



PROPUESTA DE UN PROTOCOLO PARA LA OBTENCIÓN DE FERTILIZANTE ORGÁNICO A PARTIR DE MICROALGAS

Soto Gonzalo¹, Monar Paul¹, García-Orellana Yelitza^{2,3}, Simbaña Ana G⁴, Tello Edgar G.⁴
Brito Borges Juan⁵ y Torres Rodríguez Duilio²

¹Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador.

²Decanato de Agronomía. Universidad "Lisandro Alvarado", Lara. Venezuela.

³Investigador Proyecto Prometeo-Senescyt ⁴Facultad de Agronomía. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. ⁵Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Lara, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola. Venezuela.

yelitzagarcia@ucla.edu.ve

ASA/EX 2020-05

Recibido: 15-01-2020

Aceptado: 13-04-2020

RESUMEN

El uso de biofertilizantes constituye una alternativa para el manejo sostenible de suelos y la fertilización de cultivos, considerando el aporte de macro y micronutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas, su uso permitiría minimizar los costos de producción y reducir el impacto ambiental causado por el uso excesivo de fertilizantes químicos. En base a esto se consideró el uso de las microalgas *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp para la producción de biofertilizantes, para ello se realizó la caracterización química de las microalgas, para lo cual se determinaron los parámetros pH, CE, contenido de los macronutrientes N, P, K, Ca, Mg, S y los micronutrientes B, Zn, Cu Fe y Mn. Los resultados obtenidos demuestran que la microalga tiene un alto potencial como fertilizante debido al alto contenido de nutrientes, sin embargo actualmente no existe una metodología para su uso eficiente a nivel de campo o invernadero, por lo cual se propone un protocolo para la propagación, aislamiento, masificación, escalamiento y modo de empleo de un biofertilizantes a base de las microalgas *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp.

Palabras Clave: Biofertilización, nutrición mineral, microorganismos, sostenibilidad.



PROTOCOL PROPOSAL FOR OBTAINING ORGANIC FERTILIZER FROM MICROALGAS

ABSTRACT

The use of biofertilizers constitutes an alternative for the sustainable management of soils and the fertilization of crops, considering the contribution of macro and micronutrients essential for the development of the plants, their use would allow minimizing the production costs and reducing the environmental impact caused by the excessive use of chemical fertilizers. Based on this, the use of *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp for the production of biofertilizers, for this the chemical characterization of the microalgae was carried out, for which the parameters pH, EC, content of the macronutrients N, P, K, Ca, Mg, S and micronutrients B were determined, Zn, Cu Fe and Mn. The results obtained show that the microalgae have a high potential as a fertilizer due to the high nutrient content, however there is currently no methodology for efficient use at the field or greenhouse level, so a protocol for propagation, isolation is proposed, massification, scaling and use of a biofertilizer based on *Chlorella* sp and *Scenedesmus* sp.

Keywords: Biofertilization, mineral nutrition, microorganisms, sustainability.

INTRODUCCIÓN

Uno de los elementos más valiosos dentro de la agricultura ecológica, es el uso de fertilizantes orgánicos como una alternativa viable e importante, para el logro de un desarrollo agrícola ecológicamente sostenible; permitiendo una producción a bajo costo sin efectos contaminantes al ambiente la respectiva contribución a la conservación del suelo desde el punto de vista de fertilidad y biodiversidad (Ramos y Terri, 2014). En contraste, los fertilizantes sintéticos presentan baja eficiencia ($\leq 50\%$) para ser asimilados por los cultivos, atribuyéndole al resto un impacto ambiental adverso, tal como contaminación de mantos acuíferos con NO_3^- , eutrofización, lluvia ácida y

calentamiento global (Weldeslassie et al. 2018).

Como alternativa ante la fertilización química tradicional, existen organismos como *Chlorella* sp (Raposo y Morais, 2011) y *Scenedesmus* sp (Nayak et al. 2016) que son microalgas ampliamente utilizadas por su excelente crecimiento y facilidad de manejo en condiciones de laboratorio (Rubio et al. 2019). Las microalgas como *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp, presenta una alta eficiencia en productividad, debido a su fácil adaptación en condiciones de laboratorio, así mismo las microalgas estimulan el crecimiento de la planta (Elarrousi et al. 2016), en este sentido se ha reportado en el crecimiento vegetativo de tomate al ser fertilizado con extracto de alga (Tarraf et al. 2015), en este sentido el género *Chlorella* sp y *Scenedesmus* ha sido empleado como éxito en la fertilización foliar de albahaca, logrando aumentar la germinación y producción de biomasa y en híbridos de petunia, logrando un aumento de la biomasa de raíces y el número de flores (Plaza et al. 2018).

