a aumentar desde 8,2 a 8,9 con iluminación continua $40 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (3 000 lux aprox.) en un periodo de 9 días de ficorremediación. Asimismo, Ganapathy *et al.* (2011) muestran que los valores de pH aumentaron desde de 3,7 hasta 6,7 al tratar efluentes de destilería mediante el uso de *Nostoc muscorum* a 2 500 lux de iluminación. Además, El-Sheekh *et al.* (2014), obtuvieron un aumento del pH desde 6,8 hasta 8,2 con iluminación continua en 10 días de tratamiento de efluentes domésticos mediante el uso de *Nostoc muscorum* y *Anabaena subcylindrica*.

En cuanto a la interacción del fotoperiodo y el periodo de ficorremediación, los valores de pH fueron superiores con 24 h de luz en todos los días de evaluación, alcanzado un pH promedio de 10,31 en el día 16, incrementando su valor inicial en 1,9. De la misma forma, en la interacción de la biomasa inicial y el periodo de ficorremediación los valores del pH fueron mayores con 40 g, obteniendo 9,99 en el día 16; esta variación del pH también fue descrita por Kotteswari *et al.* (2012), quienes obtuvieron una regulación del pH desde 5,15 hasta 7,83 en 15 días, con fotoperiodo de 12 h de luz e iluminación de 3 000 lux al tratar efluentes lácteos mediante el uso de 2 g *Nostoc* sp.

Incremento de biomasa

En el presente estudio dio como resultado que el fotoperiodo y la biomasa inicial de *Nostoc* cf. *sphaericum* influyeron en el incremento de biomasa de la cianobacteria de *Nostoc* cf. *sphaericum* con 12 horas luz se obtuvo un incremento de biomasa de 4,29 g y con 24 horas luz, 5,62 g. Asimismo, para una biomasa inicial de 20 g, el incremento de biomasa fue de 3,62 g mientras que, para bioma inicial de 40 g, se registró un incremento de 6,28 g. Igualmente, en el estudio realizado por Adrian (2017), quien evaluó el peso promedio de colonias por m² en función a la profundidad de cultivo con luz natural, se obtuvo para el tratamiento testigo (TT) una disminución del peso inicial en 27,08 g, para el tratamiento, T10 un incremento de 120 g, para el tratamiento T20 un incremento de 3,34 g y para el tratamiento T30, una disminución en 21,78 g, correspondiente al periodo de evaluación de los meses de mayo-junio.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. Las características macroscópicas y microscópicas de las muestras de cianobacteria evaluadas en el presente estudio corresponden a *Nostoc cf. sphaericum*, siendo las más representativas la coloración marrón-dorado-oliva, la presencia de una capa de mucílago fino, diámetro de la célula vegetativa en forma de barril casi esféricas de $6 \times 6 \mu\text{m}$ y heterocisto en forma de barril casi esférica de $7 \times 6 \mu\text{m}$.
2. La concentración promedio, de la caracterización fisicoquímica de las aguas de la laguna Huaylacancha, para el parámetro fosfatos supera los niveles establecidos para la subcategoría C4 de la Categoría 2 del ECA para Agua, sin embargo, se resalta que el promedio de los parámetros de nitratos, temperatura, pH, oxígeno disuelto, TDS y conductividad eléctrica se encuentran dentro de los niveles establecidos en la normativa.
3. Los factores de fotoperiodo y biomasa inicial evidenciaron efectos de interacción significativa ($p \leq 0,05$) sobre la capacidad de fitorremediación de *Nostoc cf. sphaericum*, encontrando que la concentración de nitratos fue menor (1,09 mg/L) a mayor número de horas de iluminación (fotoperiodo 24 h) y biomasa inicial de 20 g. Por otro lado, no se evidenciaron efectos de interacción para los fosfatos.
4. La mayor concentración de oxígeno disuelto fue 12,56 mg/L con biomasa inicial de (40 g) de *Nostoc cf. sphaericum* a los 16 días de fitorremediación cumpliendo con el ECA para Agua. Por otro lado, los valores del pH a los 16 días de fitorremediación fueron superiores a 9, valor límite establecido en ECA para Agua.
5. El periodo de fitorremediación presentó efectos significativos en todos los parámetros evaluados evidenciando que, la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* disminuye significativamente las concentraciones de nitratos y fosfatos, alcanzando niveles de remoción del 59,4 y 55 %, respectivamente en 16 días de

ficorremediación. Cabe resaltar que, en 8 días de ficorremediación se observó una disminución de las concentraciones de estos nutrientes superiores al 50 %. El oxígeno disuelto presentó en promedio concentraciones de 12,34 mg/L y el pH alcanzó un valor máximo de 10,31 en el día 6 de evaluación con fotoperiodo de 24 horas.

6. La cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* disminuye significativamente los niveles de fosfatos y nitratos de aguas con actividad piscícola y presenta un gran potencial ficorremediador.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. Realizar identificación taxonómica a nivel molecular para confirmar la especie de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* con la finalidad de obtener cepas de fácil uso en las investigaciones.
2. Investigar periodos de fitorremediación más cortos, entre 1 a 8 días, con mayor énfasis en el estudio de la interacción entre los factores experimentales de fotoperiodo e iluminación considerando niveles aplicables en campo según la incidencia de horas luz en el día, asimismo, biomazas iniciales menores a 20 g de *Nostoc cf. sphaericum*.
3. Exponer a la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* a mayores concentraciones de nitratos y fosfatos con la finalidad de seguir investigando su capacidad de fitorremediación de aguas residuales.
4. Es oportuno realizar la evaluación de otros parámetros fisicoquímicos como amonios y coliformes termotolerantes con la finalidad obtener una visión más amplia del potencial fitorremediador de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* y futuras aplicaciones en el tratamiento de efluentes residuales.
5. Realizar un estudio comparativo sobre la capacidad fitorremediadora de diversas especies de *Nostoc* presentes en los Andes del Perú.
6. Continuar las investigaciones sobre la reproducción de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum* a nivel de laboratorio para uso biotecnológico y/o alimentario con fines de prevenir la sobre explotación, dado que, actualmente los mercados locales dependen de la recolección natural durante las épocas de lluvia en zonas altoandinas.

