

Evaluación del potencial de *Chlorella* spp. en la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME-UAN

**XIOMARA BECERRA ALDANA
GIOVANNI SÁNCHEZ ROJAS**

**UNIVERSIDAD DE MANIZALES
FACULTAD DE CIENCIAS CONTABLES, ECONÓMICAS Y
ADMINISTRATIVAS
MAESTRÍA EN DESARROLLO SOSTENIBLE Y MEDIO
AMBIENTE
MANIZALES
2019**

Evaluación del potencial de *Chlorella* spp. en la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME-UAN

Proyecto para optar al título de Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente, del estudiante:

**XIOMARA BECERRA ALDANA
GIOVANNI SÁNCHEZ ROJAS**

**Directora:
GLORIA MARÍA RESTREPO FRANCO Ph.D.
Línea de investigación:
Biosistemas integrados**

**UNIVERSIDAD DE MANIZALES
FACULTAD DE CIENCIAS CONTABLES, ECONÓMICAS Y
ADMINISTRATIVAS
MAESTRÍA EN DESARROLLO SOSTENIBLE Y MEDIO
AMBIENTE
MANIZALES
2019**

Acta de calificación

Evaluación del potencial de *Chlorella* spp. en la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME-UAN

**XIOMARA BECERRA ALDANA
GIOVANNI SÁNCHEZ ROJAS**

**Tesis para optar el título de:
Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente**

Nota de aceptación Jurado:

Jurado

Agradecimientos

A la Universidad de Manizales por brindarnos una educación de calidad, por sus maravillosos docentes y por su preocupación por cambiar el mundo, en especial a la doctora Gloria María Restrepo Franco, quien, en su calidad de directora, nos guió, aconsejó y apoyó en esta investigación, gracias a sus valiosos aportes fue posible este proyecto. A la Universidad Antonio Nariño por su incalculable colaboración en la ejecución de este proyecto, a la doctora Diana Quintero, decana de la facultad de Ingeniería Ambiental y Civil y al Doctor Juan Daniel Valderrama.

A Dios por darme las herramientas para cumplir mis sueños, a mis padres por ser mi fortaleza, a mi amor Saul por ser parte de mi camino, por motivarme constantemente y brindarme su apoyo , a mi compañero Giovanni que es mi amigo, por todas sus enseñanzas.

Xiomara Becerra Aldana

Al que es mi luz y mi esperanza, mi fuerza, al Rey de reyes, a mis padres, por ser sembradores de esperanza, al amor de vida, mi Odi, mi amiga, mi cómplice, mi amada y maestra, a Yohan Esteban y Joseph Daniel, quienes transformaron con su tiempo mi tiempo, a Xiomara, gracias por encontrarme en la escalera y ayudarme a subir

A mis amigos
Giovanni Sánchez

Tabla de contenido

1. Introducción	5
2. Objetivos	7
2.1. Objetivo general	7
2.2. Objetivos específicos	7
3. Referente teórico	8
3.1. Generalidades y antecedentes.....	8
3.1.1. Descripción de la localidad de Usme	11
3.1.2. Historia de explotación agrícola del lote A1 UAN- USME	12
3.1.3. Referentes normativos	12
3.2. Marco teórico.....	14
3.2.1. Recurso edáfico	14
3.2.2. Microalgas	18
3.2.3. Generalidades del cultivo de la zanahoria	23
4. Materiales y métodos.....	24
4.1. Procedencia, mantenimiento y multiplicación del alga <i>Chlorella</i>	24
4.2. Determinación del contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en la microalga	26
4.2.1. Método semi-micro Kjeldahl para la determinación de nitrógeno	26
4.2.2. Determinación de carbono orgánico	28
4.2.3. Método de digestión por persulfato – ácido fosfo vanado molibdico....	30
4.2.4. Identificación de la composición fisicoquímica del suelo empleado.....	31
4.3. Determinación del porcentaje de germinación, y el desarrollo foliar y radicular en zanahoria, con el uso de <i>Chlorella</i>	32
4.3.1. Análisis de los datos.....	35
5. Resultados y discusión	36
5.1. Producción del alga <i>Chlorella</i> sp.....	36
5.2. Determinación del contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en la microalga	40
5.2.1. Identificación de la composición fisicoquímica del suelo agrícola proveniente del lote A1 - UAN.....	41

5.3. Establecimiento del porcentaje de germinación y de la producción de biomasa foliar y radicular en zanahoria, con el uso de la microalga y el suelo empleado como sustrato	44
5.3.1. Desarrollo radicular y foliar en zanahoria	47
6. Conclusiones	52
7. Recomendaciones	53
8. Bibliografía	54
9. Anexos	61

Lista de tablas

Tabla 1. Principales clases de compuestos orgánicos en el suelo.	17
Tabla 2. Clasificación de las formas unicelulares y coloniales.....	19
Tabla 3. Ficha técnica cepa Chlorella spp. a emplear en el estudio.	24
Tabla 4. Mililitros de muestra a adicionar según rango de DBO esperada.	29
Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de la microalga Chlorella sp.	40
Tabla 6 Composición del suelo empleado como sustrato en el experimento.	41

Lista de figuras

Figura 1. Fases del método Kjeldahl.....	22
Figura 2. Montaje de los fotobiorreactores para la producción de Chlorella sp.	26
Figura 3. Montaje para digestión.....	27
Figura 4. Esquema de la distribución de los tratamientos en el diseño DCA.....	35
Figura 5. Producción de biomasa de Chlorella sp., en el fotobiorreactor 1 con dos longitudes de onda de la luz.....	36
Figura 6. Producción de biomasa de Chlorella sp., en el fotobiorreactor 2 en dos longitudes de onda de luz.....	37
Figura 7. Registro de temperatura, en los fotobiorreactores para la producción de biomasa del alga Chlorella sp.	38
Figura 8. Registro de pH en los fotobiorreactores para la producción de biomasa del alga Chlorella sp.....	39
Figura 9. Porcentaje de germinación de las semillas de zanahoria, en los diferentes tratamientos evaluados.	46
Figura 10. Peso fresco total de la zanahoria al momento de la cosecha según tratamiento.	47
Figura 11. Diferencias entre el T0 y T2.	47
Figura 12. Peso radicular de la zanahoria al momento de la cosecha por tratamiento.....	48
Figura 13. Peso foliar de la zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.	48
Figura 14. Altura total de las plantas de zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.....	49
Figura 15. Longitud radicular de las plantas de zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.....	50
Figura 16. Longitud foliar de la zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.....	50

Lista de anexos

Anexo I. Carta cesión de cepa Chlorella sp ATCC 50258.....	61
Anexo II Bitácora de seguimiento de los cultivos en medio líquido (fotobiorreactores microalgares).....	63
Anexo III. Cálculo para aplicación de microalgas en función de nitrógeno.	64
Anexo IV. Resultados del IGAC.	66
Anexo V. Análisis de varianza.	67

Resumen

Las microalgas del género *Chlorella* poseen contenidos de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico, considerables para el aprovechamiento en el manejo integral del suelo. Por lo tanto en el presente estudio, se evaluó el efecto de la microalga en germinación y producción de zanahoria variedad Chantenay en sustrato-suelo del lote A1-Usme-Uan, suelo rural de Bogotá, tipo franco-arcilloso (Entisol), con deficiencias de nitrógeno y carbono orgánico. La multiplicación del alga se efectuó en fotobiorreactores con exposición constante de luz (500nm) hasta lograr una lectura de 0,291 a 670 nm. Se realizó un diseño completo al azar con cuatro tratamientos y cinco réplicas en condiciones de laboratorio; se utilizaron materas con volumen de 2,5 L, ubicando cuatro puntos de siembra de semillas por matera. Se definieron los tratamientos: T0 – testigo; T1 - fertilización química, T2 y T3 con aplicación microalgal en volúmenes de 44 y 88 mL. El porcentaje de germinación del T0 fue de 32%, en el T2 de 73,8% y los tratamientos restantes presentaron germinaciones superiores al 60% (sin diferencias significativas entre ellos). En cuanto a la variable peso total, existieron diferencias significativas de los tratamientos con respecto al testigo, y no se registraron diferencias significativas entre T1 y T2. Para la variable longitud total, el tratamiento T2 presentó diferencias estadísticas significativas, cuya longitud total promedió 48,19 cm, con respecto al T0 que registró 15,87 cm. Los resultados permitieron evidenciar el potencial de las microalgas como bioestimulantes en zanahoria, en un sustrato deficiente en nutrientes.

Palabras clave: microalga, fertilización, bioestimulante.

Abstract

The microalgae of the *Chlorella* genus have nitrogen, phosphorus and organic carbon contents, considerable for the use in the integral management of the soil. Therefore, in the present study, the effect of the microalga on germination and carrot production Chantenay variety on soil-substrate of lot A1-Usme-Uan, rural soil of Bogotá, franc-clayey type (Entisol), with deficiencies was evaluated of nitrogen and organic carbon. The multiplication of the alga was carried out in photobioreactors with constant light exposure (500 nm) until a reading of 0.291 at 670 nm was obtained. A complete random design was performed with four treatments and five replications under laboratory conditions; pots with a volume of 2.5 L were used, placing four points of sowing seeds per tree. The treatments were defined: T0 - control; T1 - chemical fertilization, T2 and T3 with microalgal application in volumes of 44 and 88 mL. The percentage of germination of the T0 was of 32%, in the T2 of 73.8% and the remaining treatments presented germinations superior to 60% (without significant differences between them). Regarding the variable total weight, there were significant differences of treatments with respect to the control, and no significant differences were recorded between T1 and T2. For the variable total length, the treatment T2 presented significant statistical differences, whose total length averaged 48.19 cm, with respect to the T0 that registered 15.87 cm. The results allowed to demonstrate the potential of microalgae as biostimulants in carrots, in a substrate deficient in nutrients.

Keywords: microalga, fertilization, biostimulant.

1. Introducción

El deterioro ambiental presentado en diferentes zonas de Bogotá se asocia principalmente a condiciones antrópicas, dado que las actividades humanas han superado los niveles de resiliencia y carga de los ecosistemas, potencializando problemáticas como la pérdida de productividad del suelo para uso agrícola o el cambio estructural de las condiciones agronómicas del mismo, llevándolo a una situación de erosión principalmente. Lo anterior afecta considerablemente las características del recurso y el nivel de producción de este, interfiriendo con la búsqueda de un desarrollo sustentable regional o local en todas sus dimensiones (ambiental, social, económica).

La localidad de Usme está ubicada al sur de la ciudad de Bogotá D.C; limita al occidente con la localidad de Ciudad Bolívar y el municipio de Pasca; al sur con la localidad de Sumapaz; al norte con las localidades de Tunjuelito, Rafael Uribe Uribe y San Cristóbal y al oriente con los municipios de Ubaque y Chipaque (Alcaldía local de Usme, 2017). La localidad cuenta con aproximadamente 432.724 habitantes. “La superficie total de Usme es de 21.506,7 hectáreas (ha), de las cuales 2.120,7 ha corresponden a suelo urbano, 902,1 se clasifican como suelo de expansión urbana y las restantes 18.483,9 ha constituyen suelo rural. Usme ocupa el segundo lugar entre las localidades con mayor superficie dentro del Distrito Capital después de la localidad de Sumapaz” (Alcaldía de Bogotá, 2017) evidenciando la relevancia del suelo rural en el territorio; la mayor parte de esta tipología se encuentra dentro de las reservas Forestal Protectora Bosque Oriental de Bogotá y Forestal Protectora-Productora Cuenca Alta del Río Bogotá, clasificado dentro de la Estructura Ecológica Principal, por consiguiente los beneficios ambientales de estos ecosistemas son de gran importancia no solo para Usme sino para toda Bogotá.

La vocación agrícola del territorio es primordial, al ser una de las principales fuentes de sustento económico de la localidad. Los cultivos de mayor producción en la localidad son la papa seguida por arveja, habas, cebolla y zanahoria. Según la Alcaldía local de Usme y la Unidad Local de Asistencia Técnica Ambiental (ULATA) en el último estudio realizado en el 2017, se analizaron 61 muestras de suelo agrícola de la zona, determinando que el promedio de fertilidad del recurso tiene un desbalance en la relación del fósforo, carbono y calcio que compromete gravemente los rendimientos de los cultivos. Lo anterior afecta la necesidad de producción para generar ganancias económicas a los agricultores (51,3% se encuentra en estratos bajos), constituyéndose en

una fuerte presión en el uso del suelo especialmente por la sobreactividad agrícola y forestal que fomentan la degradación del recurso.

Las algas del género *Chlorella* son conocidas por su capacidad de contribuir a la fertilidad y estabilidad del recurso edáfico (Barcley & Lewin, 1985), debido a que se les atribuyen propiedades de cohesión y resistencia a la erosión en suelos afectados por el uso continuo del mismo (Malam Issa, Bissonnais, Défare, & Trinchent, 2001). Igualmente se reconocen por el aporte de nutrientes como el nitrógeno, fósforo y carbono que pueden promover el crecimiento radicular y foliar (Gómez L, 2015).

De acuerdo con lo anterior, este proyecto se centró en una investigación que aportara conocimiento en la identificación del potencial de las microalgas como bioestimulante ecológico en el cultivo de la zanahoria, considerando los antecedentes del suelo empleado como sustrato. Lo anterior permitirá aportar en la formulación de una estrategia, para la implementación futura de prácticas para la agricultura sustentable de la zona, con base en el establecimiento de “un sistema de producción que tenga la aptitud de mantener su productividad y ser útil a la sociedad a largo plazo y además preservar el potencial de los recursos naturales productivos” (Zangeneh, Zinatizadeh, Zinadini, Feyzi, & Bahnemann, 2018). Se espera con este tipo de estudios aportar en alternativas que propendan por la disminución en el uso de fertilizantes selectivos, los cuales dejan una “residualidad que ha comprometido el desarrollo futuro de los suelos luego de las cosechas” (Alcaldía local de Usme, 2017).

Contribuir al mejoramiento de las condiciones requeridas para el cultivo de esta localidad, beneficiaría indirectamente a aproximadamente a 437.724 habitantes de los cuales el 51,3% se encuentran en estratos bajos (1 – 3), donde la mayoría tiene como fuente de ingreso las actividades agrícolas (Alcaldía local de Usme, 2017). Con los resultados de la investigación también se espera dinamizar a futuro las tres dimensiones del desarrollo sostenible (social, ambiental y económico), al brindar una alternativa que sea una ventaja en la calidad del cultivo. De esta manera se contribuye a la línea de investigación de Biosistemas Integrados de la Universidad de Manizales, favoreciendo adicionalmente la experiencia investigativa en la formación de dos magister.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Evaluar del potencial de *Chlorella* spp. en la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME-UAN.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en la microalga del género *Chlorella* con el fin de conocer el potencial de su aporte nutricional en el suelo de estudio.
- Estimar el efecto del alga del género *Chlorella* en la germinación de zanahoria.
- Establecer el efecto de la adición de la microalga en la producción de zanahoria en el sustrato empleado.

3. Referente teórico

3.1. Generalidades y antecedentes

Desde la década del setenta se habla sobre la utilización de los complejos microalgares para usos potenciales en biorremediación, producción de alimentos, pigmentos y generación de combustibles como biodiesel, principalmente. Para ello se establecieron dos sistemas de producción, el sistema abierto que depende de factores biológicos, ambientales y de operación y el sistema cerrado donde prevalece el uso de una sola especie (mono específicos) involucrando aislamientos previos; para este último sistema las especies seleccionadas deben cumplir con tres parámetros: buena capacidad para formar agregados, alta tasa de crecimiento y tolerancia a las variaciones estacionales (McGriff & McKinney 1972, Abdel-Raouf et al. 2012). En estos procesos los géneros de microalgas más usados han sido: *Ankistrodesmus*, *Botryococcus*, *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Euglena*, *Golenkinia*, *Micractinium*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Scenedesmus*, *Spirulina* y *Stigeoclonium* (Brenan & Owende, 2010) (Borowitzka & Moheimani, 2013).