Las microalgas poseen un contenido interesante de micro y macro nutrientes,

las cuales en conjunto, tienen el potencial de mejorar la disponibilidad de los mismos, promoviendo cultivos más robustos y saludables, en este orden de ideas Uysal *et al.* (2015) señalan que entre los nutrientes que aportan las algas como biofertilizantes se encuentran el nitrógeno, fósforo, potasio y calcio, no obstante las ventajas de los biofertilizantes se han reportado altos valores de CE y Na en muestras de humus y vermicompost líquidos los cuales constituyen un riesgo potencial de salinización y sodificación de suelos, así como la afectación de cultivo sensibles Mogollón *et al.* (2016).

Los beneficios por el uso de biofertilizantes son mayores a las desventajas, dado que el suministro de mejores condiciones físicas y nutricionales para el desarrollo de las plantas, permite la obtención de cultivos más productivos, con comportamientos similares a los reportados en la fertilización convencional y además promueve la producción de productos inocuos y mayor valor nutricional para los consumidores y desde el punto de vista agronómico promueven sustancias promotoras de crecimiento denominadas

fitohormonas y metabolitos secundarias que mejoran la germinación y la resistencia de las plantas al ataque de insectos y enfermedades.

Por lo expuesto anteriormente el objetivo de esta investigación fue la obtención de un fertilizante orgánico líquido a base de las microalgas (*Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.), basado en el potencial de ambas especies para suplir nutrientes al suelo y a su vez proponer un protocolo factible que permita el aislamiento y propagación de estas microalgas para el uso de estos biofertilizantes a pequeña escala de productores hortícolas bajo sistemas de fertirrigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de las microalgas

La colecta de las microalgas (*Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.), se realizó en zonas aledañas a cursos de agua como ríos, arroyos y lagunas. Las muestras se recolectaron en frascos previamente esterilizados, en los cuales se colocó el agua del lugar y muestras tomadas mediante el raspado de las rocas utilizando un cepillo de cerdas.

Tratamiento de las muestras

Las muestras son llevadas al laboratorio donde se mantienen en reposo durante 72 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo y con la ayuda de un microscopio óptico se verificó la presencia de las especies de microalgas de interés (*Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.) (Figura 1).

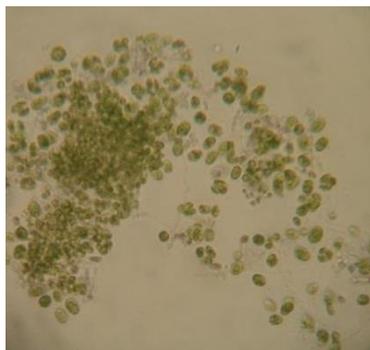


Figura 1. Vista microscópica (40X) de las microalgas (*Chlorella* sp. y *Scenedesmu* sp.)

Descripción de microalgas (*Chlorella* sp. y *Scenedesmu* sp.)

Chlorella es una microalga que pertenece al phylum Chlorophyta, familia Chlorellaceae. Se caracteriza por que sus células son circulares, su tamaño oscila entre 2 y 10 micras y sus cloroplastos

presentan como pigmentos fotosintéticos principales clorofila a y b, los cuales tienen un pico de absorción máximo alrededor de 430nm y de 675nm (González, 2010).

Scenedesmus es una microalga perteneciente a la clase Chlorophyceae, que es pequeña e inmóvil célula formadora de colonias en la que se alinean en forma de plato. Las células contienen un único núcleo, que consiste en un cloroplasto en la parte central. Las estructuras de este tipo de microalgas solo pueden ser observadas con un microscopio electrónico.