REFERENCIAS

- Adrian, R. (2018). *Evaluación de la producción de Nostoc sp. (cushuro) en cochas construidas a diferentes profundidades dentro de un ecosistema de humedal, en el sector Carpa, distrito de Catac-Ancash, 2017-2018* [Tesis de Grado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2364/T033_46924089_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Alcántara-Bocanegra, F. (2006). Situación de la piscicultura en la amazonia peruana y estrategia para su desarrollo. *Folia Amazónica IIAP*, 3 (1-2), 81-94. <https://doi.org/10.24841/fa.v3i1-2.203>
- Álvarez, X. (2015). Modelo conceptual de la eutrofización y proliferación de cianobacterias: Un caso de estudio en el embalse de A Baxe [Tesis de Doctoral, Universida de Vigo].
- American Public Health Association [APHA], American Water Works Association [AWWA] y Water Environment Federation [WPCF]. (2017). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. España, Madrid: Díaz de Santos, S.A.
- Autoridad Nacional del Agua [ANA]. (2016). *Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales*. Lima, Perú, 29 de abril del 2016. <http://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/209>
- Ávila, J. G., Laos, A. y Verano, R. M. (2018). Remoción de nitratos y fosfatos por cepas nativas de *Chlorella* sp. (Chlorellaceae) y *Chlamydomonas* sp. (Chlamydomonadaceae) libres e inmovilizadas en aguas residuales municipales. *Arnaldoa*, 25 (2), 499-514. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25210>
- Azarpira, H., Behdarvand, P., Dhumal, K. y Pondhe, G. (2014a). Comparative studies on phycoremediation of sewage water by using blue green algae. *International Journal of Biosciences*, 4 (4), 58–64. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/4.4.58-64>
- Azarpira, H., Behdarvand, P., Dhumal, K. y Pondhe, G. (2014b). Potential use of cyanobacteria species in phycoremediation of municipal wastewater. *International Journal of Biosciences*, 4 (4), 105-111. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/4.4.105-111>
- Benavente-Valdés, J. R., Montañez, J. C., Aguilar, C. N., Méndez-Zavala, A. y Valdivia, B. (2012). Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*, 4 (7), 1-13.

- Berrendero-Gómez, E. (2008). *Caracterización morfológica, genética y fisiológica de cianobacterias dominantes* [Tesis de Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid]. <http://hdl.handle.net/10486/1785>
- Blasco-Zumeta, J. (2016). *Nostoc commune (Nostocales)*. 1-2.
- Bolaños-Alfaro, J. D., Cordero-Castro, G. y Segura-Araya, G. (2017). Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). *Tecnología en Marcha*, 30 (4), 15-27. <https://doi.org/10.18845/tm.v30i4.3408>
- Bornet É y Flahault C (1886 '1888'). Revision des Nostocacées hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France (quatrième et dernier fragment). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Septième Série* 7, 177-262. <https://img.algaebase.org/pdf/AC11010A02dc21D98DOto1160BEC/16287.pdf>
- Cadena, M., Molina, D., Carvajal, A., Ontaneda, D. y Morales, E. (2013). Bioprospección de macrocolonias de *Nostoc* sp. en los Andes ecuatorianos. *Acta Botánica Venezuelica*, 36 (2), 287-307. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86238659013>
- Cárdenas, G. L. y Sánchez, I. A. (2013). Nitrógeno en aguas residuales: orígenes, efectos y mecanismos de remoción para preservar el ambiente y la salud pública. *Revista Universidad y Salud*, 15(1), 72-88.
- Corpus-Gomez, A., Alcantara-Callata, M., Celis-Teodoro, H., Echevarria-Alarcón, B., Paredes-Julca, J. y Paucar-Menacho, L. M. (2021). Cushuro (*Nostoc sphaericum*): Habitat, physicochemical characteristics, nutritional composition, forms of consumption and medicinal properties. *Agroindustrial Science*, 11 (2), 231-238. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2021.02.13>
- Chuncho, G. A., Chuncho, C. G. y Aguirre, Z. H. (2019). *Anatomía y morfología vegetal*. Universidad Nacional de Loja.
- Claros, J. (2012). *Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno*. [Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia]. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/17653/tesisUPV3951.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Deng, Z., Hu, Q., Lu, F., Liu, G. y Hu, Z. (2008). Colony development and physiological characterization of the edible blue-green alga, *Nostoc sphaeroides* (Nostocaceae, Cyanophyta). *Progress in Natural Science*, 18 (12), 1475–1483. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.03.031>
- Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA]. (2009). *Parámetros Organolépticos*. http://www.digesa.minsa.gob.pe/DEPA/informes_tecnicos/GRUPO DE USO 1.pdf
- Dirección Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación. (2015). *Cianobacterias como determinantes ambientales de la Salud*. http://www.msal.gob.ar/politicassocioambientales/images/stories/descargas/recursos/2015-cianobacterias-preguntas-y-respuestas_nuevo.pdf
- Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM de 2017 [con fuerza de ley]. Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. 07 de junio de 2017. 10.
- Echevarría, D., Bobadilla, G., Baltazar Guerrero, P. y Castañeda, M. (2019). *Efecto de dos tipos de nutrientes a diferentes concentraciones sobre el crecimiento de colonias de Nostoc sp. en condiciones de laboratorio*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13925.63205>
- Echevarría, E. (2021). Efecto de los medios BG11 y CHU sobre el crecimiento de *Nostoc Punctiforme* cultivado a diferentes concentraciones, en condiciones de laboratorio [Tesis de Grado, Universidad Científica del Sur]. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/2136/TL-Echevarria%20E.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- El-Sheekh, M. M., El-Shouny, W. A., Osman, M. E. y El-Gammal, E. W. (2014). Treatment of sewage and industrial wastewater effluents by the cyanobacteria *Nostoc muscorum* and *Anabaena subcylindrica*. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 36 (4), 190-197. <https://doi.org/10.3103/S1063455X14040079>
- Empresa Electricidad del Perú [ELECTROPERU]. (2022). *Memoria anual 2021*. <https://www.smv.gob.pe/ConsultasP8/temp/Memoria%20ELP%202021%20PDF%20VF.pdf>
- Eufracio, P. y Palomino, A. (2013). *Manual de cultivo de gamitana*. Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero - FONDEPES. http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual_gamitana.pdf