La biomasa algal puede tener otras aplicaciones en la elaboración de productos biotecnológicos como medicamentos, cosméticos o biofertilizantes (Brenan & Owende, 2010). Igualmente, las microalgas tienen la propiedad de ser eficientes en la remoción de nitrógeno y fósforo en aguas residuales. El nitrógeno se encuentra como NH_4 (amonio), NO_2 (nitrito) y NO_3 (nitrato) y el fosfato tiende a estar presente como PO_4^{3-} (ortofosfato), los cuales son fundamentales en la formación y crecimiento de especies vegetales (Tam & Y, 1998). En el género *Chlorella*, la eficiencia de remoción del nitrógeno inorgánico es del 86% y en fósforo llega al 70% (Tam & Y, 1998). Otra forma de aprovechar la biomasa algal es su utilización como carbón vegetal, denominado biocarbón o biochar, el cual podría ser un buen biofertilizante; éste es obtenido a través de técnicas de conversión como la pirolisis (Brennan & Owende 2010).

La utilización de las algas como biofertilizantes, se ha estudiado en diferentes lugares del mundo, como en el centro de Biotecnología Marina de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria, donde se realizó el aislamiento y caracterización de microalgas formadoras de tapetes microbianos asociados a un cultivo hidropónico de plantas halófitas (Giraldo, 2011), en el cual se estableció que los tapetes microbianos, formados principalmente por microalgas, generan una matriz de polisacáridos que contribuye a la

fertilización, estabilización y retención de agua en el suelo. Este estudio también permitió establecer que los tapetes microbianos pueden ser empleados como herramienta en el acondicionamiento de suelos y estimuladores del crecimiento en plantas superiores (como las halófitas), en regiones áridas o semiáridas.

Igualmente se ha identificado el favorecimiento en el suministro de elementos como el nitrógeno y el fósforo a través de la aplicación de algas. León (2015) encontró una relación directa en el desarrollo de foliar y radicular de lechuga (*Lactuca sativa*) y la aplicación de la microalga *Chlorella* en suelo estéril. Planteó que el aumento en la producción del cultivo se favoreció por los contenidos de nitrógeno presentes en el sistema algal. Por otro lado, en el Departamento de Botánica de la Universidad Estatal de Bengala Occidental, se ha estudiado el uso de cianobacterias y microalgas como biofertilizante para el suministro alternativo de fósforo en la agricultura hindú, teniendo en cuenta que el fósforo es uno de los principales elementos en fertilización. Se evaluaron algas verdes como *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. y varias especies de cianobacterias (*Aphanothece* sp., *Spirulina* sp., *Arthrospira* sp., *Phormidium* sp.) encontrando que se pueden aplicar a los suelos como fertilizantes de fosfato de liberación lenta y moderada, optimizando el crecimiento de las plantas o cultivos. Este estudio estableció la importancia de la aplicación de biomasa de cianobacterias o algas en la agricultura de la India como biofertilizante de polifosfato orgánico para evitar la toxicidad del fósforo que conduce al fracaso de los cultivos (Ray, Chandan, & Ghosh, 2013).

El efecto en la promoción del crecimiento de las microalgas en ciertos cultivos, también se comprobó en una investigación sobre el efecto de la microalga *Chlorella vulgaris* en lechuga. El estudio se llevó a cabo en un medio de cultivo que contenía la microalga, y en el cual se sembró la lechuga durante 3, 6, 9, 12 y 15 días. Se encontró que el tratamiento con microalgas aumentó significativamente el crecimiento de la plántula con una disminución significativa en el medio de carbohidratos solubles, proteínas solubles y aminoácidos libres totales, en comparación con los del tratamiento control (medio de cultivo esterilizado). La adición de microalgas al medio de cultivo o al suelo aumentó significativamente el peso fresco y seco de las plántulas, así como el contenido de pigmentos. Los mejores tratamientos fueron en los que se utilizaron 2 y 3 gramos de alga seca por kilogramo de suelo (Faheed & Fattah, 2008).

Para determinar los efectos en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus*), Bolaño & Ramirez (2016) establecieron una evaluación en suelo agrícola perteneciente al municipio de Funza (Cundinamarca) por medio de la aplicación de un consorcio de la microalga

Chlorella; por ser el cultivo, una especie de ciclo corto no fue posible establecer diferencias significativas en la producción de raíces atribuida a los aportes de fósforo. Sin embargo, es importante resaltar el desarrollo foliar que tuvo la especie.

Los productos elaborados con base en algas se consideran como bioestimulantes ecológicos, que están siendo estudiados en cultivos de hortalizas y gramíneas principalmente, con muy buenas expectativas en su aplicación para mejorar la sostenibilidad de los cultivos de importancia económica. Desde la perspectiva de bioestimulante se encuentran estudios como el realizado utilizando extractos celulares y biomasa seca del alga verde *Acutodesmus dimorphus*, los cuales se aplicaron como cebadores de semillas, pulverizadores foliares y biofertilizantes, para evaluar la germinación de las semillas, el crecimiento de las plantas y la producción de frutos en las plantas de tomate de Roma. Se obtuvo como resultado una germinación más rápida de la semilla, 2 días antes que el grupo de control, un aumento en la altura de la planta y un mayor número de flores y ramas por planta (Garcia & Sommerfeld, 2016).

El efecto de *Chlorella vulgaris* en cultivos de *Hibiscus esculentus*, se comparó con un biofertilizante a base de estiércol de aves de corral (gallinaza), y un fertilizante químico de relación NPK. Se obtuvo en primer lugar un aumento en el rendimiento del cultivo en cuanto a tiempos de cosecha después de la germinación, siendo de 8 semanas con *Chlorella* y para los otros tratamientos entre 9 y 10 semanas. Aunque el peso de la masa foliar tuvo mejores resultados con la gallinaza, la humedad más alta, la proteína cruda, el contenido crudo del lípido y de la clorofila fueron asociados a las plantas cultivadas en suelo con el inoculante a base de *Chlorella vulgaris* o en las plantas que emanaron de las semillas inoculadas con el alga. Por último, como efecto secundario se obtuvo que el contenido de nitrógeno, carbono orgánico, materia orgánica, potasio, fósforo en la rizosfera del suelo utilizado para el cultivo fue notablemente mejor, aumentando significativamente las características fisicoquímicas del suelo en comparación con el control lo cual fue atribuido a la mayor mineralización lograda por poblaciones más elevadas de microorganismos. El estudio concluyó que *Chlorella vulgaris* enriquece el suelo fijando el nitrógeno atmosférico libremente, la producción de sustancias promotoras del crecimiento y la reducción de plagas, aumentando la población microbiana y la materia orgánica (Kenechukwu Agwa, Chimezie, & Williams, 2017). Características que aportan en la conservación y sostenibilidad del recurso edáfico.

3.1.1. Descripción de la localidad de Usme

La localidad de Usme se encuentra ubicada al sur de Bogotá, “posee una extensión territorial de 21.506 hectáreas que constituye el 13,2 % del área total del Distrito Capital, de las cuales 2.064 responden al casco urbano. Forma parte de la cuenca media y alta del río Tunjuelito en alturas que van desde 2.600 hasta 3.800 msnm. Es considerada la segunda localidad con más área rural y la más extensa después de Sumapaz” (Universidad Nacional , 2008).

“En la Localidad de Usme, las principales actividades productivas están basadas en la extracción minera, producción agrícola y pecuaria del distrito, siendo los principales cultivos la papa y la arveja. En el ámbito pecuario la principal actividad es la ganadería extensiva y de doble propósito. Estas actividades productivas sumadas a las actividades de las zonas urbanas generan presiones sobre uno de los principales recursos hídricos de la localidad, la cuenca del Río Tunjuelo y sobre los relictos de ecosistemas existentes en la zona urbana y zonas aledañas. A pesar de ser la localidad privilegiada en recursos hídricos y contar con instrumentos de gestión ambiental por parte de las autoridades locales, aún presenta falencias para mejorar las condiciones ambientales deseadas por los habitantes de la localidad” (Alcaldía de Bogotá, 2017).

La población presente en esta localidad es muy diversa, en sus inicios Usme fue habitada por comunidades indígenas pertenecientes a la familia chibcha, y los terrenos eran en su mayoría utilizados para la agricultura con canales de riego, y terrazas de cultivo, al igual que para pesca, minería, tejidos, entre otras. En 1911 la situación comenzó a cambiar al parcelar las zonas y darle mayor paso a actividades como la explotación artesanal de materiales de construcción lo cual convirtió esta zona en fuente importante de recursos para la urbanización, lo que implicó una diversificación cultural en la misma zona y en el incremento de los actores como: instituciones educativas, afrocolombianos, indígenas, desplazados, campesinos, actores comunitarios, locales entre otros

Según los censos del Departamento Nacional de Estadísticas- DANE, para el 2005 esta localidad contaba con 294.580 habitantes, teniendo un crecimiento poblacional del 46,6 % desde 1985, sin tener en cuenta que para el 2007 el DANE indicó que esta misma localidad registraba 317.431 habitantes y en los últimos datos reportó 437.724 luego “la densidad de la localidad, en los últimos 20 años ha crecido notablemente pasando de 8,59 a 138,9 habitantes por hectárea, es decir que se ha multiplicado por 16, en

concordancia con el crecimiento de la densidad promedio de Bogotá” (Universidad Nacional , 2008).

3.1.2. Historia de explotación agrícola del lote A1 UAN- USME

La Universidad Antonio Nariño, cuenta con la sede USME, ubicada en el kilómetro 15 N° 16-71 sur, vía Bogotá-Usme, la cual cuenta con 270 hectáreas. Este campus está dividido en áreas entre las cuales se encuentran un colegio de primaria y bachillerato (Colegio de la Universidad Antonio Nariño), y las facultades de Medicina Veterinaria, Ingeniería Ambiental y Enfermería. En la sede existen 20 lotes para ganadería y 10 lotes para agricultura, terrenos que conservan el bosque alto andino y bosques introducidos de eucaliptos y pinos.

El lote A1 de Usme-UAN cuenta con 2 fanegadas (12.800 m²), las cuales se caracterizan por tener pendientes de moderadas a fuertes del 10%. El orden Entisol, predomina en la zona. Los suelos tienden a ser franco arcillosos, subxerofítica y predominan cultivos de papa pastusa, papa criolla, cebolla cabezona, arveja, cilantro, haba y zanahoria siendo este último uno de los más importantes, por lo cual se ha masificado en los últimos tres años (Alcaldía de Bogotá, 2017). Estos terrenos son arrendados por la Universidad a agricultores locales, los cuales cuentan con periodos de aprovechamiento de un año; los productos obtenidos son comercializados en la plaza mayorista de Corabastos-Bogotá. En este lote el uso de herbicidas selectivos ha afectado el desarrollo de pastos para la ganadería.

La Unidad Local de Asistencia Técnica Agropecuaria (ULATA) de Usme, estableció un estudio promedio de fertilidad de suelos a partir de 61 muestras colectadas. Se evidenció un desbalance de Ca y Mg, y niveles bajos de boro cercanos al nivel crítico (0,5 ppm) (Alcaldía local de Usme, 2017).

3.1.3. Referentes normativos

Después de la segunda guerra mundial, la humanidad comprendió el deterioro del medio ambiente por causas antrópicas, es así que el 5 de junio de 1972 las Naciones Unidas declararon a este como el día del medio ambiente en Estocolmo, y se conformó el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Lo anterior promovió en los países subdesarrollados una preocupación y un interés por el medio ambiente. A partir de estos antecedentes en Colombia, a través de la Ley 9 de 1979 se

estableció el marco para la protección del medioambiente y dos años después se instituyó el decreto 2811 de 1974, estableciendo el código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente.

Posteriormente, la Comisión Brundtland declaraba el concepto de desarrollo sostenible reconocido como el “satisfacer las necesidades de las generaciones presentes sin comprometer las posibilidades de las generaciones del futuro para atender sus propias necesidades” (Informe Brundtland, 1987). Este concepto fue incluido en la Constitución Política de Colombia en el artículo 80: “El Estado planificará el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución. Además, deberá prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer las sanciones legales y exigir la reparación de los daños causados. Asimismo, cooperará con otras naciones en la protección de los ecosistemas situados en las zonas fronterizas” (Constitución Política de Colombia, 1991). El estado colombiano no contaba con un Ministerio que se encargara del medio ambiente por ello la Ley 99 de 1993, estableció el SINA (Sistema Nacional Ambiental), las Autoridades Autónomas Regionales (CAR), se creó el Ministerio de Ambiente y se estableció la base de una política para la educación ambiental (Ley N° 99, 1993). La Ley 388 de 1997 y el Plan de Ordenamiento Territorial (POT) en armonía con la Ley 9 de 1979 fomentaron: “El establecimiento de los mecanismos que permitan al municipio, en ejercicio de su autonomía, promover el ordenamiento de su territorio, el uso equitativo y racional del suelo, la preservación y defensa del patrimonio ecológico y cultural localizado en su ámbito territorial y la prevención de desastres en asentamientos de alto riesgo, así como la ejecución de acciones urbanísticas eficientes” (Ley N° 388, 1997) (Ley N° 9, 1979). Estas a su vez serían las bases del POT donde se pretendió organizar el uso racional del suelo.

El desarrollo tecnológico, la expansión urbana, y el crecimiento poblacional han contribuido al deterioro del suelo, por ello en el año 2008 se estableció el Decreto 462 “por el cual se adopta la política para el manejo del suelo de protección en el distrito capital- Proteger para un Mejor Futuro”, como un instrumento de orientación de las intervenciones de la Administración Distrital, a fin de que el Distrito Capital lograra un equilibrio armónico entre el desarrollo de las actividades, las necesidades, las demandas y las dinámicas propias de los suelos urbanos (Decreto N° 462, 2008). Estos antecedentes normativos fortalecen la investigación en los suelos de USME con potencial agrícola y cuyo deterioro

debe detenerse mediante la utilización de buenas prácticas y la utilización de nuevas tecnologías limpias.

3.2. Marco teórico

3.2.1. Recurso edáfico

El recurso edáfico o suelo es la capa más superficial de la corteza terrestre, su importancia radica al ser el recurso que propicia la interacción de los minerales con los organismos y la atmósfera, siendo un aporte físico y nutrimental de una gran variedad de tipos de vida (Saucedo, 2014). El suelo también es reconocido como el resultado de la transformación en el transcurso del tiempo, de un material geológico (roca madre) por la influencia de diversos procesos físicos, químicos y biológicos, que está compuesto por partículas minerales, materia orgánica, agua y aire en proporciones variables (Bolaño & Ramírez, 2016).

Los suelos se originan a través de la combinación de cinco elementos o factores: roca, clima, organismos, relieve y tiempo; éstos son elementos que causan el intercambio de materia y energía y dan paso a procesos físicos, químicos y biológicos responsables de su transformación continua y su variación en morfología y propiedades (Jaramillo, 2002).

3.2.1.1. Fases del suelo

Existen tres fases o estados de la materia en la superficie terrestre, la fase sólida, la líquida y la gaseosa (Saucedo 2014):

- La fase sólida: puede dividirse en partículas minerales y materia orgánica; la cantidad de cada uno de ellos depende de los procesos particulares de cada tipo de suelo y de la conjugación de factores como el clima y el relieve.
- La fase líquida: corresponde al agua y los nutrimentos disueltos en ella; es crucial en la vida de los organismos, especialmente de las plantas, ya que es el medio por el cual se absorben los nutrientes y se efectúan los intercambios y flujos de materia entre las capas del suelo.
- La fase gaseosa: incluye oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno y otros gases provenientes de la atmósfera o de la actividad orgánica. Al igual que la fase líquida

ocupa los espacios vacíos o poros que existen entre las partículas de la fase sólida, la composición de ésta determina el tipo de microorganismos que habitarán el suelo, que se encargan entre otras cosas de la producción del humus fuente de alimento de las plantas.