Características químicas del fertilizante orgánico

Para la caracterización de los fertilizantes producidos a partir de microalga se determinaron los parámetros pH, CE, contenido de los macronutrientes N, P, K, Ca, Mg, S y los micronutrientes B, Zn, Cu Fe y Mn. Los análisis se realizaron según los siguientes métodos (Gilabert *et al.*, 1990): pH (Relación muestra: agua: 1: 2.5; nitrógeno (Kjeldahl); fósforo (Olsen), potasio, calcio, magnesio (extracción cloruro de amonio y

cuantificación por absorción atómica), CE (dS m^{-1} 25 °C) con un conductímetro en relación 1:2.5; los micronutrientes Fe, Mn, Zn y Cu, fueron determinados por extracción con HNO_3 y cuantificación por espectrofotometría.

Protocolo de obtención de biofertilizantes

Para la obtención de los biofertilizantes se deben buscar mecanismos de propagación, aislamiento, masificación y escalamiento previo a la descripción del protocolo se deben considerar todos los aspectos relevantes para poder hacer una multiplicación efectiva de la microalga. Los medios de cultivos que se recomiendan son: Suoeka el cual se compone de los siguientes elementos: KH_2PO_4 8,3Mm; K_2HPO_4 5,3Mm; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25Mm; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,133Mm; Trazas Hutner 1x; NH_4Cl 9,35Mm. Trazas Hutner 200x: 12,7g de $\text{EDTANa} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 250ml de agua; otros de los posibles medio de cultivo es Guillard el cual contiene: 1ml de solución que contiene 0,08g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 0,8g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 100ml de agua destilada y finalmente el medio Remital el cual es u medio de

cultivo comercial que se prepara a partir de abono Remital-M que contiene 17% de nitrógeno total, fósforo asimilable 6%, potasio soluble en agua 18%, magnesio 2%, azufre total 1,6%, boro 0,2% y 0,1% de zinc.

Considerando la dificultad de acceso y preparación de reactivos en campo, así como los costos de medio de cultivo para el protocolo para la obtención del biofertilizante a ser validado, se propuso un medio de cultivo base de un fertilizante foliar completo 9-9-7 diluido al 3%.

Aislamiento

Para el aislamiento se tomaron las muestras del sitio de interés, se observaron las microalgas al microscopio y con ayuda de la clave taxonómica se identificaron las especies de interés, posteriormente se hicieron diluciones seriadas en placas de Wells, mediante la técnicas de estriados en placas de Petri, se colocaron en cámaras de crecimiento brindándole el medio de cultivo apropiado para su posterior aislamiento, posteriormente se realizó la identificación taxonómica de las especies hasta la categoría de género.

Para efectos del protocolo y facilidad de aplicación se sustituyó la técnica de estriado en cápsulas de petri por diluciones en microtubos con agua destilada.

Crecimiento y propagación

Una vez aisladas las microalgas se procede al crecimiento en el medio de cultivo, el cual facilita su propagación, para evaluar el crecimiento se emplearon los métodos de recuento celular en cámara de Neubauer, medición por densidad óptica y cuantificación por el método gravimétrico, en el protocolo propuesto este procedimiento no se modificó.

Escalado

En las instalaciones de cultivo de microalgas se necesita disponer de cultivos que presentan distintos volúmenes y condiciones de cultivo. En general, se dispone de instalaciones con temperatura controlada y con luz artificial en los que se puede disponer de distintos sistemas de cultivo hasta un volumen máximo de 400 litros por recipiente. Éstas instalaciones interiores permiten mantener constante la temperatura, luz incidente y duración de

los ciclos luz-oscuridad, pero tienen el inconveniente de su coste, debido al mayor consumo energético. Para el protocolo propuesto el sistema de cultivo será en medio cerrado con aireación y luz natural con una capacidad de 200 litros.

Método de aplicación y dosis

Se calculó la dosis en base a fertilizantes foliares de uso común en cultivos hortícolas tropicales como leguminosas y especies, tomando como referencia la fertilización de Albahaca (García *et al.* 2016) el modo de aplicación se hizo para fertiriego a razón de una dosis de 20 ml por 200 ml con una frecuencia de aplicación de dosis veces semanales, para el protocolo se propondrán dosis y frecuencia de aplicación en función de los requerimientos de los principales cultivos hortícolas de las zonas tropicales, para lo que se posea información.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Potencial fertilizantes de las microalga

Para estimar el potencial de suministro de nutrientes del biofertilizantes a base de microalgas *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp, se determinó el contenido de macronutrientes: N, P, K, Ca, Mg y S y los micronutrientes B, Zn,

Cu, Fe y Mn, así como los riesgos de salinización para lo cual se cuantificó la conductividad eléctrica, los resultados se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características químicas de biofertilizante microalgal a base de *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp.