- Fernández, J., Luna, M. y García, M. (2009). Estudio de la filtración ascendente en gravas en el tratamiento de efluentes de la producción de tilapia roja (*Oreochromis* sp). In *Ingeniería Hoy*, 3 (4). 35-44.
- Flores, D. (2016). Identificación morfológica y molecular de hongos micorrízicos de especies del género *dracula* y *epidendrum* (orchidaceae) [Tesis de Grado, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero [FONDEPES]. (2021). *Manual de Cultivo de Trucha en Ambientes Convencionales*. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2496894/Manual-de-Cultivo-de-Trucha.pdf?v=1637709429>
- Ganapathy, S. G., Baskaran, R. y Mohan, P. (2011). Microbial diversity and bioremediation of distilleries effluent. *Journal of Research in Biology*, 1 (3), 153–162. <http://jresearchbiology.com/Documents/RA0049.pdf>.
- Gani, P., Sunar, N. M., Matias-Peralta, H., Latiff, A. A., Parjo, U. K. y Razak, A. R. (2015). Phycoremediation of wastewaters and potential hydrocarbon from microalgae: A review. *Advances in Environmental Biology*, 9 (20), 1-8.
- García, J. L. y Martínez, M. J. (2014). Biomasa y Biotecnología. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Sociedad Española de Microbiología*, 3 (58), 45-47. <http://hdl.handle.net/10261/137345>
- González, A. (2015). *¿Qué son las microalgas?* Cajamar Agro. <https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>
- González-Acosta, J. A., y Rosado-Puccini, R. (2022). Composición del sedimento del sistema afluyente-laguna de oxidación-efluente, en una granja intensiva de *Oncorhynchus mykiss*. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1 (44), 47-59. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss44.7>
- Hawrot-Paw, M., Koniuszy, A., Gałczyńska, M., Zając, G. y Szyszlak-Bargłowicz, J. (2019). Production of Microalgal Biomass Using Aquaculture Wastewater as Growth Medium. *Water*, 12(106), 3-11. <https://doi.org/10.3390/w12010106>
- Hernández, H. (2010). Biotecnología. *Revista Científica*, 20 (3), 225-226. Recuperado en 02 de julio de 2022, de

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000300001&lng=es&tlng=es.

- Hernández-Pérez, A. y Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49 (2), 157-173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación* (6th ed.). México D.F: McGrawHill. https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
- Huayhua-Huamani, E., Chambi-Apaza, R., Quispe-Flores, F. E., Mamani-Coyla, E., Quispe-Acra, R. G. y Ramos Rojas, W. F. (2019). Eficiencia del uso de microalgas (*Chlorellas* sp.) del río Torococha en la remoción de nitratos y fosfatos para el tratamiento terciario de aguas residuales en un fotobiorreactor a escala laboratorio, Juliaca 2017. *ÑAWPARISUN - Revista de Investigación Científica*, 1 (2), 27-33. <http://www.unaj.edu.pe/revista/index.php/vpin/article/download/25/11>
- Jojoa, S., Santacruz, M. y Del Pilar, J. (2019). Impacto ambiental de residuos generados en cultivos en jaulas de trucha arcoíris hacia el agua. *Revista Investigación Pecuaria*, 6 (1). 69-81. <https://doi.org/10.22267/revip.1961.13>
- Jorge, R. R., Morioka, L. R. I., Ribeiro, M. L. L. y Pinotti, M. H. P. (2000). Cultivo de *Nostoc* sp. em diferentes luminosidades para produção de biomassa e ficobillproteínas. *Semina; Ci. Biol. Saúde*, 20/21 (2), 67-71.
- Kamilya, D., Sarkar, S., Maiti, T. K., Bandyopadhyay, S. y Mal, B. C. (2006). Growth and nutrient removal rates of *Spirulina platensis* and *Nostoc muscorum* in fish culture effluent: a laboratory-scale study. *Aquaculture Research*, 37 (15), 1594-1597. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01588.x>
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. y Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86 (6), 295-335. <http://www.preslia.cz/P144Komarek.pdf>
- Kotteswari, M., Murugesan, S. y Ranjith-Kumar, R. (2012). Phycoremediation of Dairy Effluent by using the Microalgae *Nostoc* sp. *International Journal of Environmental Research and Development*, 2 (1), 35-43. <https://doi.org/ISSN 2249-3131>

- Laughinghouse, H. D., Berthold, D. E., Marble, S. C. y Saha, D. (2019). *Biología y Manejo de Nostoc (Cyanobacteria) en Viveros e Invernaderos*. IFAS Extensión. <https://doi.org/10.32473/edis-ag432-2019>
- Mariano, M., Huaman, P., Mayta, E., Montoya, H. y Chanco, M. (2010). Contaminación producida por piscicultura intensiva en lagunas andinas de Junín, Perú. *Revista peruana biología*, 17 (1), 137-140. <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologia/biologiaNEW.htm>
- Maynés, C. (2018). *Cultivo de Cianobacterias en Aguas Residuales para la extracción de pigmentos* [Tesis de Grado, Universitat Politècnica de Catalunya Barcelonatech]. <http://hdl.handle.net/2117/127158>
- Mendoza, J. E. (2021). ¿Conoces a las Cianobacterias Nostoc? *Bioagrocencias*, 14 (2): 23-31. <http://dx.doi.org/10.56369/BAC.3922>
- Ministerio de la Producción [PRODUCE]. (01 de julio de 2022). Catastro Acuícola Nacional. <http://catastroacuicola.produce.gob.pe/web/>
- Ministerio de la Producción [PRODUCE]. (01 de julio de 2022). Catastro Acuícola Nacional. <http://catastroacuicola.produce.gob.pe/web/>
- Moncayo, A. (2017). *Caracterización morfológica, análisis proximal y análisis microbiológico de una muestra de la cianobacteria Nostoc sp., recolectada en el páramo de Papallacta* [Tesis de Grado, Universidad Central Del Ecuador]. Repositorio digital de la Universidad Central Del Ecuador. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9327>
- Nogueira, S. M. S., Souza Junior, J., Maia, H. D., Saboya, J. P. S. y Farias, W. R. L. (2018). Use of *Spirulina platensis* in treatment of fish farming wastewater. *Revista Ciência Agronômica*, 49 (4), 599–606. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180068>
- Ñahuin, S. P. (2017). *Evaluación de la calidad del agua de lagunas de la reserva paisajística Nor Yauyos Cochas como base para proponer estrategias de manejo para su conservación* [Tesis de Grado, Universidad Nacional Del Centro Del Perú]. Repositorio UNCP. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/3390>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>