3.2.1.2. *Componentes elementales del suelo*

Los suelos están compuestos por una matriz de cinco componentes principales: el aire con un 25% y el agua con otro 25% que constituyen el volumen de los poros, sin embargo, la relación aire - agua varía considerablemente con la humedad del suelo. También se tienen las partículas minerales que constituyen los principales componentes estructurales del suelo con un 45% donde se encuentran diferentes elementos subdivididos en micronutrientes y macronutrientes, la composición de los mismos en el suelo varía según la zona, o las diferentes profundidades del mismo; la materia orgánica (5%) la componen residuos de plantas y animales, células microbianas, productos resultantes del metabolismo microbiano comúnmente llamado humus y raíces que dan soporte o son resultado del último ítem, los organismos vivos que ocupan menos del 1 % del suelo, pero que su existencia es fundamental para el desarrollo o aprovechamiento del suelo (Torres Delgado & Tantiana, 2009).

3.2.1.3. *Fertilidad del suelo*

Se entiende por suelo fértil a aquel que proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento de lo que se desea cultivar, por lo general esta condición se evidencia en la productividad, rendimiento y calidad del cultivo. Los principales elementos presentes en el suelo se describen a continuación:

- **Micronutrientes:** Una de las funciones más importantes del recurso edáfico es brindar el soporte de nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas cultivadas. Algunos de nutrientes son primordiales en concentraciones realmente bajas con el fin de promover el funcionamiento de enzimas esenciales en la planta. El boro, cloro, cobre, hierro, manganeso y zinc son considerados micronutrientes debido a que, si se aumenta considerablemente su presencia en el suelo, pueden ser tóxicos. Se determina que los suelos de la localidad de Usme, pueden tener una proporción 30-20-50, es decir 30% de arcilla, 20% de limo y 50% de arena; el color que predomina es pardo, el pH es de 5,5, con concentraciones de cobre (Cu) de 0,63 mg/kg, hierro

(Fe) de 56,5 mg/Kg, manganeso (Mn) de 8,03 mg/Kg, zinc (Zn) de 1,12 mg/Kg y finalmente 1,0 mg/Kg de la concentración de boro (B) es crítica (Cabrera & Vargas, 2009).

- **Macronutrientes:** Son los elementos que se presentan a niveles importantes tanto en tejidos como en los fluidos de las plantas. Los nutrientes más reconocidos en esta clasificación son: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre. Los tres primeros, se obtienen de la atmósfera, sin embargo, los demás, deben ser obtenidos directamente del suelo y su déficit es el que conlleva al uso de fertilizantes (Cabrera & Vargas, 2009). Los macronutrientes más importantes para esta investigación son:
 - **El nitrógeno:** Usualmente el 90% es atribuido a un proceso orgánico, producto de la biodegradación de plantas y animales, que con la colaboración de las bacterias en el suelo puede ser aprovechado. Su importancia radica, en el aporte que realiza para la fertilidad, ya que es un elemento que forma parte de las proteínas vegetales que beneficia la producción de masa, de igual forma tiene propiedades de reserva en las semillas que una vez plantadas brinda la energía necesaria para el crecimiento de la planta (Guerrero, 1998)
 - **El fósforo:** Es un componente importante de las plantas, se requiere su presencia en el suelo de forma inorgánica simple antes de que pueda ser usado por las plantas. Este elemento no puede ser reemplazado por ningún otro nutriente, su función principal radica en ser parte principal del crecimiento y reproducción de la planta, por medio del proceso de fotosíntesis y su colaboración en la creación de células nuevas que transfieren el código genético de la especie (Crops, 2014). En estudio realizado por Ray, Chandan, & Ghosh, (2013), se encontró que los fertilizantes de fosfato mineral representan el 78% de los insumos de fósforo en la agricultura hindú, y que por su alta solubilidad en el agua cuando se agregaba al suelo, solo del 15 al 25% del fósforo aplicado se recuperaba anualmente en el cultivo, y el restante se perdía por temas de escorrentía del suelo o la lixiviación, acumulándose en horizontes edáficos imposibles de alcanzar por las plantas, lo que lo convertía en la mayor contribución a la contaminación del suelo agrícola y el fracaso de las especies de cultivos en algunos casos por déficit del mineral y en otros por

exceso dado a la toxicidad por fósforo. La investigación desarrollada estableció que los suelos requerirán varios años de cultivo continuo sin adiciones de fósforo para reducir efectivamente los niveles muy altos de fósforo en las pruebas de suelo. De allí parte el concepto de valor de "fósforo crítico" para un cultivo específico, el cual es el requisito de fósforo óptimo que proporciona el mayor rendimiento del cultivo. Pero el exceso de fósforo acumulado en el suelo a menudo excede este valor crítico. Esto se traduce en contaminación ambiental y afecta el crecimiento y el rendimiento de los cultivos.

- **Materia orgánica:** Es un factor importante en la productividad de los suelos dadas sus propiedades como fuente de alimento para los microorganismos y su influencia en las condiciones físicas del suelo. La presencia de materia orgánica, depende de las condiciones climáticas del sector y de la disponibilidad del oxígeno, se consideran valores bajos cuando el carbono orgánico es inferior 2,9% y por encima del 8,1% se considera alto para suelos de climas fríos. Para los suelos de la zona de Usme, el carbono orgánico oxidable es de 3,37% considerándose un valor intermedio, el color pardo indica presencia de huminas, pero la inclinación del terreno, el régimen de lluvias, los usos antrópicos favorecen la pérdida de la capa orgánica (Tabla 1) (Cabrera y Vargas, 2009).

Tabla 1. Principales clases de compuestos orgánicos en el suelo.

Tipo de compuesto	Composición	Importancia
Humus	Residuos de la descomposición de las plantas, resistente a la degradación, consta principalmente de C, H y O.	Es el componente orgánico más abundante, mejora las propiedades físicas del suelo, intercambia nutrientes, es depósito de N ₂ fijo.
Grasas, resinas y cera	Lípidos extraíbles por disolventes orgánicos.	Generalmente constituye sólo unas unidades porcentuales de la materia orgánica del suelo, pueden afectar adversamente las propiedades físicas del suelo, al repeler el agua.
Sacáridos	Celulosa, almidones, hemicelulosa, gomas.	Fuente principal de alimento para los microorganismos del suelo. Ayudan a estabilizar los agregados del suelo.
Compuestos orgánicos que contienen nitrógeno	Nitrógeno enlazado al humus, aminoácidos, aminoazúcares, otros compuestos.	Proporcionan nitrógeno para la fertilidad del suelo.
Compuestos de fósforo	Ésteres de fosfato, fosfatos de inositol (ácido fítico), fosfolípidos.	Fuentes del fosfato de las plantas.

Fuente: Manahan, (2007).

3.2.1.4. Prácticas actuales usadas en el suelo de la localidad de Usme

En los suelos de vocación agrícola de la zona, se evidencia una degradación progresiva, dado el arrendamiento de las tierras que obliga a los agricultores arrendatarios a incurrir en prácticas no benéficas con el fin de agilizar la producción para tener mayor eficiencia. Se utiliza la aplicación de fertilizantes combinados tipo triple 10-30-10 (N.P.K) para el favorecimiento de los cultivos de papa y papa criolla. Para hortalizas se utilizan fertilizantes 15-15-15 (N.P.K). Muy pocos agricultores utilizan enmiendas de tipo orgánico como la utilización de gallinazas, porquinazas o compost (Alcaldía de Bogotá, 2017). El principal agroquímico utilizado en la mayoría de las fincas de más extensión de la zona es el Agroplus. Este es un estimulante vegetal, que permite aprovechar más los nutrientes y el agua disponible, contribuyendo en obtener una mejor producción y de mejor calidad; sin embargo, este producto por su precio solo es útil para agricultores con capacidad de adquisición. En contraste en los pequeños lotes se evidencia el uso de productos químicos como Pirestar®, Furadan®, Fitoraz®, Ridomil®, Energreen plus® y Gramoxone® que tienen un alto riesgo para el medio ambiente por su alto nivel de toxicidad (Bonilla & Sosa, 2017). Adicionalmente, los suelos de la zona son mecanizados, evidenciando capas compactas a 40 cm de profundidad (Alcaldía de Bogotá, 2017).

La rotación de cultivos está directamente relacionada con el aspecto económico, ya que los productos cada vez se comercializan por los mayoristas a precios más bajos, lo cual trae como consecuencia una deficiencia para cubrir los gastos mínimos de la producción. De acuerdo con lo anterior, en este contexto se ha modificado el tipo de productos que se siembran. Según estudio realizado por Pérez, Enrique, & Villamil Ruiz, (2017) hoy en día se han reducido los cultivos de papa, alverja y cebolla, que se consideraban predominantes; actualmente la siembra se diversificó a cultivos como papa criolla (*Solanum phureja*), zanahoria (*Daucus carota* subsp. *sativus*), fresa (*Fragaria*), habas (*Vicia faba*) y cilantro (*Coriandrum sativum*). Respecto al área de cultivo, cada vez se acentúa la tendencia al “loteo” y arriendo a pobladores de otras regiones

3.2.2. Microalgas

Las microalgas son un conjunto de microorganismos en su mayoría fotosintéticos, unicelulares, filamentosos que forman cadenas, colonias o cenobios como células independientes (Williams & Laurens, 2010); están presentes en agua salada, dulce o en el suelo, se consideran responsables del material orgánico que se encuentra en el

ecosistema acuático, así como del 40% de la fotosíntesis total del planeta (Ramos, 2014). Por lo general, las especies de algas son clasificadas en 10 divisiones, entre las que se incluyen las algas verdes, rojas y las diatomeas (Brenan & Owende, 2010).

Las algas son reconocidas por su capacidad adaptativa, la cual está relacionada con la resistencia al hundimiento y la habilidad para absorber rápidamente los nutrientes cuando éstos se encuentran disponibles o para acumularlos intracelularmente cuando escasean (Barcley & Lewin, 1985).

3.2.2.1. Clasificación y caracterización de las microalgas

De acuerdo con el sistema de clasificación propuesto por Parra & Bicudo (1996) la división Chlorophyta está representada por 15 órdenes, los cuales están agrupados de acuerdo con sus características morfológicas en: (i) formas unicelulares y coloniales, (ii) formas filamentosas unicelulares y (iii) formas multinucleadas.

En la tabla 2 se presenta el sistema de clasificación para las formas unicelulares y coloniales a las cuales pertenecen los órdenes Chlorococcales y Volvocales (Parra & Bicudo, 1996).

Tabla 2. Clasificación de las formas unicelulares y coloniales.

División	Chlorophyta	Chlorophyta	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae	Chlorophyceae	Chlorophyceae
Orden	Chlorococcales	Chlorococcales	Volvocales
Familia	Oocystaceae	Oocystaceae	Chlamydomonadacea
Género	<i>Chlorella</i>	<i>Monoraphidium</i>	<i>Chlamydomonas</i>

Fuente: Parra & Bicudo (1996).

3.2.2.2. Características morfológicas de las microalgas

Cada familia de microalgas tiene una descripción detallada de sus características morfológicas, las cuales se relacionan a continuación:

- Familia Oocystaceae: Presentan células de morfología variada; pueden ser esféricas, elipsoidales, fusiformes, aciculares y ovoides, principalmente. Las células están conformadas por un cloroplasto único y parietal, el cual ocupa alrededor de las 2/3 partes de la periferia celular, y por último están conformadas por un paranoide que son células aisladas que permanecen unidas solo por la gelatinización de la pared celular materna. La reproducción es asexual formando 2 a 16 autosporas que son liberadas mediante la ruptura de la pared celular materna (Ahmad, 2011). El género *Chlorella* contiene alrededor de 33 especies, cuyo tamaño varía de 2 a 12 µm de forma esférica

o elipsoidal, el género *Monoraphidium* está representado por alrededor de 78 especies de forma elipsoidal.

- Familia Chlamydomonadacea: Algas unicelulares generalmente biflageladas, esféricas u ovoides. Presenta flagelos isomórficos con dos células contráctiles en la base, un solo cloroplasto en forma de copa que en la parte basal contiene un pirenoide y en la parte apical un estigma. Presentan un estado palmeloide, que se produce cuando entra en la fase inmóvil de su ciclo. Están descritas 369 especies en el género *Chlamydomonas*, que tienen una fase de reproducción por división celular longitudinal, como también reproducción sexual bajo ciertas condiciones ambientales (Cáceres, 2009).

3.2.2.3. Características de crecimiento microalgal

La curva de crecimiento celular se desarrolla en cinco fases, las cuales se definen de acuerdo con el número de células presentes en un tiempo determinado y por las condiciones generales del cultivo: (i) fase de adaptación (las microalgas se acoplan a las condiciones de cultivo); (ii) fase exponencial (la división celular se incrementa en función del tiempo, debido a la asimilación de nutrientes desde el medio y a su activo proceso de reproducción); (iii) fase de retardo (la tasa de crecimiento se reduce y el tiempo para duplicar la población aumenta); (iv) fase estacionaria (el factor limitante y la tasa de crecimiento están equilibrados, las densidades celulares se mantienen relativamente constantes) y (v) fase de declinación (la tasa de crecimiento es superada por la tasa de mortalidad de la población) (Ortiz, Cortés, Sánchez, Padilla, & Otero, 2012).

Las microalgas requieren de diferentes factores para su crecimiento, dentro de éstos se encuentran requerimientos fisicoquímicos y nutritivos. Entre los primeros, se destacan la luz, temperatura, salinidad, pH y CO₂. El crecimiento microalgal se rige por la ley del mínimo, es decir, el factor limitante del crecimiento es aquel que está presente en cantidades más próximas al mínimo crítico necesario (Prieto, Mogollon, Castro, & Sierra, 2005).

- Iluminación: Las algas requieren para su desarrollo condiciones autótrofas y procesos fotosintéticos para estabilizar la materia orgánica, fijar CO₂ y O₂. La longitud de onda necesaria está en un intervalo comprendido de 300 a 700 nm, región conocida como

radiación fotosintéticamente activa (Coppens , y otros, 2015). De acuerdo con lo anterior, los procesos en el laboratorio se deben realizar con luz blanca permanente

- Temperatura: Las algas crecen en un rango de temperatura entre 10 y 35°C, siendo la temperatura óptima entre 16 y 24°C. En algunas especies se considera su desarrollo en un rango máximo de temperatura de 35°C (Carranza, 2006).
- Aireación: Es un parámetro fundamental, tanto para lo oxigenación como para la homogenización de los nutrientes en el medio de cultivo, adicionalmente, evita la sedimentación de las algas. Sin embargo, la agitación excesiva genera un ambiente de estrés, disminuyendo la tasa de crecimiento (Carranza, 2006).

3.2.2.4. *Función de la microalga en el suelo*

Las microalgas, como miembros de la comunidad microbiana del suelo, son conocidas por la capacidad de contribuir a la fertilidad y estabilidad del mismo a través de la promoción de la fijación de nitrógeno y la secreción de polímeros extracelulares los cuales ayudan a mantener las células adheridas a las capas superiores del suelo formando una malla que proporciona cohesión, resistencia a la erosión e incrementa la capacidad de retención del suelo (Barcley & Lewin, 1985).

Las microalgas también son empleadas para la eliminación de sustancias tóxicas como pesticidas, herbicidas y metales pesados principalmente, lo cual se debe a su resistencia y capacidad de acumular altas concentraciones de compuestos tóxicos. Este proceso se basa en la biorremediación, en el cual, a través de tecnologías innovadoras, se dirige el tratamiento de contaminantes tóxicos por medio de sistemas biológicos. Las microalgas tienen gran capacidad de absorber compuestos inorgánicos provenientes de las aguas residuales y tienen la capacidad de fijación de dióxido de carbono con la ayuda de la luz solar. En este sentido se han realizado una serie de investigaciones que demuestran la alta tolerancia de las algas a diferentes condiciones ambientales que benefician su crecimiento (Jimeno, Mercado, Ballesteros, Yépez, & Vega, 2017).