	CE (dS m ⁻¹)	g por 100 ml (%)						mg l ⁻¹ (ppm)				
pH		N Total	P	K	Ca	Mg	S	B	Zn	Cu	Fe	Mn
6,32	3,12	0,10	0,13	0,19	0,09	0,02	0,03	3,4	0,2	3,2	3,8	6,4

CE= Conductividad eléctrica; N= Nitrógeno; P= Fósforo; K= Potasio; Ca= Calcio; Mg= Magnesio; S= Azufre; B= Boro; Zn= Zinc; Cu= Cobre; Fe= Hierro; Mn= Manganese. Fuente: Laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

El contenido de nitrógeno encontrado en el biofertilizante microalgal estuvo por debajo de los valores reportados por Uysal *et al.* (2015) quienes encontraron valores de 5,45 % en un biofertilizante producido a base de *Chlorella* sp y así mismo fue inferior a lo reportado en compost obtenido de residuos agroindustriales (Tüzel *et al.* 2016) encontraron valores de 1,88 y 1,89% respectivamente, similar comportamiento se observó para el P, los valores fueron inferiores al comparar el biofertilizante y los compost reportados por estos autores, quienes

encontraron valores de 1,0. 057 y 0,99 % respectivamente.

Con respecto al K, Ca, Mg y S, los valores son relativamente bajos, Ronga *et al.* (2019) no obstante que las microalgas ofrece otros beneficios como la secreción de sustancias promotoras de crecimiento como auxinas, citoquininas, aminoácidos y poliaminas, se ha cuantificado la presencia de auxinas y citoquininas en al menos 24 géneros de microalgas, adicionalmente se ha reportado la presencia de metabolitos y polisacáridos secundarios que también intervienen en proceso metabólicos que favorecen el crecimiento de los cultivos.

Con respecto a los micronutrientes presentes en el medio de cultivo o en el biofertilizante microalgal como se reportó en el Cuadro 1, puede ser una alternativa viable cuando se aplica el biofertilizante de manera foliar, dado que se ha reportado que las aplicaciones edáficas no son eficientes, debido a las limitaciones, físicas, y químicas que tiene el suelo.

Aunque el contenido de nutrientes puede ser relativo bajo los mismos son de rápida absorción a través de los estomas y por los poros hidrofílicos presentes a nivel de la cutícula (Battacharyya *et al.* 2015), por lo tanto la respuesta es más rápida por la vía foliar cuando se compara con la fertilización edáfica tradicional (Marschner, 2012), esto coincide con lo reportado por García *et al.* (2016), quienes encontraron un mayor crecimiento en plantas de albahaca cuando fueron fertilizada foliarmente con un biofertilizante a base las microalgas *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp.

A pesar de las bondades del uso de microalgas es alentadora debido a la presencia de nutrientes de fácil absorción, su aplicación puede ser

nociva para plantas sensibles a la salinidad, debiendo a los altos valores de CE, esto coincide con lo reportado por Mogollón *et al.* (2016), quienes encontraron que la mayoría de los humus líquidos y vermicompost usados en la depresión de Quíbor y Paraguaná, representan un alto riesgo de salinización del suelo, sin embargo los valores de CE son contrarios a los reportados por Ronga *et al.* (2019) al evaluar 7 extractos microalgales con valores de CE por debajo de 0,02, los cuales resultaron inocuos al ser evaluados mediante la prueba de Zucconi.

Dada las ventajas evidente en términos de potencial nutricional, inocuidad y bajo costo de los biofertilizantes a base de microalgas se propuso una metodología para su uso a escala comercial por parte de productores, principalmente hortícolas, si bien en la literaria existen diversos mecanismos de propagación, aislamiento, masificación, escalamiento y uso, los mismos han sido elaborado a nivel de laboratorio, los procedimientos son difíciles de replicar por parte de los productores. En este sentido se presenta un protocolo basado en la revisión de experiencias previas, el cual se adapta a

las condiciones locales de los productores de las zonas rurales latinoamericanas, así mismo se discuten las ventajas y desventajas de cada uno de estos pasos, para lograr el uso de este biofertilizante y su posterior validación a nivel de campo.