- Ortega, G., y Vinueza, F. (2016). *Descripción de la morfología microscópica de comunidades de Nostoc sp., provenientes de la parroquia de Pintag, provincia de Pichincha* [Tesis de Grado, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito]. Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13229>
- Ortiz-Villota, M. T., Romero-Morales, M. A. y Meza-Rodríguez, L. D. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9 (1), 163–176. <https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>
- Pereyra, G. (2013). Guía Técnica “Piscicultura.” *Agrobanco*.
- Ponce, E. (2014). Nostoc: Un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. *Idesia*, 32 (2), 115–118. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000200015>
- Quispe, A. (2018). *Evaluación de la eficiencia entre dos sistemas de biofiltros para el tratamiento de las aguas residuales domésticas de la localidad de Carapongo, Lurigancho-Chosica* [Tesis de Grado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/1930>
- Quality and Safety Agrofoods [QSAFE] y Federación Colombiana de Acuicultores [FEDEACUA]. (2017). Guía de manejo ambiental para el sector de la piscicultura continental en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Ramírez -Velasco, C., Pérez, D., Pereira, R. y Bolaños, F. (2021). Análisis comparativo de emisiones de co2 de un motor empleando diésel y biodiesel. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12 (2), 127-147. <https://doi.org/10.22490/21456453.3603>
- Ramírez, L. G., Jacob-López, E. y Queiroz, L. (2013). Fotobiorreactor: Herramienta Para Cultivo De Cianobacterias. *Ciencia y Tecnología*, 6 (2), 9–19. <https://doi.org/10.18779/cyt.v6i2.132>
- Ramos, R. y Pizarro, R. (2018). Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en aguas residuales generadas en el cultivo del pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 53 (1), 75–86. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572018000100075>

- Rey, M. (2008). Factores que influyen en el desarrollo: el fotoperiodo. *Agricultura: Revista Agropecuaria y Ganadera*, 2, 920-922.
- Sengar, R. M.; Singh, K. K. y Singh, S. (2011). Application of phycoremediation technology in the treatment of sewage water to reduce pollution load. *Indian J.Sci.Res*, 2 (4), 33-39. Recuperado de https://www.ijsr.in/upload/2092850441Chapter_06.pdf
- Saha, P., Raipat, B. S., Kumar, M., y Sinha, M. P. (2018). Bioremedial Efficacy of Nostoc Carneum Agardh in Industrial Effluents Treatment. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 6 (1), 23–26. <https://doi.org/10.15406/jmen.2018.06.00182>
- Saldarriaga, M. y Regalado, F. (2017). Potencial acuícola en el Perú. *Moneda*, (172), 34–39.
- Samboni, N., Carvajal, Y. y Escobar, J. (2010). Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. *Ingeniería e Investigación*, 27(3), 172–181.
- Sinty, E. (2017). *Elaboración, evaluación y comparación de alimento balanceado para truchas arco iris (Oncorhynchus mykiss) en base a harina de papa (Dioscorea gigas) y harina de cañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen)* [Tesis de Grado, Universidad Nacional Del Altiplano]. Repositorio Institucional UNAP. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/15753>
- Resolución Presidencial N° 207-2016-SERNANP de 2016 [Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP)]. (2016). Reserva Paisajística Nor Yauyos - Cochas Plan Maestro 2016 - 2020. 05 de agosto de 2016. http://old.sernanp.gob.pe/sernanp/archivos/baselegal/Resoluciones_Presidenciales/2016/RP N 207-2016-SERNANP.compressed.pdf
- Vásquez, W., Talavera, M. e Inga, M. (2016). Evaluación del impacto en la calidad de agua debido a la producción semi intensiva de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) en jaulas flotantes en la laguna Arapa - Puno. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 82 (1), 15–28.
- Vásquez-Villalobos, V., Vergaray, D., Méndez, J., Barrios, I., Baquedano, R., Caldas, C., Cruz, J., Gamboa, J. y Rivera, I. (2017). Effect of the light emitting diodes intensity and photoperiod in the optimization of the Spirulina (*Arthrospira*) biomass production. *Scientia Agropecuaria*, 8 (1), 43–55. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.01.04>

Water Environment Federation. (2011). *Nutrient Removal*. Water Environment Federation.
<http://www.wef.org>

TERMINOLOGÍA

Biomasa. La fracción biodegradable de productos, desechos y residuos de vegetales y/o animales, ecológicamente se puede hacer referencia a la masa total de una población, comunidad u otra unidad en específico (García y Martínez, 2014).

Biotecnología. Es una disciplina moderna que combina biología e ingeniería para desarrollar procesos innovadores que utilizan organismos vivos para generar bienes, servicios o conocimientos que contribuyen al bienestar humano (Hernández, 2010).

Cochas. Son humedales altoandinos, conocidos así por los pobladores de las comunidades altoandinas, “Cocha” deriva del quechua “Kgocha” cuyo significado es laguna en español (Ramírez *et al.*, 2013).

Colonias. Son agrupaciones de células de diferentes características dependiendo del tipo de microorganismo que las componga. Estas colonias pueden tener diferentes formas, tamaños y composiciones, y crecer en tapetes macroscópicos y colonias gelatinosas (Laughinghouse *et al.*, 2019).

Cuerpos de agua natural léntico. Son cuerpos de aguas continentales caracterizados por bajas velocidades de corrientes y altas frecuencias de intercambio del volumen almacenado, ejemplo: lagos, lagunas y cochas (MINAGRI, 2016).