3.2.2.5. *Determinación de nitrógeno, carbono orgánico y fósforo en la biomasa de la microalga*

Con el fin de determinar las características fisiológicas que proveen las microalgas al suelo, es de vital importancia determinar en ésta, los nutrientes que contribuyen al

suelo y a la promoción del crecimiento del sistema radicular y foliar. El *Standard Methods* (2017), relaciona los métodos más importantes para tal fin, y los cuales se resaltan a continuación:

El método semi-micro Kjeldahl permite la determinación de nitrógeno, y se fundamenta en utilizar ácido como oxidante y óxido de mercurio como catalizador para convertir mediante digestión, el nitrógeno orgánico en bisulfato de amonio. Una vez se completa la digestión, se determina el nitrógeno por destilación, proceso que requiere neutralizar primero el exceso de ácido utilizando una solución de hidróxido de sodio. Luego el amoniaco es liberado como un gas junto con el vapor producido al e bullir la muestra, el amoniaco es absorbido en ácido bórico y por titulación con ácido sulfúrico se obtiene la cantidad de nitrógeno (Figura 1).

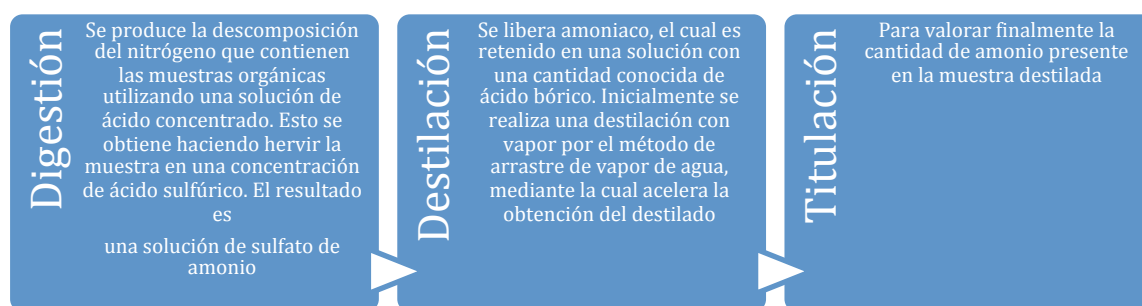


Figura 1. Fases del método Kjeldahl.
Fuente: EPA (1993).

Para encontrar el carbono orgánico de la especie se puede hacer mediante la determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la Demanda Bioquímica del Oxígeno (DBO). La DQO define la cantidad de un oxidante específico que reacciona con una muestra bajo condiciones controladas; la técnica se realiza por método colorimétrico de dicromato a reflujo cerrado, el cual busca la oxidación de la materia orgánica por medio de un oxidante fuerte como el dicromato, el cual permite que el cromo Cr^{+6} de color naranja presente en la solución de análisis, se reduzca a Cr^{+3} de color verde. La reducción del cromo depende directamente de su reacción con la materia orgánica total existente en la muestra (Standard Methods, 2017).

Por otro lado, la determinación de la DBO es un parámetro que mide la cantidad de oxígeno que los microorganismos consumen durante la degradación del material orgánico contenido en una muestra líquida, ésta se mide en miligramos por litro (mg/L). Al

valorar este parámetro, se puede intrínsecamente estimar la cantidad de carbono orgánico contenido en la solución.

La determinación del fósforo total de la muestra se realiza a través del método de digestión por persulfato – ácido fosfo vanado molibdico. Determinar este elemento en las microalgas es de gran importancia, dado que el fósforo influye directamente en los procesos productivos de biomasa vegetal en cualquier ecosistema, ya que tiene la habilidad de formar varios compuestos como minerales y vitaminas, además de cambiar de forma en determinadas condiciones (líquida, sólida) (EPA, 1993).

3.2.3. Generalidades del cultivo de la zanahoria

El cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.) requiere de suelos profundos y sueltos, con una profundidad efectiva mayor a 80 cm. Los suelos deben tener un contenido de materia orgánica superior al 3,5 % y una pendiente inferior al 15 %. Por lo tanto, necesita un tipo de suelo arcilloso arenoso, franco, ligero y aireado, bien drenado. Finalmente, los valores de pH pueden oscilar entre 5,8 y 7,0 (Carranza, 2006). El cultivo se adapta a los tres climas (frío, templado y caliente), requiriendo como mínimo entre 400 y 800 mm al año (Suarez, 2017).

3.2.3.1. Requerimientos nutricionales del suelo para el cultivo de zanahoria

Los requerimientos edáficos óptimos para maximizar rendimientos en cultivos hortícolas como la zanahoria en clima frío corresponden a suelos con pH que oscilen entre 6,0 y 6,5, en elementos mayores nitrógeno (N), fosforo (P_2O_5) y potasio (K_2O) requiere de 192, 55 y 238 kg/Ha respectivamente y para los elementos menores calcio (Ca) y magnesio (Mg) 166 y 15 kg/Ha. Esta especie es susceptible a la salinidad, requiere buen drenaje, las enmiendas orgánicas ayudan mejorar la producción de raíces, los suelos pedregosos tienden a deformar las raíces generando los denominados dedos (Guerrero, 1998).

4. Materiales y métodos

4.1. Procedencia, mantenimiento y multiplicación del alga *Chlorella*

La cepa microalgal *Chlorella* fue facilitada por el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Antonio Nariño por medio de un acuerdo de cesión de la especie (Anexo I). Las características de la cepa se relacionan en la Tabla 3.

Tabla 3. Ficha técnica cepa *Chlorella* spp. a emplear en el estudio.

Cepa:	<i>Chlorella</i> ssp. (ATCC® 50258™)
Referencia:	ATCC® Number: 50258™
Organismo:	<i>Chlorella</i> spp.
Depositor:	J Van Etten
Biosafety level:	1
Product format:	Frozen

Con el fin de garantizar condiciones favorables para la microalga, las pruebas de laboratorio se realizaron en la institución que realizó la cesión de la cepa, disminuyendo el riesgo de pérdida o de muerte de ésta, por mala manipulación o transporte. Lo anterior permitió mantener la cepa en el medio inicial de preservación, hasta que fue requerida para el proceso de propagación, conservando parámetros de temperatura (entre 29 y 30 °C), iluminación (para procesos fotosintéticos) y aireación (requerida tanto para la oxigenación como la homogenización de nutrientes de la cepa).

La siembra y propagación de la especie se ejecutó con el fin de obtener la cantidad necesaria para el ensayo en zanahoria y para las pruebas de laboratorio. La propagación de la cepa se llevó a cabo en tres fases. Inicialmente se realizó la preparación del medio de cultivo conocido técnicamente en la Universidad Antonio Nariño (2015) como MEDIO N, a partir de una dilución en 1.000 mililitros (mL) de agua destilada, de 4 mL de orina humana (previamente esterilizada en autoclave), y de 15 g de agar-agar. Una vez preparada la dilución, ésta se llevó a incubar. Posteriormente el medio esterilizado se dejó atemperar hasta 20°C y se trasladaron 50 mL a un tubo Falcón para agregar el antibiótico cloranfenicol (CM) en relación 1:1 (por cada 50 mL del medio se utilizaron 50 microlitros del antibiótico, el cual estaba refrigerado a 4°C); lo anterior se realizó con el fin de controlar otro tipo de microorganismos contaminantes como bacterias. Después de este proceso, en una cámara de flujo laminar, desinfectada con luz ultravioleta y con mechero encendido, se procedió a verter 25 mL del medio en cajas de

Petri. Lo anterior permitió pasar a la segunda fase que tuvo como meta la siembra de la *Chlorella*. Para lo cual se tomaron de la caja madre (cepa cedida) tres colonias de la microalga con ayuda de una asa estéril previamente esterilizada en el mechero, y se realizó la siembra en un extremo de la caja de Petri que contenía el MEDIO N (Figura 1), y con un rastrillo de vidrio desinfectado con alcohol al 70% y flameado en el mechero, se realizó la distribución en toda la superficie del medio.

En la última fase, las cajas de Petri inoculadas se llevaron al gabinete de incubación de 5 a 7 días, con fotoperiodos de 12 horas al día suministrados a través de una lámpara de luz blanca, y una temperatura de 22°C. Pasado el periodo de incubación se procedió a la multiplicación de la microalga; primero se trasladó el inóculo de las cajas de Petri a Erlenmeyer de 500 mL en el cual se preparó en mayor proporción el MEDIO N (dilución en 498 mL de agua destilada, 2 mL de orina autoclavada, 500 microlitros de antibiótico para inhibir el crecimiento de bacterias), una vez listo se inoculó la cepa previamente incubada en las cajas de Petri usando la misma metodología con el asa estéril y se llevó a incubación 5 días más hasta que tomó el color representativo.

Sin embargo, por el requerimiento en la cantidad de biomasa de la cepa y como la especie *Chlorella* spp. es fotoautótrofa, fue necesario construir dos fotobiorreactores (fotobiorreactor 1 y 2) con presencia de luz (aproximadamente 500 nm) (Figura 2); por lo anterior el sistema estuvo alimentado con energía lumínica utilizando luces LED. Con el fin de mantener el parámetro de temperatura estable se realizó medición de ésta cada dos días por medio de un termómetro digital con sonda termocupla tipo K esterilizado. Como fuente de carbono inorgánico se utilizaron 160 mL de orina esterilizada, obtenida del Laboratorio de Aguas de Ingeniería Ambiental. Adicionalmente se controló el pH cada dos días, por medio de la toma de una muestra de cada fotobiorreactor usando una válvula y una pipeta volumétrica previamente esterilizada para extraer parte de la biomasa a un Baker de 5 mL, luego se procedió a la lectura por medio de pH metro universal HI 422x-02 y se registraron los valores en la bitácora de campo. El sistema estuvo aireado, para brindar oxígeno a las algas, así como para homogeneizar los nutrientes, para este propósito se utilizaron dos bombas de aireación NS-750 y se utilizaron filtros Millipore® de 0,45 micras en las bombas para disminuir el riesgo de entrada de esporas y contaminación de los fotobiorreactores.



Figura 2. Montaje de los fotobiorreactores para la producción de *Chlorella* sp.

Por último, se estimó la absorbancia para determinar el crecimiento de la biomasa algal en cada fotobiorreactor; para lo cual se utilizó un espectrofotómetro UV-visible BioMate3 en longitudes de onda de 650 nm y 670 nm, utilizando como solución blanco, agua destilada y utilizando una celda diferente para la muestra de cada fotobiorreactor. Es importante aclarar que antes de realizar la medición, el equipo se ajustó nuevamente con el blanco para la toma de las lecturas.

Para el seguimiento diario de los comportamientos en el crecimiento del material algal se estableció el formato de bitácora (Anexo II), que permitió una evaluación dual cotejando los valores de registro de manera simultánea de los dos fotobiorreactores.

4.2. Determinación del contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en la microalga

Los análisis relacionados con la determinación del contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico presentes en el alga se realizaron en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Antonio Nariño, sede Circunvalar, con base en los protocolos establecidos en el mismo.

4.2.1. Método semi-micro Kjeldahl para la determinación de nitrógeno

Para la medición de nitrógeno en la muestra se usó el método semi – micro Kjeldahl estandarizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Antonio Nariño. Este método constó de tres etapas básicas: digestión, destilación y titulación.

En la realización del método se agregaron 50 mL de la muestra en un tubo de digestión, luego se adicionaron 7g de sulfato de potasio (K_2SO_4), 350 mg de óxido de mercurio (HgO) y 10 mL de ácido tetraoxosulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Posteriormente se adicionó una perla de ebullición para evitar la explosión violenta, luego se procedió a realizar la digestión con el *primer set* a 60 minutos y 200°C y el segundo a 120 minutos a 370°C (Standard Methods, 2017).

Se usó un montaje diseñado por la Universidad Antonio Nariño el cual consta de un tanque de agua (1) que permita el recirculado de ésta por medio de una bomba, una aspiradora de gases (2), el *scrubber* (3) y el digestor DK 6 (4) (Figura 3). La aspiradora contenía agua hasta la marca indicadora. El *scrubber* constó de dos frascos, se adicionó agua al de la izquierda y el otro se dejó desocupado.



Figura 3. Montaje para digestión.
Fuente: Universidad Antonio Nariño, (2015).

Se procedió a dejar enfriar hasta 50 o 60°C. Una vez alcanzada la temperatura se usó un destilador programado por arrastre de vapor UDK132, se midió el pH del ácido bórico al 4% y se registró el resultado. Se recogió el destilado en 25 mL de ácido bórico al 4% y se inició la titulación hasta llegar al pH del ácido bórico con H_2SO_4 a 0,01 molar.

Para calcular el nitrógeno total (N) se usó la ecuación 1:

$$\text{mg (N/L)} = \frac{\text{ml (A - B)} \times N \times 14,000 \times F}{\text{ml de muestra}} \text{ Ecuación 1}$$

Donde:

- A= Volumen de H_2SO_4 gastado en la titulación de la muestra (mL)
- B= Volumen de H_2SO_4 gastado en la titulación de la muestra (mL)
- N = Normalidad
- F= Factor de dilución

4.2.2. Determinación de carbono orgánico

El carbono orgánico se evaluó por medio de la estimación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la Demanda Bioquímica del Oxígeno (DBO). Inicialmente se seleccionaron los viales que serían utilizados en el análisis, se agregaron 2 mL de la muestra a evaluar en el vial, con una inclinación de 45°. Se adicionaron 2 mL de agua destilada a uno de los viales con el fin de emplearlo como blanco, luego se giraron de arriba a abajo los viales para homogenizar las muestras (teniendo en cuenta que los mismos presentaron un aumento de la temperatura), se colocaron los viales en digestión en el termo reactor por 120 minutos a 150°C, cuando finalizó el tiempo de reacción se retiraron los viales con mucho cuidado y se giraron dos veces de arriba a abajo. Los viales se ubicaron en la rejilla hasta que llegaron a temperatura ambiente, para posteriormente colocar el adaptador de viales de DQO en el fotómetro y se comenzó la lectura colocando como cero el vial del blanco. Para el proceso de verificación, se usó el patrón de ftalato de potasio (pesando 0,425 g de biftalato de potasio previamente seco a 110°C y diluido con 500 mL de agua destilada, este debe ser preparado semanalmente).

Por otro lado, se realizó la determinación de la Demanda Bioquímica del Oxígeno (DBO), en este análisis se debió tener en cuenta el proceso de descomposición de la materia orgánica y el fomento de los microorganismos, por lo cual la prueba se realizó en forma estándar durante cinco días consecutivos (conocido como DBO₅) manteniendo la muestra a 20°C. Se realizó la medición del oxígeno disuelto al inicio y al final del periodo de incubación; la DBO₅ se determinó por la diferencia entre estos dos datos.

Se tomó una muestra que contenía las microalgas a la cual se llamó inóculo, ésta se filtró con papel de fibra de vidrio y papel a 0,45 micras, la muestra se dejó aclimatar hasta 20°C, usando botellas Winkler previamente purgadas con agua destilada, y se llenaron parcialmente con agua de dilución aireada teniendo en cuenta primero que una fue para el blanco (agua de dilución aireada) y tres réplicas para cada muestra con el inóculo. Lo anterior según el volumen de la muestra requerida con relación al rango de la DBO esperada (Tabla 4).

Tabla 4. Mililitros de muestra a adicionar según rango de DBO esperada.

Mililitros de la muestra	Rango DBO esperada
1	600 - 1.650
2	300 - 825
5	120 - 420
10	60 - 165
20	30 - 82
50	12 - 33
100	6 - 16,5
150	4 - 11
200	3/7
300	2 - 5,5

Fuente: Universidad Antonio Nariño (2015).

Se adicionaron 200 mL de la muestra, y posteriormente los nutrientes directamente a la botella, luego cada botella Winkler se terminó de llenar con agua destilada aireada, y se usó entre 1 a 3 mL del inóculo y se agitó.