Propagación

Para la propagación se sugirió iniciar las mismas 72 horas posteriormente la recolección, usando una proporción alga: agua de 1:1 y propagando en un sistema cerrado para lo cual se usan matraces Erlenmeyer con capacidad de 500 ml, con aireación permanente y luz constante a una temperatura aproximada de 20 °C. Uno de los cambios que se sugiere en pro de facilitar la aplicación del método es el medio de cultivo, en este caso se recomienda adicionar 1 ml de una solución nutritiva a base de un fertilizante foliar completo 9-9-7 diluido al 3%, cada 3 días, el cual sustituye a los medios de cultivo tradicionales (Sueka, Gillard y Remital), se recomienda que esta fase tenga una duración de 30 días. Para la producción de biofertilizantes microalgales a gran escala Ortiz *et al.* (2012) señalan que una de las limitantes

principales son los costos de los componentes del medio de cultivo, que generalmente contiene fertilizantes inorgánicos derivados del petróleo, por lo cual se han desarrollado alternativas comerciales y ecológicas a bajo costo como medio de cultivo, entre las alternativas evaluadas están los estiércoles de animales como la gallinaza (Lu et al. 2010).

En este orden de ideas Ortiz et al. (2012) y Burgos et al. (2016) han evaluado una gran variedad de medios de cultivo incluyendo Erdschreiber, Grund, ES, CHU-10, Sueka, Guillard y Remital han sido desarrollados para la efectividad de los cultivos en especies de microalgas de agua dulce y marinas. Sin embargo, presentan algunas limitaciones en nutrientes seleccionados para mejorar los crecimientos en cultivos de largo tiempo, es por ello que se han desarrollado medios de cultivos alternativos han demostrado que con el uso de fertilizantes agrícolas permite obtener un mayor crecimiento, una similar composición proximal y un menor costo que con aquellos medios que son específicos o convencionales para el cultivo de microalgas, por esta

razón en esta investigación se evaluó un fertilizante foliar 9-9-7 como medio de cultivo.

Aislamiento

El procedimiento de aislamiento se mantuvo tal cual, la mayoría de los métodos reportados en la literatura. Una vez que se comprueba que en la muestra hay presencia de las microalgas de interés (*Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.), con ayuda de una pipeta Pasteur con punta reducida, se toma una gota del fitoplancton y se coloca en un portaobjeto bajo el microscopio (40X). Las células de interés se succionan por capilaridad con la pipeta y se pasa a un portaobjeto limpio o a una lámina de pocillos con una gota de agua estéril. Este procedimiento se repite "lavando" la célula en agua estéril hasta que no se observen contaminantes y la gota contenga un solo tipo de células. La célula aislada se coloca en microtubos de 2 ml completando con agua destilada y cerrado herméticamente.

Barreto y Velasco (2014) señalan la imposibilidad de aislar microalgas bajo condiciones de media y alta temperatura (25 y 28 °C), por lo cual este es un factor

a considerar durante la fase de aislamiento, estos autores sugieren que las baja temperatura son determinante para el aislamiento así mismo este dependerá de la capacidad de la misma para diferenciarse de otros individuos en función de su tamaño, resistencia, flotabilidad, abundancia y capacidad de crecimiento dado que algunas pueden ser confundidas con bacterias y protozoos. Que proliferan a altas temperaturas, limitando el desarrollo de las microalgas, en este estudio dado que la recolección se hizo en ambiente naturales, es probable que exista este problema, el cual no ocurriría en sistemas abiertos controlados o cerrados como birreactores, donde las condiciones de temperatura y otros parámetros físico-químicos son controlados.