Efluente piscícola. Agua residual generada por la cría de peces en estanques, contiene nutrientes, sólidos y compuestos químicos de la alimentación usada en el cultivo, requiriendo una gestión adecuada para prevenir impactos ambientales en cuerpos de agua receptores (González-Acosta y Rosado-Puccini, 2022).

Eutrofización. Es un proceso de aumento de nutrientes clave como fósforo y nitrógeno en cuerpos acuáticos por vertimiento de aguas residuales, uso excesivo de fertilizantes y pesticidas. Esto provoca floración algal y reduce oxígeno, amenazando vida acuática (Álvarez, 2015).

Experimento factorial. Diseño experimental que permite analizar el efecto conjunto de dos o más factores sobre una variable de interés (Ramírez *et al.*, 2021).

Fotoperiodo. Consiste en las variaciones de la incidencia horas de la luz y horas oscuridad configurándose en periodos de luz/oscuridad, que permite o afecto de formas distintas de la fisiología de los organismos, en especiales a aquellos que realizan fotosíntesis (Rey, 2008).

Microalgas. Son organismos generalmente fotoautótrofos que poseen la capacidad de realizar fotosíntesis, son unicelulares eucariotas. Utilizan eficientemente la luz solar y fijan CO₂ con gran capacidad para generar biomasa (González, 2015).

Morfología. Rama de la biología que estudia la organización interna y la forma externa de los organismos, tanto animales como vegetales. La morfología interna, estudia la anatomía, la citología y la histología, y la morfología externa la forma de los organismos (Chuncho *et al.*, 2019).

Muestra de agua. Parte representativa del material a estudiar (para este caso agua natural) en el cual se analizarán los parámetros de interés (MINAGRI, 2016).

APÉNDICES

Apéndice A. Registro fotográfico de la investigación

Fotografía N° 01

Fecha: 26/07/2021

Actividad:

Medición de temperatura y pH
de las cochas de colecta de
Nostoc cf. sphaericum



Fotografía N° 02



Fecha: 26/07/2021

Actividad:

Colecta de *Nostoc cf.*
sphaericum

Fotografía N° 03

Fecha: 01/10/2021



Actividad:

Toma de muestras de agua de la Laguna Huaylacancha.

Fotografía N° 04



Fecha: 01/10/2021

Actividad:

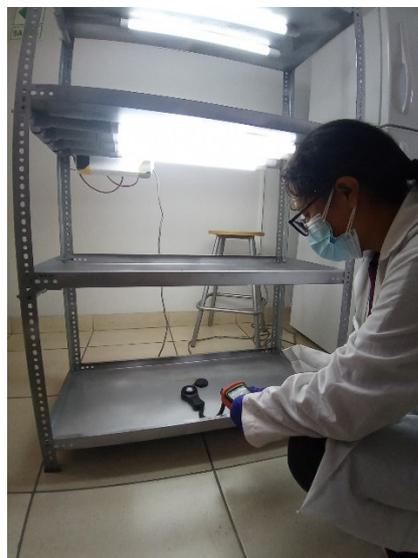
Medición de parámetros de campo de la laguna Huaylacancha.

Fotografía N° 05

Fecha: 31/08/2021

Actividad:

Implementación de módulo experimental

**Fotografía N° 06**

Fecha: 03/10/2021

Actividad:

Determinación de biomasa inicial de muestras de *Nostoc* cf. *sphaericum*

Fotografía N° 07

Fecha: 03/10/2021

Actividad:

Preparación de las unidades experimentales –
Biomasa inicial de *Nostoc*
cf. sphaericum

**Fotografía N° 08**

Fecha: 02/10/2021

Actividad:

Determinación de fosfatos y
nitratos con el colorímetro
DR-900.

Fotografía N° 09

Fecha: 07/10/2021



Actividad:

Caracterización de fosfatos en el proceso de fitorremediación

Fotografía N° 10

Fecha: 07/10/2021

Actividad:

Determinación de pH y oxígeno disuelto mediante el multiparámetro.

Fotografía N° 11

Fecha: 28/09/2021

Actividad:

Muestras de *Nostoc* cf. *sphaericum*. para ser observadas en el microscopio.

**Fotografía N° 12**

Fecha: 28/09/2021

Actividad:

Medida del diámetro de los glóbulos de *Nostoc* cf. *sphaericum*

Apéndice B. Certificado de calibración del equipo colorímetro DR900



CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° LFQ-0008-2021

Expediente : 00077

Fecha de emisión : 2021-03-08

Página 1 de 2

1. **Solicitante** : INSTITUTO CIENTÍFICO SOSTENIBLE MINERO S.A.C.
2. **Dirección** : Z.I. Asoc. Parque Industrial el Asesor Mza. J - Lt. 6 - ATE - Lima - Lima
3. **Instrumento** : **COLORÍMETRO**
Marca / Fabricante : HACH
Modelo : DR900
Serie : 133550001037
Procedencia : CHINA
Código de identificación : NO INDICA
Intervalo de Indicación : 0 Abs a 2 Abs
Resolución : 0.001 Abs
4. **Lugar de calibración** : Laboratorio de Físicoquímica de ALAB
5. **Fecha de calibración** : 2021-02-18
6. **Método de calibración**
 La Calibración se realizó por comparación con Material Estandar Certificado de Absorbancia.
7. **Trazabilidad**

Producto	Marca	N° Lote	Expiración
Blank	HACH	A0357	2023-06
STD 1	HACH	A0357	2023-06
STD 2	HACH	A0357	2023-06
STD 3	HACH	A0357	2023-06

8. **Condiciones de calibración**

	Inicial	Final
Temperatura ambiental	: 25,1 °C	25,3 °C
Humedad relativa	: 60 % H.R.	56,0 % H.R.

Los resultados del certificado son válidos sólo para el objeto calibrado y se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones y no deben utilizarse como certificado de conformidad con normas de producto.

Se recomienda al usuario recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.

ALAB EIRL. no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento o equipo después de su calibración, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de ALAB EIRL.

El certificado de calibración no es válido sin la firma del responsable técnico de ALAB EIRL.