Con el uso del oxímetro se midió el oxígeno disuelto inicial de cada una de las botellas, se procedió a tapar herméticamente con sello de agua sin dejar burbujas de aire en cada botella, se mezcló manualmente la botella y se procedió a incubar durante 5 días a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Pasado el tiempo estimado, se midió el oxígeno disuelto final con el oxímetro, eliminando primero el sello de agua. Finalmente, se usó la ecuación 2 para obtener el valor de DBO_5 .

$$\text{DBO}_5, (\text{mg/L}) = \frac{(D1 - D2) - (B1 - B2)}{V_{\text{muestra}}} \times V_{\text{botella}} \times f$$

Ecuación 2

Donde:

D_1 = Oxígeno disuelto inicial (mg/L)

D_2 = Oxígeno disuelto final (mg/L)

V_{muestra} = Volumen de muestra adicionado

V_{botella} = Volumen de la botella Winkler

f = Factor de dilución (Volumen final/Volumen inicial) aplica si se realizó dilución adicional, de lo contrario poner 1

B_1 = Oxígeno disuelto del control de inóculo antes de la incubación (mg/L)

B_2 = Oxígeno disuelto del control del inóculo después de la incubación (mg/L)

El procedimiento fue guiado y realizado bajo los lineamientos de la guía de laboratorio de ingeniera ambiental de la Facultad de Ingeniería Ambiental sede – Circunvalar.

4.2.3. Método de digestión por persulfato – ácido fosfo vanado molibdico

La determinación de fósforo total incluyó dos pasos; el primero consistió en transformar a ortofosfato disuelto todas las diferentes formas de fósforo presentes en la muestra, proceso que se realizó usando una digestión con persulfato en condiciones ácidas y el segundo paso es la detección colorimétrica del ortofosfato para ello se usó vanadio que forma un complejo amarillo de ácido fosfovanado molibdico, cuya propiedad es teñir la muestra en proporción a la cantidad de fósforo que se encuentre presente, lo que permitió usar el método colorimétrico a una longitud de onda entre 400 y 470 nm.

Para el procedimiento se debió tener en cuenta el uso de dos reactivos para el desarrollo del color, los cuales se prepararon bajo los lineamientos de la guía de laboratorio de la Universidad Antonio Nariño (2015):

- Solución A: Se disolvieron 25 g de molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) en 300 mL de agua destilada.
- Solución B: Se disolvieron 1,25 g de metavanadato de amonio (NH_4VO_3) por calentamiento hasta ebullición en 300 mL de agua destilada, se dejó enfriar y se agregaron 330 mL de cloruro de hidrógeno (HCl) concentrado en baño de agua. Luego se dejó enfriar a temperatura ambiente, se agregó la solución A, y se procedió a mezclar y diluir a un litro.

Una vez se tuvieron los reactivos listos se procedió a aplicar el método el cual constó de dos partes. La primera fue la digestión con persulfato, en esta fase se debió tener en cuenta que siempre se empleó en todo el proceso un patrón de 2 mg/L para la celda de 1 cm, luego se tomaron 100 mL de la muestra en balón aforado, se le adicionó 1 mL de la solución ácida (300 mL de ácido sulfúrico concentrado adicionado a aproximadamente 600 mL de agua destilada a temperatura ambiente y llevada a completar un litro) y 0,4 g de persulfato de amonio. Posteriormente se procedió a colocar los recipientes en la plancha de calentamiento precalentada a una temperatura de 280°C

hasta que la muestra llegó a un volumen final de 10 mL, se dejó enfriar y se filtró en papel cualitativo, agregándole 20 mL de agua destilada, luego se le adicionó una gota de solución indicadora de fenolftaleína y se neutralizó con hidróxido de sodio (NaOH) 1N, hasta un color rosado suave, seguido de un proceso de disolución de la muestra en condiciones ácidas neutralizando con 1 mL de HCl 1 +1 (se verificó la neutralización con solución indicadora de fenolftaleína hasta que desapareció el color rosado).

La segunda parte correspondió a la determinación colorimétrica, en la cual fue llevada la muestra a 100 mL, se tomaron 35 mL de esta en un balón volumétrico de 50mL, para adicionarle 10 mL del reactivo vanadio-molibdato y se aforó a 50 mL con agua destilada, después de 10 minutos se realizó una lectura en el espectrofotómetro (barrido espectrofotométrico de absorbancia con la celda de 1cm a 400, 420 y 470 nm).

Para la curva de calibración se disolvió 219,5 mg de fosfato monoácido de potasio anhidro (KH_2PO_4) en agua destilada y se diluyó a 1 litro. En esta condición 1 mL es equivalente a 50 microgramos de fósforo (P), lo que es igual a 50 ppm-P para la curva.

Se calculó el fósforo teniendo en cuenta las curvas de calibración y la ecuación 3.

$$\text{mg/L} - \text{P} = \frac{(\text{Absorbancia muestra} - b)}{y} \times F \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

b = Intercepto curva de calibración

y = Pendiente de la curva de calibración

F = Factor de dilución

4.2.4. Identificación de la composición fisicoquímica del suelo empleado

Se caracterizó fisicoquímicamente el suelo de estudio identificado como lote A1 de la Zona Usme-UAN Bogotá, con el fin de medir parámetros que permitieran identificar el estado de éste. Para lo cual se tomaron tres muestras del suelo ubicado en el lote, de manera aleatoria combinada, periférica, sesgada, en “V”, predominando el centro de la muestra. Se utilizó una pala, a 20 cm de profundidad, se unificaron las submuestras en una muestra general de 1 Kg. Se adicionaron varios terrones para determinar la densidad por el método del terrón parafinado según protocolo ISO 4113:3 (1997).

En el Instituto Geográfico Agustín Codazzi-IGAC, se solicitó el servicio de caracterización reconocido con el código Q-04, en el cual se evaluaron las siguientes características:

- Granulometría
- Determinación de la clase textural
- pH
- Acidez intercambiable
- Carbono total
- Capacidad de intercambio catiónico -CIC
- Complejo de cambio, Ca, Mg, K, Na y B.T. y % SB
- Elementos menores, Mn, Fe, Zn, Cu, B
- Nitrógeno total
- Fósforo disponible

4.3. Determinación del porcentaje de germinación, y el desarrollo foliar y radicular en zanahoria, con el uso de *Chlorella*

Para la determinación del porcentaje de germinación y desarrollo foliar y radicular en zanahoria, se estableció un diseño completamente al azar (DCA) en un arreglo factorial 4x5, bajo condiciones controladas de laboratorio en donde:

- T₀= Tratamiento testigo (corresponde a la relación de especie-planta) sin adiciones de enmiendas.
- T₁= Tratamiento con fertilización química (se estableció de acuerdo con los resultados del análisis de suelos y los requerimientos de la especie).
- T₂= Tratamiento con la microalga *Chlorella* (volumen del alga aplicado por materia y definido de acuerdo con la composición físico química del suelo empleado como sustrato, distribuido en tres aplicaciones por semana, durante 120 días).
- T₃= Tratamiento con doble dosis de la microalga *Chlorella* (doble del volumen del alga aplicado por materia, con base en el tratamiento 2 y distribuido en tres aplicaciones por semana, durante 120 días).

Con el fin de establecer el volumen requerido de la suspensión algal, a aplicar en los tratamientos T2 y T3, lo primero que se efectuó fue determinar el volumen por hectárea (Ha) requerido, teniendo en cuenta el área por hectárea y la profundidad como se describe en el anexo III, aplicando la ecuación 4.

$$VHa = \text{Área Ha} \times \text{Profundidad} \quad \text{Ecuación 4}$$

Posteriormente dada información obtenida en el contenido de nitrógeno, fósforo, potasio y carbono orgánico de la biomasa algal, así como de la información de las características del suelo empleado como sustrato en el experimento, se inició la determinación de la cantidad de nitrógeno que se requeriría agregar al sustrato por medio de la microalga, iniciando con la aplicación de la ecuación 5 para encontrar la deficiencia de Nitrógeno en el suelo.

$$Nr - Ns = Nd \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

Nr = Nitrógeno requerido por el tipo de suelo

Ns= Nitrógeno encontrado en el análisis de suelo

Nd= Deficiencia de Nitrógeno

Teniendo el dato anterior, se procedió a identificar el aporte que se requeriría por hectárea según el nitrógeno encontrado en la solución microalgal (ecuación 6).

$$Nr(Ha) = \frac{Nf(g)}{Nc(g/m^3)} \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

Nr (Ha) = Nitrógeno requerido por hectárea

Nf= Nitrógeno faltante en g, el encontrado en la ecuación 5 (Nd)

Nc= Nitrógeno proveniente de *Chlorella* en g/m³

Por último se estableció el volumen requerido de la microalga por m³ del sustrato de suelo. Para lo cual se procedió a establecer el requerimiento en volumen, por cada tratamiento (cada uno estaba compuesto por cinco materas de un volumen de 2,5 L) (ecuación 7).

$$V_r T = \frac{(V_c \times U_{Exp}) \times (V_{ch}/V_{suelo})}{tr} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

$V_r T$ = Volumen requerido de la solución para el tratamiento

V_c = Volumen del contenedor

U_{Exp} = Unidades experimentales

V_{ch} = Volumen de Chlorella

V_{suelo} = Volumen del suelo empleado en la prueba

tr = Semanas de riego (10 semanas)

Teniendo el dato anterior se definió el volumen requerido de la biomasa algal para los tratamientos T2 y T3, teniendo en cuenta que el tratamiento 3 duplica la dosis del tratamiento 2. Una vez definido el volumen requerido de la biomasa del alga a aplicar en los tratamientos 2 y 3, se procedió a realizar el montaje del experimento.

Se utilizaron materas con capacidad de 2,5 L, cuyas dimensiones correspondieron a 16,4 cm de diámetro superior, 10,3 diámetro inferior y una altura de 15,3 cm el volumen corresponde al volumen efectivo de trabajo, en cada matera se definieron cuatro puntos de siembra. En cada punto de siembra se dispusieron cuatro semillas para un total de 16 semillas por contenedor. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones para un total de 80 semillas por tratamiento. Se empleó como sustrato, suelo del lote A1 de la Zona Usme-UAN Bogotá, adicionalmente se mezcló cascarilla de arroz en una proporción de 3 a 1 (por cada tres gramos de sustrato suelo, se utilizó un gramo de cascarilla), con el fin de brindarle al sustrato la aireación suficiente para realizar el ensayo. Teniendo como referencia que se trataban de suelos franco-arcillosos, se pretendió disminuir el potencial de compactación, empleando envases o recipientes de polietileno bajo condiciones de laboratorio.

La determinación del porcentaje de germinación se realizó a los 10 días después de la siembra, y se reportó con base en la siguiente relación definida en la ecuación 8.

$$\% \text{ de Germinación} = \frac{\# \text{ de semillas germinadas}}{\# \text{ total de semillas sembradas}} \times 100 \quad \text{Ecuación 8}$$

La cosecha se estableció a 120 días después de la siembra, tiempo en el cual se evaluó el peso fresco radicular (comprendido entre el cuello y el ápice de la raíz), el peso foliar total (comprendido entre el cuello y el ápice de la hoja de mayor longitud) y el peso

fresco total (incluye el radicular y el foliar). La determinación de los pesos se realizó mediante la utilización de una balanza digital Citizen CTG3 con capacidad para 300 gramos y con una precisión de 0,01g.

4.3.1. *Análisis de los datos*

Se efectuaron cinco réplicas por tratamiento, distribuidas completamente al azar (DCA) sobre los mesones de laboratorio, con el propósito de disminuir el error experimental especialmente por efecto de bordes (Figura 4). Los cuatro tratamientos se identificaron por medio de colores distintivos en los recipientes utilizados, se dejaron cuatro plantas por materia a una distancia de 10 cm X 10 cm.

Se estableció un nivel de significancia del 5% y se realizó análisis de varianza (ANOVA); posteriormente se estableció la prueba de comparación múltiple de Tukey, utilizando el programa de Grupo InfoStat, FCA, versión 2016, de la Universidad Nacional de Córdoba , Argentina.

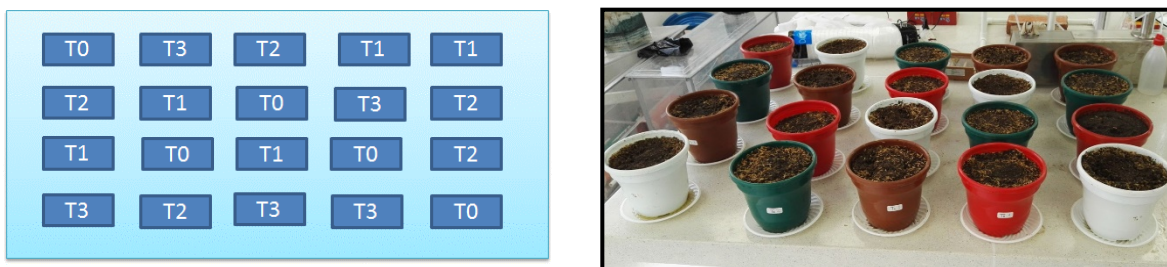


Figura 4. Esquema de la distribución de los tratamientos en el diseño DCA.

5. Resultados y discusión

5.1. Multiplicación del alga *Chlorella* sp.

A los cultivos establecidos en los fotobiorreactores 1 y 2, se les realizó seguimiento de pH, temperatura y producción de biomasa por medio de la determinación de absorbancia a las longitudes de onda de 650 nm y 670 nm. En la primera semana de establecimiento del fotobiorreactor 1, se apreció una tendencia creciente en la producción de las microalgas, en las dos longitudes de onda evaluadas (figura 5), lo que implicó extraer la biomasa generada y agregarla a un contenedor de mayor volumen para permitir que se siguiera la reproducción de las microalgas en el fotobiorreactor.

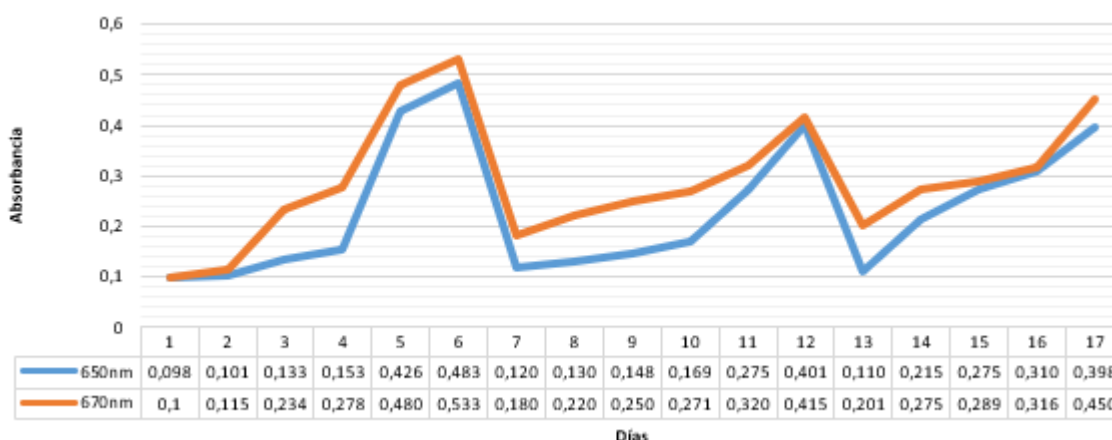


Figura 5. Producción de biomasa de *Chlorella* sp., en el fotobiorreactor 1 con dos longitudes de onda.

Por otro lado, en el comportamiento de la producción de biomasa del fotobiorreactor 2, se evidenció una disminución en la absorbancia después del día cuarto en el primer ciclo, por lo que se procedió a agregar 2 mL de orina autoclavada como sustrato. Lo anterior reflejó un comportamiento favorable, al reactivar la producción de biomasa que favoreció el alcance de los niveles requeridos para la extracción de la biomasa, como se aprecia en la figura 6.