Masificación

Se toma el inóculo que se encuentra en los microtubos y se le añade una gota de la solución nutritiva a base de un fertilizante foliar completo 9-9-7 diluido al 3% diariamente, este fertilizante sustituye a los medios de cultivos usados convencionalmente (Suoeka, Guillard, o

Remital), el cual se deja incubar durante 7 días, a temperatura ambiente y herméticamente cerrado. Posteriormente se transfiere a un tubo de ensayo, se le agregan 8 ml de agua destilada y se le añaden 3 gotas del fertilizante foliar completo 9-9-7 diluido al 3%, igualmente se deja a temperatura ambiente y con exposición a luz blanca permanente, durante 15 días (Figura 2), otros de los cambios que se hacen en el protocolo es que la incubación se realizó bajo condiciones naturales y no bajo parámetros controlados en cámaras de incubación. Durante estos 15 días, se recomienda hacer mínimo tres conteos con un intervalo no menor de 3 días, para evaluar el crecimiento de las microalgas, utilizando un microscopio óptico con la ayuda de una cámara de Neubauer mejorada de 0,1 mm de profundidad. Durante la masificación Kirrolia et al. (2012) señalan que el crecimiento de la microalgas, puede ser afectada por la composición del medio de cultivo, así mismo por condiciones como la agitación, temperatura de incubación y salinidad del medio, estos autores al analizar un cultivo de microalgas encontraron que el contenido de lípido,

proteínas y carbohidratos fue más alto cuando el medio de cultivo fue sometido a agitación durante el proceso de incubación, asimismo encontrado que el contenido de lípidos, clorofila y biomasa microalgas se incrementó la temperatura de incubación fue de 25°C con agitación durante a 120 rpm por 11 días, esto representaría una limitante en la masificación que se propone en el protocolo para lograr la incubación efectiva de microalgas en regiones con altas temperaturas.



Figura 2. Fase de masificación de las microalgas *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.

Escalamiento

Cuando el crecimiento de las microalgas ha alcanzado como mínimo $1,6 \times 10^6$ células ml⁻¹, se procede a realizar la primera fase del escalamiento, que consiste en hacer una transferencia del

cultivo microalgal de los tubos de ensayo a un matraz Erlenmeyer de capacidad 250 ml, aforando con agua destilada y añadiendo 3 ml de fertilizante foliar completo 9-9-7 diluido al 10%, cada 3 días, implementando un sistema de aireación y luz blanca permanente. Esta etapa dura un mínimo de 21 días, durante los cuales se van haciendo los recuentos cada tres días para evaluar el crecimiento de las microalgas (Figura 3).



Figura 3. Fase del escalamiento de las microalgas *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp.

Una vez transcurridos los 21 días, el crecimiento de las microalgas debe haber alcanzado como mínimo 4×10^6 células ml^{-1} , se inicia la segunda fase del escalamiento, para lo cual se transfiere el cultivo microalgal del matraz Erlenmeyer a envases con una capacidad de 20 litros. Se afora con agua destilada

hasta completar las $\frac{2}{3}$ partes, para favorecer el intercambio gaseoso y se añade 15 ml de fertilizante foliar completo 9-9-7 sin diluir, implementando un sistema de aireación y luz blanca permanente. Esta fase dura aproximadamente 7 días. Al final se realiza un conteo para evaluar el crecimiento de las microalgas, el cual se estima como óptimo cuando alcance una población 16×10^6 células ml^{-1} . Visualmente se puede observar una coloración verde oscura, lo cual será indicativo del adecuado crecimiento microalgal.

La última fase del escalamiento consiste en filtrar el cultivo microalgal contenido en el envase de 20 litros y hacer una transferencia a un tanque de 200 litros, el cual debe contener agua potable a un 85% de su capacidad, procurando la misma se encuentre libre de cloro. Luego se le añade 150 ml de fertilizante foliar completo 9-9-7 sin diluir, implementando un sistema de aireación y con exposición a la luz natural. Este tanque se va a tapar con un plástico blanco para evitar la contaminación de agentes externos (Figura 4). Pasados 7 días se obtiene el fertilizante orgánico,

previo a su uso se recomienda la caracterización química del mismo.



Figura 4. Filtrado del cultivo microalgal a base de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp-

Este sistema de producción es de fácil aplicación y de bajo costo si se compara con los sistemas de producción abiertos en lagunas, estanques o humedales a gran escala con profundidades que van de 10 a 50 centímetros (Park et al. 2011), este sistema es usado comúnmente en campos de arroz los cuales permiten una adecuada iluminación y circulación de aire, esta ha sido usado para la producción de algas y cianobacterias, tales *Arthrospira* spp., *Dunaliella* spp., *Anabaena* spp., *Phaeodactylum* spp., *Pleurochrysis* spp., *Chlorella* spp y *Nannochloropsis* spp (Bharathiraja et al. 2015)

Otros sistema usados son los denominados bioreactores (Rawat *et al.* 2011) los cuales son sistemas cerrados los cuales ocupan grandes volúmenes y han sido usados para la producción de microalgas como: *Phyridium* spp., *Phaeodactylum* spp., *Arthrospira* spp., *Nannochloropsis* spp., *Chlorella* spp., *Haematococcus* spp. and *Tetraselmis* spp, si bien los bioreactores pueden producir biofertilizantes a gran escala con un óptimo control de luz, temperatura e intercambio gaseosos, su alto costo y dificultad de diseño y mantenimiento limitan su aplicación a gran escala.