Oscar Félix Vivanco Valero
 Jefe de Laboratorio de Metrología

9. Resultados

Longitud de Onda (420 nm)	Valor referencia (ABS)	Lectura (ABS)	Error (ABS)	Incertidumbre (ABS)
	0,000	0,001	0,001	0,001
	0,588	0,603	0,015	0,050
	1,180	1,195	0,015	0,100
	1,810	1,842	0,032	0,150

Longitud de Onda (520 nm)	Valor referencia (ABS)	Lectura (ABS)	Error (ABS)	Incertidumbre (ABS)
	0,000	0,000	0,000	0,001
	0,558	0,588	0,030	0,050
	1,141	1,168	0,027	0,100
	1,741	1,777	0,036	0,150

Longitud de Onda (560 nm)	Valor referencia (ABS)	Lectura (ABS)	Error (ABS)	Incertidumbre (ABS)
	0,000	0,000	0,000	0,001
	0,578	0,595	0,017	0,050
	1,158	1,170	0,012	0,100
	1,774	1,786	0,012	0,150

Longitud de Onda (610 nm)	Valor referencia (ABS)	Lectura (ABS)	Error (ABS)	Incertidumbre (ABS)
	0,000	0,000	0,000	0,001
	0,566	0,590	0,024	0,050
	1,133	1,168	0,035	0,100
	1,730	1,779	0,049	0,150

Valor Certificado = Lectura del Conductímetro - Error

- Se colocó en el instrumento una etiqueta autoadhesiva con la indicación "CALIBRADO".
- Los resultados son emitidos para la temperatura de referencia de 25 °C .
- La incertidumbre de medición expandida reportada es la incertidumbre de medición estándar multiplicada por el factor de cobertura k=2 de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95 %.

(FIN DEL DOCUMENTO)

Apéndice C. Certificado de calibración del equipo multiparámetro (pH, oxígeno disuelto y conductímetro)



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO
POR EL ORGANISMO A2LA CON CERTIFICADO #6032.01
SEGÚN NTP-ISO/IEC 17025:2017



CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° LFQA-0020-2021

Expediente : 00077

Página 1 de 2

Fecha de emisión : 2021-02-27

- 1 Solicitante** : INSTITUTO CIENTÍFICO SOSTENIBLE MINERO S.A.C.
- Dirección** : Z. I. Asoc. Parque Industrial El Asesor Mza. J-Lt. 6 - Ate - Lima - Lima
- 2 Instrumento calibrado** : **MULTIPARÁMETRO**
- Marca : HACH
 - Modelo : HQ40d
 - Número de serie : 150400018463
 - Serie del electrodo : 131682561018
 - Identificación : NO INDICA
 - Procedencia : U.S.A.
 - Intervalo de medida : 0,00 pH a 14,00 pH
 - Resolución : 0,01 pH
- 3 Lugar de calibración** : Laboratorio de Físicoquímica de ALAB
- 4 Fecha de calibración** : 2021-02-17
- 5 Método de calibración** :
La calibración se realizó por comparación con material de referencia certificado según el procedimiento PC-020 "Procedimiento para la calibración de medidores de pH". Segunda Edición. 2017. INACAL.

Los resultados del certificado son válidos sólo para el objeto calibrado y se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones y no deben utilizarse como certificado de conformidad con normas de producto.

Se recomienda al usuario recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.

ALAB EIRL no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento o equipo después de su calibración, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de ALAB E.I.R.L.

El certificado de calibración no es válido sin la firma del responsable técnico de ALAB E.I.R.L.

7. Trazabilidad

Se utilizó las soluciones tampones patrones de pH:

pH	N° Lote	Certificado de Análisis	Incertidumbres (pH)
4,008	CC655433	4280-10976852	0,011
6,994	CC631810	4281-10578064	0,011
10,013	CC632041	4282-10582508	0,011

y un termómetro patrón de código PTT-002, con Certificado de Calibración N° LT-091-2020

Oscar F. Vivanco Valerio
Jefe de Laboratorio de Metrología

Certificado de Calibración N° LFQA-0020-2021

Página 2 de 2

8. Condiciones de calibración

	Inicial	Final
Temperatura Ambiental	24,5 °C	25 °C
Humedad Relativa	59,0 %H.R.	62,0 %H.R.

9. Resultados

INDICACIÓN DEL PHMETRO (pH)	SOLUCIÓN TAMPÓN (BUFFER) PATRÓN (pH)	ERROR (pH)	INCERTIDUMBRE (pH)
4,46	4,008	0,452	0,014
7,59	6,994	0,596	0,014
10,67	10,013	0,657	0,014

- Valor de la solución tampón patrón = Indicación del pHmetro - Error
- Los resultados son emitidos para la temperatura de referencia de 25 °C
- La incertidumbre de la medición se da con un nivel de confianza aproximado del 95 % con un factor de cobertura $k = 2$.

10. Observaciones

- Se colocó una etiqueta autoadhesiva en el instrumento con la indicación "CALIBRADO".
- El equipo no admitió ajuste antes de la calibración.

(FIN DEL DOCUMENTO)



CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° LFQ-0005-2021

Expediente : 00077

Fecha de emisión : 2021-02-27

Página 1 de 2

1. **Solicitante** : INSTITUTO CIENTÍFICO SOSTENIBLE MINERO S.A.C.
2. **Dirección** : Z.I. Asoc. Parque Industrial El Asesor Mza. J - Lt.6 - Ate - Lima - Lima
3. **Instrumento** : **SONDA LDO**
Marca / Fabricante : HACH
Modelo : HQ40d
Serie : 150400018463
Serie del electrodo : 132662597001
Procedencia : U.S.A
Código de identificación : NO INDICA
Intervalo de Indicación : 0 mg/L a 20 mg/L
Resolución : 0,01 mg/L
4. **Lugar de calibración** : Laboratorio de Físicoquímica de ALAB
5. **Fecha de calibración** : 2021-02-17
6. **Método de calibración**
 Medición con solución oxígeno disuelto, basados SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210, 23rd. Ed. 2017
7. **Trazabilidad**
 Solución de cero oxígeno

Producto	Marca	N° Lote	Expiración
HI7040-1	Hanna Instruments	3163	2023-07
HI7040-2	Hanna Instruments	3222	2023-07

Código	Instrumento Patrón	Certificado de calibración
B-50-3	Bureta, marca WITEG	MV-1248-2019
EM-001	Balanza electrónica, marca Mettler Toledo	BD20-C-0610

8. **Condiciones de calibración**

	Inicial	Final
Temperatura ambiental	: 24,7 °C	24,3 °C
Humedad relativa	: 67 % H.R.	71,0 % H.R.