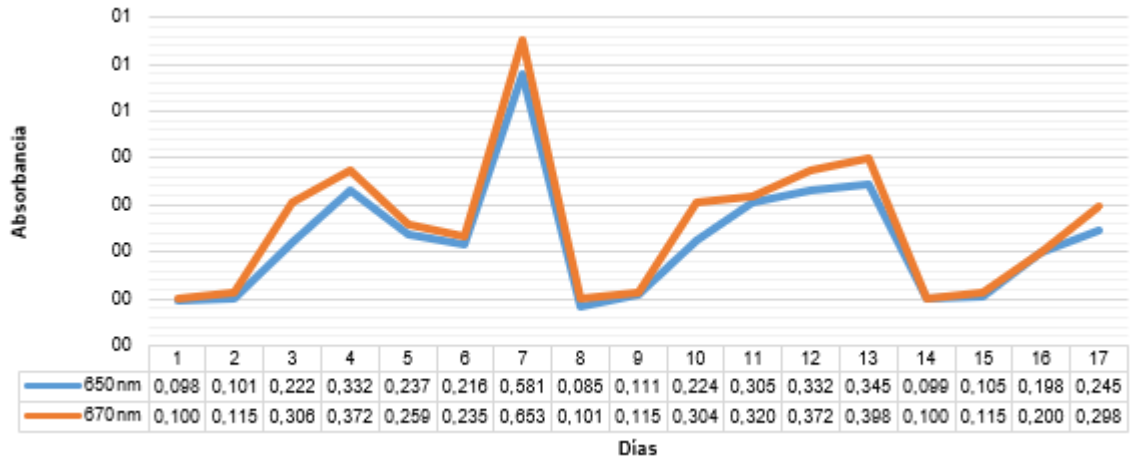


Figura 6. Producción de biomasa de *Chlorella* sp., en el fotobiorreactor 2 en dos longitudes de onda.

Teniendo en cuenta el comportamiento microalgal en los fotobiorreactores, se realizó extracción de la biomasa algal cada 6 días, controlando que la medición de absorbancia fuese igual o mayor a 0,332 nm. Si no se cumplía con este requerimiento se procedió a dejar el cultivo por mayor tiempo. La extracción se realizó con el fin de efectuar la conservación de la biomasa algal mediante refrigeración, para su posterior uso en el cultivo de las zanahorias. Una vez extraída la biomasa algal de los fotobiorreactores se realizó la limpieza de los mismos y reinicio del montaje, para garantizar la producción constante de la biomasa algal. De acuerdo con lo anterior en la figura 5 y 6 se refleja una disminución en el nivel de absorbancia en los días en los cuales se reinició el montaje (8 y 14 días).

En la variable temperatura se registró un valor promedio de 29°C (Figura 7). Esta temperatura permitió la obtención de la concentración de biomasa requerida, para los experimentos posteriores. Según Hernández & Labbe (2014) la producción algal aumenta proporcionalmente con la temperatura hasta alcanzar la temperatura óptima de cada especie. Si se excede el límite de temperatura del organismo, aumenta el proceso de respiración y la fotorrespiración reduce la productividad global de biomasa.

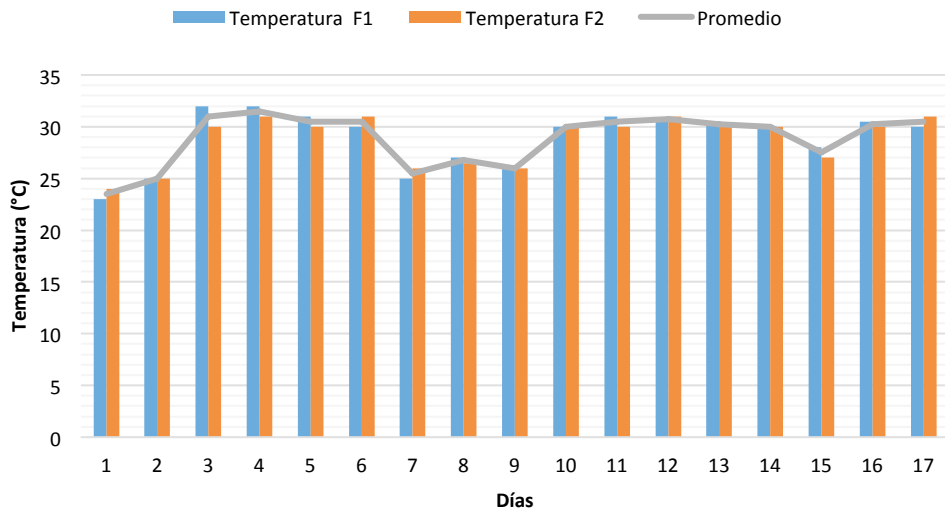


Figura 7. Registro de temperatura, en los fotobiorreactores para la producción de biomasa del alga *Chlorella* sp.

El pH del cultivo está influenciado por varios factores como la productividad algal, la respiración, la alcalinidad, composición iónica del medio de cultivo y la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica (Hernández & Labbe, 2014). Cada especie necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo; en especies dulceacuículas el nivel óptimo está entre 7,0 y 8,0 (Martínez, 2008) En este ensayo se evidenció un pH promedio de 7,0, en el cual se observó una tendencia creciente en la producción de biomasa del alga. Los tiempos en que decrecieron los valores de pH, coinciden con los tiempos de extracción de biomasa de *Chlorella* y el reinicio de la fase reproductiva. Sin embargo, el pH se estabilizó a partir del segundo o tercer día de puesta en marcha, del nuevo lote de producción de biomasa (Figura 8).

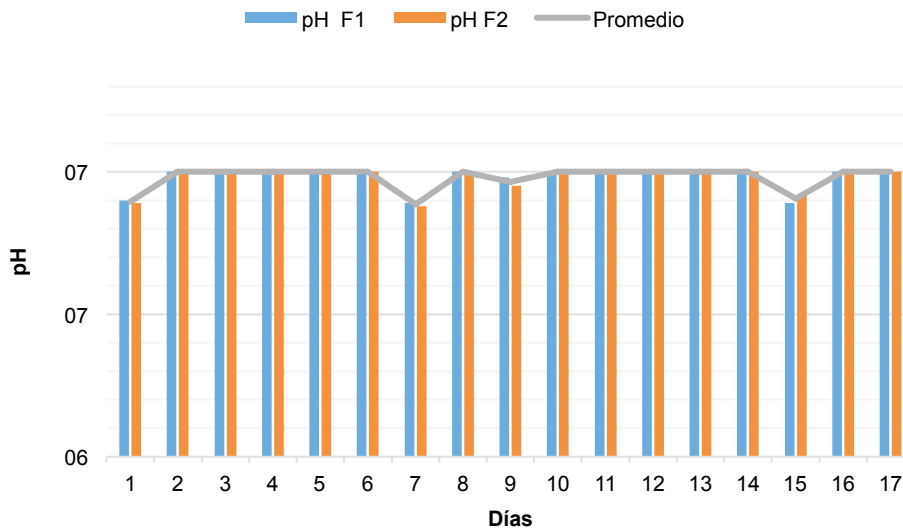


Figura 8. Registro de pH en los fotobiorreactores para la producción de biomasa del alga *Chlorella* sp.

Realizar la propagación de la cepa microalgal *Chlorella* en un sistema cerrado con el control constante de las variables temperatura, aireación, pH y absorbancia, beneficiaron los resultados obtenidos en la producción de biomasa. También se determinó que realizar una producción por lotes alimentados, en el cual se retiraba la biomasa generada y se suministraba medio de cultivo fresco como sistema de alimentación de los fotobiorreactores fue determinante para garantizar la producción constante de biomasa durante el ensayo.

Teniendo en cuenta que la cosecha de biomasa algal (Colorado, Moreno, & Pérez, 2013), es uno de los procesos más complejos de desarrollar por la susceptibilidad de este organismo a los factores externos, fue importante el empleo de fotobiorreactores. En este caso se pudieron comprobar las bondades del método para garantizar la cosecha y producción de la microalga; se apreció que en este sistema de crecimiento se potencializa la propiedad que tienen las microalgas de bioconversión de la energía lumínica, se facilita la utilización de elementos nutritivos (como nitrógeno, potasio y fósforo) y se provee constante oxígeno para la producción de biomasa. De acuerdo con lo anterior, se estableció una técnica que resultó viable en las condiciones experimentales empleadas, cumpliendo con las dos necesidades básicas para la producción de biomasa algal: generación de una tasa alta de crecimiento y una buena capacidad para formar agregados para la realización de una cosecha por gravedad, con la ayuda de la refrigeración (Hernandez & Jose, 2014).

5.2. Determinación del contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en la microalga

Los parámetros fisicoquímicos evaluados en el alga se determinaron a partir de cultivos del organismo con una absorbancia de 0,291 aproximadamente, la cual fue determinada a una longitud de onda de 670 nm. Los resultados obtenidos se relacionan en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de la microalga *Chlorella* sp.

Parámetro	Unidades	Resultado
Nitrógeno	mg NTK/L	23,08
Potasio	mg K/L	16,63
Fósforo	mg P/L	1,00
Carbono orgánico	Mg/L	192,00

El nitrógeno es el nutriente más importante para las microalgas, después del carbono (Hernández & Labbe, 2014). Este nutriente se considera un factor crítico para regular el contenido de lípidos en la microalga (Ahmad, 2011). El valor obtenido en este parámetro es un indicativo de la capacidad de crecimiento de la cepa evaluada, ya que se ha identificado que cuando existe una gran cantidad de acumulación de lípidos en la microalga existe limitación de nitrógeno y por consiguiente, se reduce la producción de microalgas. Lo anterior permite sugerir que las condiciones de alto contenido de lípidos y alta productividad, pueden ser mutuamente excluyentes (Hernández & Labbe, 2014).

Para este caso el valor obtenido implica una alta concentración de nitrógeno, y por ende, una baja concentración de lípidos por miligramo, lo que concuerda con los resultados reflejados en la producción de biomasa según la absorbancia (figura 7).

El fósforo es fundamental para muchos procesos celulares, tales como la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía (Grobbelaar, 2004). Aunque el contenido de fósforo de las microalgas es menor a 1% en relación a los demás nutrientes, cuando éste no existe o se presenta una deficiencia considerable en el medio de cultivo, se refleja la limitación del crecimiento microalgal. Sin embargo, el valor registrado evidencia una cantidad suficiente para permitir el crecimiento y reproducción del alga.

La presencia de carbono en la muestra es muy importante, por ser la otra fuente de energía requerida, para el desarrollo de los procesos metabólicos a nivel celular. En este caso el resultado fue de 192 mg/L, lo cual implica que las microalgas no solo aprovechan la luz para su proceso de fotosíntesis si no que a su vez contienen grandes cantidades de carbono orgánico que también puede ser aprovechado energéticamente.

Con concentraciones de carbono orgánico, mayores a 50 mg/L se podría inferir que se tienen mayores concentraciones de células microalgares, alcanzando una alta productividad por unidad de volumen de biomasa (Pérez, 2009).

La concentración de potasio en la *Chlorella* de estudio, tuvo un valor de 16,63 mg/L. El potasio es universalmente requerido por las microalgas e interviene en el metabolismo como un cofactor enzimático, en la síntesis proteica y en la regulación osmótica (Giraldo, 2011). Su importancia radica porque mejora la resistencia de la especie a diferentes tipos de estrés como heladas, sequias, calor y alta intensidad de luz. Además su presencia es requerida para el uso adecuado de otros nutrientes en la microalga como el nitrógeno y fósforo. Las microalgas son consideradas fuentes de potasio naturales, por su propiedad de bioacumular el mismo, teniendo como ventaja que son rápidamente solubles en el medio en el que se utilice (Darajeh, y otros, 2014).

Los productos comerciales como los fertilizantes complejos granulados, tales como el triple 15 (15-15-15) (cuya expresión corresponde al porcentaje de Nitrógeno-Fósforo y Potasio por unidad de masa), son utilizados constantemente en la producción agrícola, al igual que productos como el 10-30-10 o el fertilizante utilizado para hortalizas 25-15-0-2. En este sentido la solución de *Chlorella* registró una relación de los elementos N-P-K de 23-1-16 (tabla 5), en concentraciones de mg/L. Esta relación fue importante obtenerla para identificar cómo se comportarían estos nutrientes bajo las deficiencias que se pudieron encontrar en las condiciones sustrato-suelo utilizadas en laboratorio.

5.2.1. Identificación de la composición fisicoquímica del suelo agrícola proveniente del lote A1 - UAN

Se identificó la composición fisicoquímica del suelo del lote A1 utilizado como sustrato en el ensayo de investigación, según análisis de suelos MQ1-25053 del IGAC (Anexo IV), para una profundidad de 15 cm se obtuvieron los resultados relacionados en la Tabla 6.

Tabla 6 Composición del suelo empleado como sustrato en el experimento.

Parámetro	Unidades	Resultado
Arena	%	29,4
Limo	%	33,7
Arcilla	%	36,9
Textura		F-Ar
pH		5,8
Carbono orgánico	%	2,25
Capacidad de intercambio catiónico	cmol(+) Kg-1	17,383

(CIC)		
Calcio	cmol(+) Kg-1	6,110
Magnesio	cmol(+) Kg-1	2,800
Potasio	cmol(+) Kg-1	0,800
Relación de Ca/Mg	Ca/Mg	2,18
Relación de Mg/K	Mg/K	3,5
Relación de Ca/K	Ca/K	7,63
Relación de (Ca+Mg)/K	(Ca+Mg)/K	11,3
Zinc (Zn)	mg/Kg	4,59
Cobre (Cu)	mg/Kg	0,88
Manganeso (Mn)	mg/Kg	0,79
Hierro (Fe)	mg/Kg	179,29
Nitrógeno (N)	%	0,2589
Fosforo (P)	mg/Kg	165,23
Potasio (K)	cmol(+) Kg-1	0,800
Materia orgánica	%	2,25

Como se puede apreciar el sustrato suelo registró una textura franco-arcillosa, en su composición granulométrica predominaron las arcillas con un registro del 36,9%, seguido del componente limo 33,7% y arenas en un 29,4%. La presencia alta de arcillas amorfas promueve la compactación en función del contenido de humedad (Guerrero, 2005), por lo que es considerado un suelo pesado. En la agricultura este tipo de suelo presenta un gran desafío principalmente debido al pobre drenaje del suelo, capacidad de compactarse y deshacerse en terrones cuando se cultiva, pisa o trabaja y cuando está húmedo (Jaramillo, 2002)

Los suelos arcillosos, tiene una característica física particular dada su baja porosidad en comparación con los suelos arenosos, que provoca que absorba y retenga más agua, generando mala aireación y poco drenaje, lo que hace que se considere un “suelo pesado” (se refiere al nivel de dificultad para trabajarlo y no indica su peso) (Pérez & Villamil, 2017). Teniendo en cuenta esta característica se hizo necesario utilizar la cascarilla de arroz para aumentar la porosidad y disminuir la compactación en relación 3:1.

El pH del suelo fue de 5,8 considerándolo como un suelo ácido. Si en el suelo se presentara una fuerte acidez se encontraría una pobreza en bases como calcio, magnesio o potasio, reduciendo la actividad de los microorganismos y el fósforo disponible llegaría a disminuir (Pino, 2015). Dada las condiciones de la zona donde se obtuvo el suelo, se puede inferir que gran parte del incremento de la acidez del suelo puede ser por el uso de fertilizantes nitrogenados que contienen o forman amonio (NH_4^+), lo cual puede estar asociado al uso de fertilizantes como el sulfato de amonio, nitrato de amonio o la más conocida y usada la urea (Espinosa, 2005).

Dado este valor se recomendó realizar encalamiento (aplicación al suelo de sales básicas que neutralizan la acidez) en el tratamiento químico T1, como práctica común en la región. Debe considerarse en esta práctica que aplicaciones mayores a cuatro toneladas/ha no implican mejores rendimientos; éstos mejoran con la rotación de cultivos especialmente entre gramíneas, leguminosas y tubérculos, con condiciones integrales de labranza y preservación (Guerrero, 2005) (Munévar, 1978).