Modo de empleo

Por experiencias en ensayos con los cultivos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) se recomienda su aplicación mediante fertirrigación. A nivel experimental se han ensayado con diferentes dosis Aly y Esawi (2008) encontraron que en dosis de pimentón de 50 g l⁻¹ con aplicaciones cada 15 días se obtuvieron efectos promisorios, en el caso de remolacha De Oliveira *et al.* (2013), logrando estimular el crecimiento con dosis de 1,5 y 3.0 g l⁻¹

¹ con 2 aplicaciones semanales, mientras Elauroussia *et al.* (2016) lograron duplicar la biomasa de raíces en tomate cuando aplicó dosis de 3 g l⁻¹.

Así mismo García *et al.* (2016) lograron resultados satisfactorios al comparar con la fertilización convencional al usar 20 ml del biofertilizante por cada 200 litros de agua con una frecuencia de 2 riego semanales. En este protocolo se sugiere una dosis de aplicación y frecuencia de riego para los principales cultivos tropicales, considerando los requerimientos hídricos y nutricionales promedios.

La biofertilización a base de las microalgas a escala de pequeños productores es factible considerando el potencial nutricional del mismo, los beneficios para el consumidor y la inocuidad del producto sobre el suelo y el agua, su aplicación dependerá de la adopción y validación del protocolo aquí presentado para lo cual requeriría su evaluación con productores de diferente nivel tecnológico y predios de diferentes tamaño, así como cultivos con requerimientos hídricos y nutricionales contrastantes.

CONCLUSIONES

Aunque valores de macronutrientes N, P, K, Ca, Mg, S y los micronutrientes B, Zn, Cu Fe y Mn, son relativamente en bajo a comparación a abonos foliares comerciales o abonos edáficos, los biofertilizantes a bases de microalgas *Chlorella sp* y *Scenedesmus sp* tiene un alto poder fertilizantes, dado que todos los elementos químicos son de fácil absorción por vía estomáticas o través de la cutícula, lo cual podría sustituir parcialmente la dosis de fertilizante química, cuya eficiencia es limitada en muchas cosas por restricciones químicas y físicas del suelo.

El protocolo de propagación, aislamiento, masificación y escalamiento permitiría el uso de biofertilizantes particularmente a pequeña escala mediante fertirriego, en cultivos bajo ambientes protegidos, sin embargo se requiere de su validación por parte de los productores. El alto contenido de conductividad eléctrica sugiere la imposibilidad de su uso en suelos alcalinos o cultivos con alta

sensibilidad a la salinidad, lo cual podría limitar su empleo a gran escala.

REFERENCIAS

Aly, M. and Esawy, M. (2008) Evaluation of *Spirulina platensis* as bio stimulator for organic farming systems. *J. Gen. Eng. Biotechnol* (6): 1–7.

Barreto, A. y Velasco, L. (2014). Aislamiento y cultivo de microalgas bentónicas del caribe colombiano bajo diferentes condiciones de temperatura. *Intropica* 9: 23-32.

Battacharyya D., Zamani Babgohari M., Rathor P. and Prithiviraj B. (2015) Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci Hort* 196: 39–48.

Bharathiraja, B., Chakravarthy, M., Kumar, R. R., Yogendran, D., Yuvaraj, D., Jayamuthunagai, J. and Palani, S. (2015). Aquatic biomass (algae) as a future feed stock for bio-refineries: A review on cultivation, processing and products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47: 634-653.

Burgos-Rada, C.A, Ramírez-Merlano, J.A. y Jiménez-Forero, J.A (2016). Uso de fertilizante comercial en la cinética celular de *Desmodesmus opoliensis* (Chlorophyceae), reporte preliminar. *Orinoquia*, 20(2): 18-25

De Oliveira, J., Mógor, G. e Mógor, Á. (2013). 13937-Produtividade de beterraba em função da aplicação foliar de biofertilizante. *Cadernos de Agroecologia*, 8(2).