Los resultados del certificado son válidos sólo para el objeto calibrado y se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones y no deben utilizarse como certificado de conformidad con normas de producto.

Se recomienda al usuario recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.

ALAB EIRL. no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento o equipo después de su calibración, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de ALAB EIRL.

El certificado de calibración no es válido sin la firma del responsable técnico de ALAB EIRL.

Oscar Félix Vivanco Valerio
 Jefe de Laboratorio de Metrología

9. Resultados

Valor referencia (mg/L)	Lectura promedio del instrumento (mg/L)	Error promedio encontrado (mg/L)	Incertidumbre (mg/L)
0,000	0,05	0,05	0,12
7,820	7,74	-0,08	0,12

Valor de referencia = Lectura del Instrumento - Error

- Se colocó en el instrumento una etiqueta autoadhesiva con la indicación "CALIBRADO".
- La incertidumbre de medición expandida reportada es la incertidumbre de medición estándar multiplicada por el factor de cobertura k=2 de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95 %.

(FIN DEL DOCUMENTO)



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO
POR EL ORGANISMO A2LA CON CERTIFICADO #6032.01
SEGÚN NTP-ISO/IEC 17025:2017



CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° LFQA - 0017 - 2021

Expediente : 00077
Fecha de emisión : 2021-02-27

Página 1 de 2

1. **Solicitante** : INSTITUTO CIENTÍFICO SOSTENIBLE MINERO S.A.C.
2. **Dirección** : Z.I. ASOC. PARQUE INDUSTRIAL EL ASESOR MZA.
J - LT. 6 - ATE - LIMA - LIMA
3. **Instrumento** : **CONDUCTÍMETRO**
Marca : HACH
Modelo : HQ40d
Serie : 150400018463
Serie del electrodo : 112642583015
Procedencia : U.S.A.
Código de identificación : NO INDICA
Intervalo de Indicación : 10 $\mu\text{S/cm}$ a 200 mS/cm
Resolución : 0,1 $\mu\text{S/cm}$; 1 $\mu\text{S/cm}$; 0,01 mS/cm
4. **Lugar de calibración** : Laboratorio de Físico Química de ALAB E.I.R.L.
5. **Fecha de calibración** : 2021-02-17

Los resultados del certificado son válidos sólo para el objeto calibrado y se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones y no deben utilizarse como certificado de conformidad con normas de producto.

Se recomienda al usuario recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.

ALAB EIRL. no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento o equipo después de su calibración, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de ALAB EIRL.

El certificado de calibración no es válido sin la firma del responsable técnico de ALAB EIRL.

6. **Método de calibración**
La calibración se realizó por comparación con material de referencia certificado según el procedimiento PC-022 "Procedimiento para la calibración de Conductímetros" Primera Edición. 2014. INDECOPI.

7. Trazabilidad

Valor Certificado a 25 °C	N° de lote	Certificado de Análisis	Incertidumbre ($k=2$)
99,70 $\mu\text{S/cm}$	CC20442	4066-11681671	2,1 $\mu\text{S/cm}$
1412 $\mu\text{S/cm}$	CC20203	4173-11497708	4,6 $\mu\text{S/cm}$
9988,00 $\mu\text{S/cm}$	CC20400	4068-11639556	40 $\mu\text{S/cm}$

Código	Instrumento Patrón	Certificado de calibración
PTT-002	Termómetro digital de incertidumbre 0,022 °C a 0,034 °C	LT-091-2020

8. Condiciones de calibración

	Inicial	Final
Temperatura ambiental :	24,5 °C	25,0 °C
Humedad relativa :	59 % H.R.	62 % H.R.

Oscar F. Vivanco Valerio
Jefe de Laboratorio de Metrología



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO
POR EL ORGANISMO A2LA CON CERTIFICADO #6032.01
SEGÚN NTP-ISO/IEC 17025:2017**



Certificado de calibración N° LFQA - 0017 - 2021
Página 2 de 2

9. Resultados

Valor del Certificado	Lectura promedio del conductímetro	Error	Incertidumbre
99,70 $\mu\text{S/cm}$	98,1 $\mu\text{S/cm}$	-1,60 $\mu\text{S/cm}$	3,2 $\mu\text{S/cm}$
1412 $\mu\text{S/cm}$	1409 $\mu\text{S/cm}$	-3 $\mu\text{S/cm}$	5,6 $\mu\text{S/cm}$
9,988 mS/cm	10,41 mS/cm	0,422 mS/cm	40 $\mu\text{S/cm}$

Valor Certificado = Lectura del Conductímetro - Error

- Se colocó en el instrumento una etiqueta autoadhesiva con la indicación "CALIBRADO".
- Los resultados son emitidos para la temperatura de referencia de 25 °C .
- Las incertidumbres de medición expandidas reportadas son las incertidumbres de medición estándares multiplicadas por el factor de cobertura k=2 de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95 %.

(FIN DEL DOCUMENTO)

Apéndice D. Certificado de calibración del equipo luxómetro.



Página 1 de 2

CERTIFICADO DE CALIBRACION

NUMERO: LFO - 0013 - 2021

ARCHIVO: LFO 2021

LABORATORIO DE FOTOMETRIA

Equipo: LUXOMETRO DIGITAL
 Marca: EXTECH
 Modelo: Lt300
 Serie / identificación: 161108863
 Procedencia: TAIWAN
 Intervalo de Medición: 0 Lux a 400000 Lux
 Div. Escala: 0.1
 Unidad: Lux
 Clase: No indica

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

Los resultados del certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones

El usuario esta en la obligación de recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos según el trabajo realizado y el tiempo de uso del instrumento.

Solicitante: GENATEB S.A.C.
 Dirección: P.J. MIRTO NRO. 174 BAR. SHANCAYAN - ANCASH - HUARAZ INDEPENDENCIA

ICM LAB no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración.