El nitrógeno registró un valor de 0,2589 % (N-total), siendo bajo para clima frío. Es un aspecto que debe ser intervenido ya que este macroelemento tiene gran importancia porque estimula el crecimiento de la masa vegetal al favorecer la división celular, además de participar en otros procesos como la producción de clorofila, aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos. La deficiencia de nitrógeno se podría evidenciar en la disminución del crecimiento de las plantas, de la biomasa foliar y en general podría provocar un retraso generalizado en el ciclo de desarrollo del cultivo (Bastida, 2018). Teniendo en cuenta que la dinámica del nitrógeno no está regulada por un equilibrio químico, sino principalmente por procesos biológicos, derivados de la actividad microbiana del suelo que afectan sobre todo a las formas minerales y a las formas orgánicas de la reserva que pueda ser aprovechada por el cultivo, se puede inferir que existe una estrecha asociación entre los contenidos de materia orgánica del suelo y de nitrógeno total de mismo, por lo cual la deficiencia es directamente proporcional para ambos elementos (Perdomo & Barbazan, 2005). Lo anterior se comprueba con en el registro de la materia orgánica el suelo a través del valor de carbono orgánico (2,25%), el cual para clima frío se consideró bajo por ser < 2,9 % según las recomendaciones del IGAC. En este sentido se recomienda realizar aplicaciones orgánicas o emplear bioestimulantes para mejorar la condición.

El fósforo (P) presentó un valor de 165,23 mg/Kg considerándose alto al ser mayor a 40 mg/Kg. Este valor demuestra un exceso del elemento en el suelo, el cual puede deberse a la fertilización excesiva de fósforo, especialmente cuando se utilizan fertilizantes compuestos como NPK o cuando se acidifica el agua de riego con ácido fosfórico. El suelo debe ser tratado porque puede afectar la absorción de otros elementos como el hierro, el manganeso y el zinc (Poh, Ong, Lau, & Chong, 2014).

La concentración de potasio (0,800 cmol(+) Kg-1) se consideró alta al ser > 0,4 cmol(+) Kg-1. El potasio es un elemento que tiene un potencial osmótico, que permite reducir la pérdida de agua por las hojas y aumenta la habilidad de las células radicales para absorber el agua del suelo, además brinda mayor calidad a frutos, hortalizas y flores (Ahmad, 2011).

De acuerdo con lo anterior se determinó que este suelo presentó buen contenido de bases, una buena capacidad de intercambio catiónico, pero se evidenciaron prácticas incorrectas en la zona, tales como la utilización de surcos a favor de la pendiente, baja rotación de cultivos, uso excesivo de fertilizantes e insecticidas, poca o nula utilización de bioestimulante orgánicos, se evidenció pérdida del mantillo, erosión del horizonte A y al deterioro de la calidad ecosistémica (Pérez & Villamil, 2017).

La Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) se consideró media por estar entre los rangos 10-20 cmol(+) Kg⁻¹. En cuanto a la relación Ca/Mg, Mg/K, Ca/K y (Ca+Mg)/K se consideró ideal al estar cercana a los rangos establecidos por el IGAC, explicados por la presencia de cationes debido a la eluviación y predominio de arcillas. La productividad agronómica puede mejorar si se corrigen las falencias de nitrógeno y carbono (Mendoza, 2019).

En cuanto a los micronutrientes, el zinc registró 4,59 (mg/kg) considerándose óptimo por estar en el rango entre 3,0 a 6,0, para manganeso el contenido se consideró muy bajo 0,78 mg/kg, debido a que su rango ideal está entre 15 y 30 mg/Kg. El cobre presentó 0,88 mg/kg, siendo bajo de acuerdo con el rango de referencia (1,3 a 3,0). Varios estudios demuestran que aplicaciones de materia orgánica como biochar (Haowei, 2018) o la utilización de gallinaza, pueden suplir las falencias de micronutrientes, (Guerrero, 2005). Finalmente el hierro se encontró en una concentración de 179 mg/kg, el cual se consideró alto ya que el nivel óptimo debe estar entre 20 y 30 mg/Kg, lo anterior no indica que esté disponible este elemento, pues su disponibilidad está en función del pH, presencia de materia orgánica, baja aireación y excesos de agua (Guerrero, 2005).

5.3. Establecimiento del porcentaje de germinación y de la producción de biomasa foliar y radicular en zanahoria, con el uso de la microalga y el suelo empleado como sustrato

En primera instancia, se realizó el cálculo para establecer el volumen requerido de la solución algal para los tratamientos de estudio T2 y T3, a partir de una solución de *Chlorella* con una absorbancia de 0,291 aproximadamente, determinada en una longitud de onda de 670 nm. El volumen se estableció en función del contenido de nitrógeno, lo anterior por ser este un macronutriente importante en la formación foliar y desarrollo de las plantas, adicionalmente por la misma deficiencia de este elemento en el sustrato suelo.

Se determinó el peso por hectárea en 1.300 kg con un volumen de 2.000 m³, de acuerdo con la densidad aparente de 0,65 g/cm³, la relación C/N fue de 8,69, teniendo un carbono total de 2,25% considerándose bajo para clima frío, al igual que el nitrógeno total con un registro de 0,2589%; lo anterior determinó una disponibilidad de 75,72 Kg/ha. El cultivo de la zanahoria requiere 192 Kg/Ha, estableciéndose un faltante de 116,27 Kg/Ha de nitrógeno.

El contenido algal presentó 23,08 mg/L de nitrógeno, es decir que para suplir la necesidad por hectárea de nitrógeno se requerían 5.037,77 m³. Posteriormente, se procedió a establecer el volumen de las algas, para su aplicación en las cinco materas requeridas por tratamiento, estableciéndose este volumen en 12,5 litros (2,5 L por contenedor). De acuerdo con lo anterior, se determinó una necesidad de 31,48 L de solución algal para todo el periodo vegetativo del Tratamiento T2, desde la siembra hasta la cosecha (tiempo estimado en 120 días).

Se establecieron 10 riegos con la solución de la microalga utilizando 3,14 litros. La obtención de la biomasa de la microalga se obtuvo por sedimentación a través de refrigeración a 4°C por cinco días, tomando un volumen de 220 mL por cada litro, para utilizar 44 mL por unidad experimental (matera) del tratamiento T2. Para el tratamiento T3, se realizó el doble de lo establecido en el T2 (ver anexo III). Teniendo la cantidad de biomasa del alga requerida se procedió a realizar el montaje del ensayo.

La variable porcentaje de germinación se evaluó a los diez días de efectuarse la siembra. En cada unidad experimental referida al contenedor se ubicaron cuatro sitios de siembra, en cada sitio de siembra se depositaron cuatro semillas para un total de 16 semillas por contenedor, 80 semillas por tratamiento. Se determinó que el tratamiento T0 presentó la germinación más baja con un registro del 32,5%. Se destacó el tratamiento T2 con un porcentaje de germinación del 73,8%, seguido del tratamiento T1 el cual registró un valor de 66,3%, y por el tratamiento T3 tuvo un porcentaje del 60%. Al realizar el ANOVA, se identificaron diferencias estadísticas significativas de los tratamientos con respecto al testigo (T0), pero no se evidenciaron diferencias entre los tratamientos restantes (Figura 9).

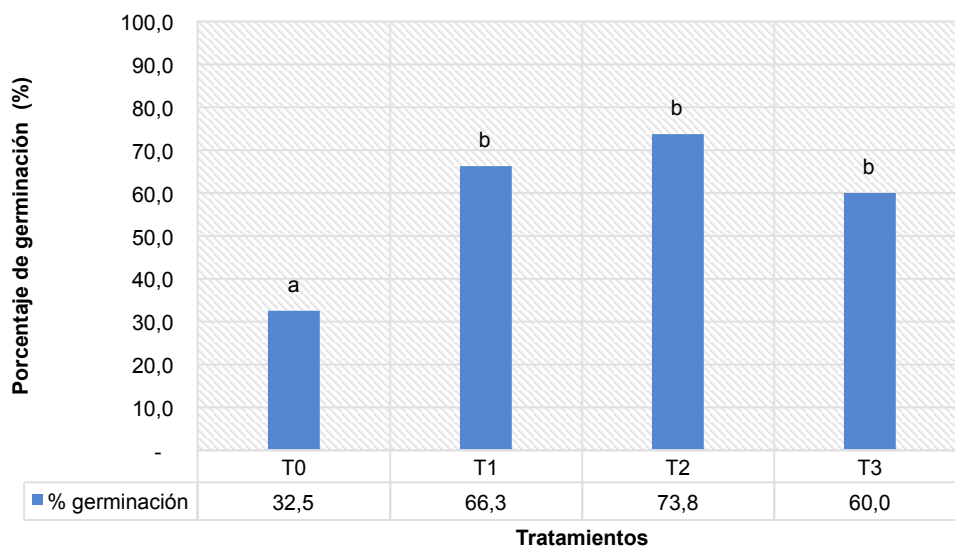


Figura 9. Porcentaje de germinación de las semillas de zanahoria, en los diferentes tratamientos evaluados.

El testigo presentó un bajo porcentaje de germinación con respecto a los tratamientos, el cual no superó el 35%. Este resultado puede tener relación con los contenidos bajos de nitrógeno y materia orgánica encontrados en el análisis físico químico del suelo, ya que éstos afectan la germinación de las semillas (Pino, 2015) (figura 10). Como se mencionó anteriormente no existieron diferencias significativas entre los demás tratamientos, sin embargo, el tratamiento T2 a base del alga, podría contribuir con la calidad ambiental y el aumento de las tasas de germinación en comparación del tratamiento T1 que correspondió a la fertilización química. Las semillas para germinar deben romper la fase de latencia, esto se produce por la identificación de condiciones en el medio referido a humedad, temperatura entre otros, la energía requerida para esta fase se toma de las reservas energéticas almacenadas en el endospermo, pero también requiere que el medio ofrezca condiciones nutricionales favorables, como el nitrógeno, el cual tiene influencia en la germinación de algunas especies de arvenses (Pino J., 2015), por ello se recomienda el uso de productos como los bioestimulantes ecológicos que podrían ser incluidos en el manejo integral del suelo ya que son de origen orgánico.

5.3.1. Desarrollo radicular y foliar en zanahoria

La cosecha de las zanahorias se efectuó a los 120 días después de la siembra, tiempo en el cual se determinó el peso fresco total obtenido en los respectivos tratamientos. Los tratamientos T1 y T2 presentaron promedios similares, con diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo (T0) (Figura 10) (Anexo V). Los resultados obtenidos en el T2 presentaron mejores condiciones de desarrollo con respecto al testigo, lo cual se apreció a simple vista (Figura 10).

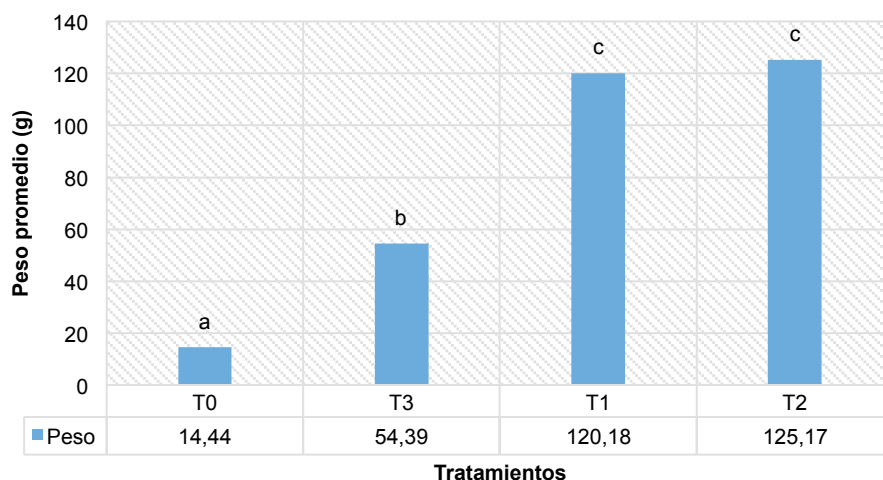


Figura 10. Peso fresco total de la zanahoria al momento de la cosecha según tratamiento.



Figura 11. Diferencias entre el T0 y T2.

Se estableció que el desarrollo radicular no registró diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T2, pero si existen diferencias significativas con respecto al testigo y

al tratamiento T3 (figura 12). Sin embargo, los valores se consideran bajos con relación al promedio de producción referenciado en la ficha técnica de la especie, que corresponde a un rango en peso entre 160 y 190 g por planta (Arroyave, 2018).

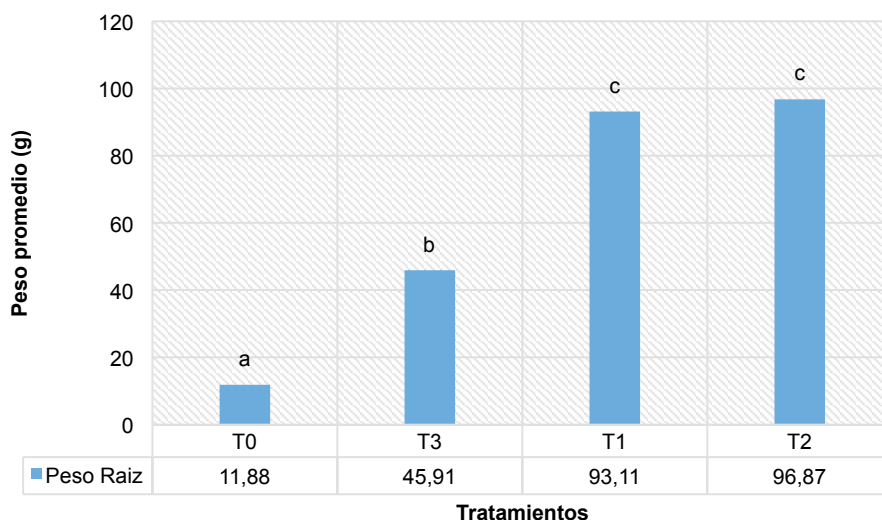


Figura 12. Peso radicular de la zanahoria al momento de la cosecha por tratamiento.

En cuanto al peso foliar de la zanahoria, se continúa apreciando la tendencia de los mejores resultados con los tratamientos T1 y T2. Se evidenció que el tratamiento testigo (T0) está por debajo de los demás tratamientos (Figura 13). Según la prueba Fisher, no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T1 y T2, aunque se evidencia mayor altura en el tratamiento T1 (Figura 13).

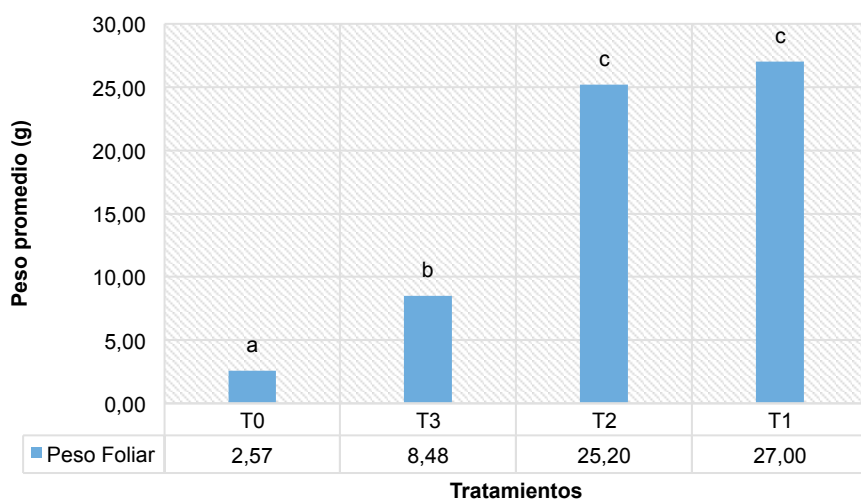


Figura 13. Peso foliar de la zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.