Elarroussia, H., Elmernissia, N., Benhimaa, R., El Kadmiria, I. M., Bendaou, N., Smouni, A. and Wahbya, I. (2016). Microalgae polysaccharides a promising plant growth biostimulant. *J. Algal Biomass Utiln*, 7(4): 55-63.

García Orellana, Y., Soto, G., Tafur, V., Simbaña, A., Tello, E., & Brito, J. J. (2016). Efecto de un fertilizante orgánico microalgal en la germinación y crecimiento de plántulas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*, 34, 33-39.

Gilabert De Brito, J., López De Rojas, I. Roberti, R. 1990. Análisis de suelo para diagnóstico de fertilidad. In: Manual de métodos y procedimientos de referencia. FONAIAP-CENIAP. Maracay. Cap.4.1-5.1 Serie. D.Nº 26.

González, L. (2010). Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus* (tesis de maestría). Bogotá: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 65.

- Kirrolia, A., Bishnoi, N. and Singh, R. (2012). Effect of shaking, incubation temperature, salinity and media composition on growth traits of green microalgae *Chlorococcum* sp. *J. Algal Biomass Utln.* 3(3): 46-53.
- Lu L, Wang X, Xu M. Effect of Zinc and composting time on dynamics of different soluble copper in chicken manures. *Agricultural sciences in China.* (2010). 9(6): 861-870.
- Marschner H. (2012) Mineral nutrition of higher plants, 3rd edn. Academic Press, London.
- Mogollón, J. P., Martínez, A., & Torres, D. (2016). Efecto de la aplicación de vermicompost en las propiedades biológicas de un suelo salino-sódico del semiárido venezolano. *Bioagro*, 28(1): 29-38.
- Nayak, M., Thirunavoukkarasu, M. and Mohanty, R. C. (2016). Cultivation of freshwater microalga *Scenedesmus* sp. using a low-cost inorganic fertilizer for enhanced biomass and lipid yield. *The Journal of general and applied microbiology*, 62(1): 7-13.
- Ortiz-Moreno, M. L., Cortés-Castillo, C. E., Sánchez-Villarraga, J., Padilla, J. y Otero-Paternina, A. M. (2012). Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas. *Orinoquia*, 16(1): 11-20.
- Park, J. B. K., Craggs, R. J. and Shilton, A. N. (2011). Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water research*, 45(20): 6637-6649.
- Plaza, B. M., Gómez-Serrano, C., Acién-Fernández, F. G. and Jimenez-Becker, S. (2018). Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth. *Journal of Applied Phycology*, 30(4): 2359-2365.
- Ramos, E. y Terri, E. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del bocashi como Alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos tropicales* 35(4):52-59.
- Raposo, M.F.D.J. and Morais R.M.S.C. (2011). *Chlorella vulgaris* as soil amendment: influence of encapsulation and enrichment with rhizobacteria.
- Rawat I., Ranjith-Kumar R., Mutanda T. and Bux F. (2011). Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88 (10): 3411-3424.
- Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E. and Tava, A. (2019). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, 9(4), 192.

Rubio, D. (2019). Evaluación de carotenoides y lípidos en la microalga *Scenedesmus dimorphus* a escala laboratorio. *Mutis*, 9(1), 20-28.

Tarraf S., Talaat I.M., El-Sayed A.E.K. y Balbaa LK (2015). Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plants in sandy and clay soils. *NusantBiosci* 7(1):33–37.

Tüzel, Y., Varol, N., Öztekin, G. B., Ekinci, K., & Merken, O. (2016). Effects of composts obtained from olive oil production wastes on organic tomato seedling production. In III International Symposium on Organic Greenhouse Horticulture. 217-224.

Uysal O., Uysal, F.O and Ekinci, K. (2015). Evaluation of Microalgae as Microbial Fertilizer. *European Journal of Sustainable Development*, 4(2): 77-82.

Weldeslassie, T., Naz, H., Singh, B., & Oves, M. (2018). Chemical contaminants for soil, air and aquatic ecosystem. In *Modern Age Environmental Problems and their Remediation*. Springer, Cham.1-22.