Fecha de recepción: 07 de setiembre de 2021
 Fecha de calibración: 08 de setiembre de 2021
 Fecha de emisión: 08 de setiembre de 2021

Si el usuario requiere una copia del documento sellada, solicitar al área de ventas del laboratorio.

Método de calibración:

Por comparación tomando como referencia el método de ensayo de Technical Report CIE 69 -1987 Utilizando como fuentes luminosas lámparas fluorescentes de luz blanca PHILIPS.

Condiciones ambientales:

Temperatura Inicial	19.1 °C	Humedad relativa inicial	64.1 %
Temperatura final	19.2 °C	Humedad relativa final	64.2%

Este certificado de calibración sólo puede ser difundido completamente y sin modificaciones. Los extractos o modificaciones requieren de la autorización de ICM LAB.

Aprobado



Benjamin Palomino D.
 Jefe de instrumentación



certificado sin firma y sello carecen de validez
 Av. Horacio Urteaga N° 722, Jesus Maria, Lima - Perú
 Telf.: 964368738
 Email: informes.icmlab@gmail.com

CERTIFICADO DE CALIBRACION

NUMERO: LFO - 0013 - 2021

ARCHIVO: LFO 2021

LABORATORIO DE FOTOMETRIA

Patrones de referencia

PATRON UTILIZADO	CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN	TRAZABILIDAD
Luxómetro Konika Minolta, modelo T - 10	LFR - 043 -2020	DM - INACAL

Resultados de la medición

Modo de ensayo: Comparación directa

Valor esperado: Indicación del nivel en el rango de nivel de referencia

Luz Fluorescente.

RANGO DE REFERENCIA	VALOR ESPERADO (Lux)	VALOR MEDIDO (Lux)	CORRECCION (Lux)	INCERTIDUMBRE (Lux)
0.00 Lux a 29.99 lux	0.00	0.00	0.00	0.005
	26.52	26.95	0.43	0.73
25.0 Lux a 299.9 Lux	49.4	50.0	0.6	1.2
	295.6	299.5	3.9	7.3
250 Lux a 2999 Lux	503	500	-3	12
	3035	2995	-40	75
2500 Lux a 29999 Lux	2547	2500	-47	63
	4065	4000	-65	100

Nota 1

La incertidumbre expandida de la medición que se presenta esta basada en una incertidumbre multiplicado por cobertura $k=2$, el cual proporciona un nivel de confianza de 95%.

La incertidumbre expandida de medición fue calculada a partir de los componentes de incertidumbre de los factores de influencia en la calibración. La incertidumbre indicada no incluye una estimación de variaciones a largo plazo.

Nota 2

El luxómetro no fue calibrado en ningún valor en el alcance de 25 000 Lux hasta 299 900 Luix

Identificación: con fines de identificación se ha colocado una etiqueta adhesiva de color verde "Calibrado"

Fin del documento



certificado sin firma y sello carecen de validez

Av. Horacio Urteaga N° 722, Jesus Maria, Lima - Perú

Telf.: 964368738

Email: informes.icmlab@gmail.com

Apéndice E. Autorización de colecta de la cianobacteria *Nostoc cf. sphaericum*



"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"



Huancayo, 13 de enero de 2021

OFICIO N° 004-2021-GRJ-DRP/DR

Señores:
 Tesistas de la Universidad Católica – Sede Sapientiae
LIMA. -

ASUNTO : PROCEDENCIA DE SOLICITUD

REFERENCIA: a) Solicitud s/n con Exp. 03119559 de fecha 06 de enero del 2021
 b) Reporte N° 010-2021-GRJ-DRP/DR-CPI

Por medio del presente me dirijo a Usted, saludarlo cordialmente y en atención al documento de la referencia a), manifestarle que de acuerdo a lo indicado en el ítem b), se le autoriza la colecta del alga denominado "cushuro", para el desarrollo de su proyecto de tesis a los señores:

- **Nelson Guillermo, MORI DE LA CRUZ**
- **Diana Yasmina, BENITES ALVA**

Sin otro particular, quedo de Usted.

Atentamente,

GOBIERNO REGIONAL - JUNÍN
 DIRECCIÓN REGIONAL DE LA PRODUCCIÓN

 Ing. Rolando S. Salazar Córdova
 DIRECTOR REGIONAL

C.c.
 Arch
 DR/prf

D: 04555188
 E: 03119559



REPORTE N° 010-2020-GRJ-DRP-/DR-CPI



A : Ing. Rolando O. Salazar Córdova
Director Regional de la Producción Junín

ASUNTO : AUTORIZACION PARA LA EXTRACCION DE MUESTRAS DE LA CIANOBACTERIA NOSTOC "CUSHURO" DE LA LAGUNA HUAYLACANCHA PERTENECIENTE A LA RESERVA PAISAJISTICA NOR YAUYOS COCHAS, CANCHAYLLO-JAUJA-JUNIN

REFERENCIA: SOLICITUD
DOC. N° 0438602 – EXP. N° 03119559

FECHA : Huancayo, 13 de enero del 2021

Es grato dirigirme a usted, en mérito a la referencia, con la finalidad de manifestar respecto a la solicitud de autorización para la extracción de muestras de la cianobacteria nostoc "cushuro" de la laguna HuaylacanCHA perteneciente a la Reserva Paisajística Nor Yauyos Cochas, Canchayllo-Jauja-Junín y mencionar que es **procedente autorizar la colecta de alga denominado "cushuro"**, para su desarrollo del proyecto de tesis cuyo título es **Evaluación de la Capacidad de Nostoc sp para la Fitorremediación de aguas con actividad piscícola intensiva de la laguna HuaylacanCHA, Jauja-Junín** presentado por Srta. Diana Yasmina Benites Alva y Nelson Guillermo Mori de la Cruz; por un estudio con fines de investigación científica.

Documento que se le remite para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,



GOBIERNO REGIONAL - JUNÍN
DIRECCIÓN REGIONAL DE LA PRODUCCIÓN
Bigo. Pesq. Nelson Silvera Solís
SUB DIRECCIÓN DE PESQUERÍA

C.C.
Arch.

MSS/

Reg. Doc.	0455834
Reg. Exp	03119559