Para la variable altura total se denotó una prevalencia en el tratamiento T2, siendo significativa la diferencia con respecto a los demás tratamientos. No se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T3 y el testigo registró los valores más bajos (figura 14 y anexo V).

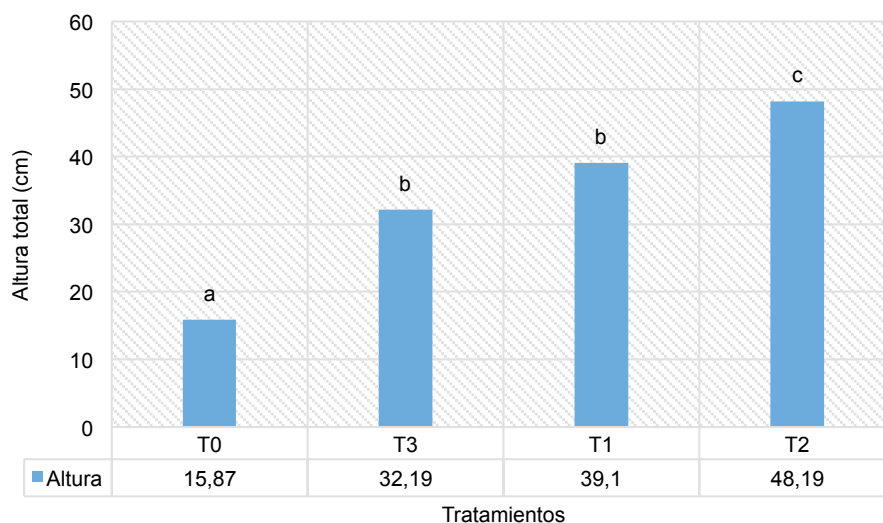


Figura 14. Altura total de las plantas de zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.

En la figura 15, se evidenciaron diferencias significativas entre el T0 los demás tratamientos, pues este presentó un promedio de 4,6 cm en la variable longitud radicular. Entre los tratamientos sobresalió el tratamiento T2 con un valor promedio de 14,14 cm presentando diferencias significativas en el T1 y T3.

El tratamiento T2, registró el mejor comportamiento en la variable longitud foliar obteniendo un promedio de 34,05 cm con diferencias significativas respecto a los demás tratamientos. Adicionalmente existieron diferencias significativas con respecto al testigo, el cual obtuvo el promedio de 11,27 cm como se evidencia en la figura 16.

El peso promedio de la zanahoria Chantenay es de +/-160-190 gramos (Arroyabe, 2018) referido a raíz, con una longitud promedio de 15 a 16 cm. Los datos obtenidos presentan valores inferiores a los promedios reportados por la literatura, lo anterior puede ser consecuencia del desarrollo experimental al utilizar recipientes o materas que influyeran en el desarrollo de la zanahoria, al igual que también puede ser atribuido a el suelo de USME lote A-1 el cual registra sobrexplotación, pérdida de la capa orgánica y afectación de la estructura. Se recomienda aplicación de materia orgánica, utilización de

labranzas con bajo impacto, rotación de cultivos y la utilización de periodos de vedas, con el propósito de tener un desarrollo sostenible que garantice los recursos para las generaciones posteriores.

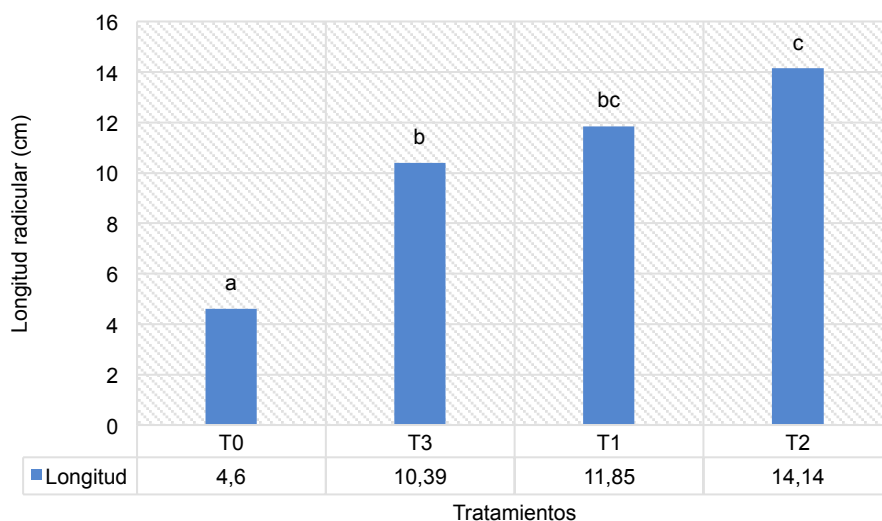


Figura 15. Longitud radicular de las plantas de zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.

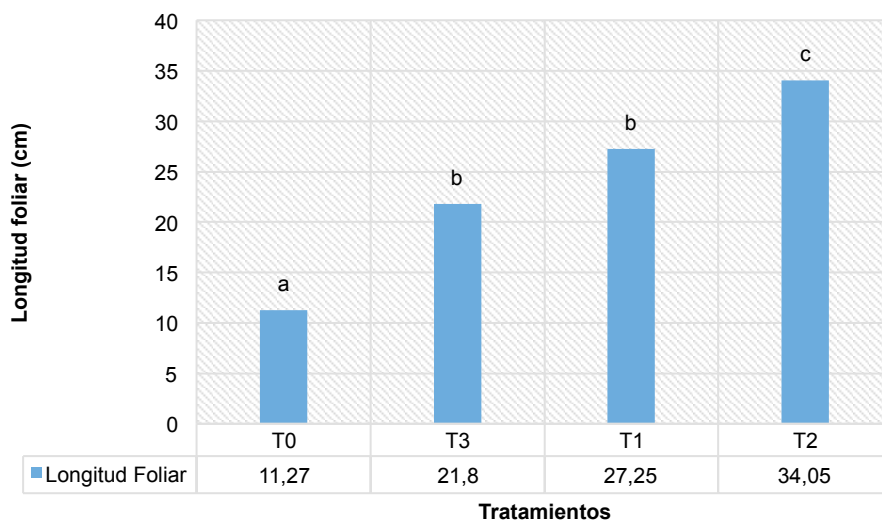


Figura 16. Longitud foliar de la zanahoria al momento de la cosecha para cada tratamiento.

Las variables peso y longitud de la zanahoria registraron diferencias significativas entre el tratamiento testigo T0 y los tratamientos utilizados (T1, T2 y T3) indicando que el

sustrato-suelo usado en condiciones naturales generaría bajas producciones y que se hace necesario suplir las deficiencias de nitrógeno, materia orgánica, manejo y control de pH, evaluación de las deficiencias de micronutrientes como el manganeso y el cobre, control de excesos de hierro ajustando las metodologías de producción y conservación.

No existieron diferencias significativas en la variable peso radicular entre los tratamientos T1 y T2. Sin embargo, se consideraron los costos ambientales de continuar utilizando productos de síntesis como fertilizantes granulados que aumentan la solubilidad del fósforo siendo aprovechados en un rango del 15 al 25% solamente por el cultivo y promoviendo la acumulación o lixiviación del mismo en función de la geomorfología (Ray, Chandan, & Ghosh, 2013).

El uso de bioestimulantes ecológicos como la *Chlorella* contribuyen a la incorporación de materia orgánica, útil en los procesos biológicos del suelo. La muestra utilizada registró 192 mg/L de carbono orgánico, sumado a los contenidos de nitrógeno de 23,08 mg/L. Estos valores fueron importantes para el sustrato-suelo usado en la investigación, pues contribuye a mejorar la germinación y la relación C/N lo cual contribuirá al aumento de la biodegradabilidad y favorecerá procesos de fermentación, disminuyendo la pérdida del carbono en forma de dióxido de carbono (Guerrero, 1998); en pocas palabras los bioestimulante pueden fomentar la recuperación de las deficiencias de nutrientes y la incorporación de la materia orgánica, como se menciona en las investigaciones de León (2015) el cual evaluó la respuesta de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) y remolacha (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) a la aplicación al suelo del consorcio de microalgas (*Chlorella* sp.) y (*Scenedesmus* sp.) demostrando que los rendimientos de estos bioproductos son semejantes a un fertilizante totalmente químico, al igual que en las investigaciones de Morales Avendaño & Martínez Pérez, (2017).

Sin embargo, en este caso es importante denotar que el uso de bioestimuladores debe manejarse con claridad y presión, ya que en esta investigación se probó que con el tratamiento T3 que correspondió al doble del tratamiento T2, los resultados no demostraron mejores rendimientos y se evidenció que para este sustrato-suelo no conviene incrementar la solución algal porque se traduce en un exceso de humedad por la textura franco-arcillosa del suelo.

6. Conclusiones

- Se determinó que la solución de la microalga *Chlorella*, registró contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio de 23,08, 1,0 y 16,0 mg/L, respectivamente y de 192 mg/L de carbono orgánico, considerándose potencialmente útil como bioestimulante ecológico.
- El porcentaje de germinación obtenido con el tratamiento T0 fue del 32,5% considerado bajo y presentando diferencias estadísticas significativas con los demás tratamientos. Los tratamientos T1, T2 y T3 no registraron diferencias significativas entre sí y lograron porcentajes de germinación mayores al 60%. El tratamiento T2 registró un valor de germinación de 73,8 % y puede ser considerado en estudios de germinación para sustituir o disminuir el uso de fertilizantes granulados, lo anterior puede ser atribuido al contenido de nitrógeno y de materia orgánica del sustrato.
- Se estableció que existieron diferencias significativas en la variable peso total, entre el tratamiento T2 cuyo peso promedio fue de 125,17g y el T0 (14,44 g). No existieron diferencias significativas con el tratamiento T1, control-químico (120,18 g) pero si con referencia al tratamiento T3 (doble concentración de *Chlorella*). Se registró el mismo comportamiento para las variables peso radicular y peso foliar. En cuanto a la variable altura total, longitud radicular y altura foliar, existieron diferencias significativas para el tratamiento T2, siendo este el mejor comportamiento para estas variables en referencia a los demás tratamientos.

7. Recomendaciones

- Se recomienda que para futuros ensayos de investigación se realicen montajes estacionarios para obtener producción constante de biomasa microalgal, estos deben estar en diferentes fases al mismo tiempo, por cuanto el proceso es susceptible de ser contaminado por agentes externos como las esporas o los hongos, lo anterior contribuye a utilizar reactores emergentes, para no detener el proyecto de investigación.
- Para la producción de biomasa microalgal por medio de fotobiorreactores, se debe contemplar desde el inicio aislar la zona de cultivo, utilizar filtros en las bombas de aire, ya que se convierte en la principal fuente de posible contaminación de las colonias, así como alimento nitrógeno como la orina esterilizada.
- Los suelos de la zona de Usme registran sobreexplotación, pérdida de la capa orgánica, afectación de la estructura, por lo tanto, se recomienda la aplicación de materia orgánica, utilización de labranzas con bajo impacto, rotación de cultivos y la utilización de periodos de vedas, análisis de suelos, investigación en las relaciones de las bases, control sobre los excesos del hierro y diferencias de manganeso, cobre y nitrógeno, con el propósito de aportar al desarrollo sostenible del cultivo, que garantice los recursos para las generaciones posteriores.
- Se recomienda el control de la humedad en el suelo por la textura franco-arcillosa y la utilización de materiales que promuevan la porosidad debido a la presencia alta de arcillas amorfas.
- Se recomienda estudiar los aportes de micronutrientes en los contenidos de los bioestimulantes con microalgas.
- Se recomienda continuar la investigación en la utilización de los bioestimulantes ecológicos ricos en sistemas algales como la *Chlorella* para ser utilizados en germinación y en el desarrollo foliar de especies cortas.

8. Bibliografía

- Agromatica. (2014). *Formas, asimilación y efecto del nitrógeno en las plantas*. Recuperado el 18 de Enero de 2018
- Ahmad. (2011). *Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review*. *Renew. Sust. Energ.*
- Alcaldía de Bogotá. (2017). *El observatorio y las localidades*. Recuperado el 10 de Abril de 2017, de <http://oab.ambientebogota.gov.co/es/el-observatorio-y-las-localidades/informacion-general-usme>
- Alcaldía local de Usme. (2017-2020). *Plan Ambiental Local de Usme*. Bogotá: Comisión ambiental local de usme. Recuperado el 20 de Noviembre de 2017
- Arroyabe, S. (30 de noviembre de 2018). Obtenido de <http://www.semillasarroyave.com/wp-content/uploads/2017/04/Zanahoria-Chantenay-Special-Ficha-t%C3%A9cnica-y-fotos-en-campo.pdf>
- Azcón, & Talón. (01 de enero de 2013). *Fundamentos de fisiología vegetal*. Madrid, España: McGraw-Hill.
- Barclay, W. R., & Lewin, R. (1985). *Microalgal polysaccharide production for the conditioning of agricultural soils*. *Plant and Soil*.
- Bastida, O. (2018). *Nutrición vegetal: importancia del nitrógeno (N) en las plantas*. Obtenido de <https://blogagricultura.com/nutricion-vegetal-nitrogeno/>
- Bolaño, R. J., & Ramírez, M. A. (2016). *Evaluación del desarrollo de la biomasa de rábano (Raphanus sativus) en el suelo agrícola de la hacienda de los henares, (Funza-Cundinamarca) a través de enmiendas orgánicas*. Universidad Antonio Nariño, Cundinamarca. Bogotá: Universidad Antonio Nariño.
- Bonilla, J., & Sosa, L. (2017). *Plan de manejo ambiental de la vereda la Requilina ubicada en la localidad Usme ,Bogotá D.C*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Bogotá. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10596/14304>
- Borowitzka, M., & Moheimani, N. (2013). *Open pond culture system. Algae for biofuels and energy*. New york: Springer.
- Brenan, & Owende. (2010). *Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing and extractions of biofuels and co-products*. *Renew. Sust. Energ.*
- Cáceres, A. S. (2009). *Aislamiento y caracterización de las principales microalgas presentes en el sistema Hidroponico dle tipo raiz flotante*. Santiago, Chile.

- Carranza, D. C. (2006). *Reacción fenológica y agronómica de dos cultivares de Zanahoria (Daucus carota) a la inoculación de cepas de micorriza en campo*. Sangolquí, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército.
- Chen, Y. (2011). CULTIVATION OF *Chlorella* sp. IN ANAEROBIC EFFLUENT FOR BIOMASS PRODUCTION. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 909 - 912. Recuperado el 20 de Noviembre de 2018, de <http://search.ebscohost.com.bdigital.sena.edu.co/login.aspx?direct=true&db=8gh&AN=66463316&lang=es&site=ehost-live>
- Colombia, Presidencia de la República. (1991). *Constitución Política de Colombia*. Obtenido de <http://wsp.presidencia.gov.co/Normativa/Documents/Constitucion-Politica-Colombia.pdf>
- Colorado, M. A., Moreno, D. A., & Pérez, J. (2013). *Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas. La experiencia en La Guajira, Colombia*. Ambiente y Desarrollo.
- Congreso de la República. (22 de Diciembre de 1993). *Ley 99* . Obtenido de Ministerio del Interior:
https://www.mininterior.gov.co/sites/default/files/dacn_ley_99_de_1993_0.pdf
- Congreso de la República. (26 de Mayo de 2015). Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible. Bogotá D.C., Colombia. Obtenido de <http://www.parquesnacionales.gov.co/portal/wp-content/uploads/2013/08/Decreto-Unico-Reglamentario-Sector-Ambiental-1076-Mayo-2015.pdf>
- Congreso de la República de Colombia. (26 de Junio de 1984). Decreto 1594 de 1984. Bogotá, Colombia. Obtenido de Diario Oficial 36700
- Congreso de la República de Colombia. (25 de Octubre de 2010). Decreto 3930 de 2010. Bogotá D.C, Colombia. Obtenido de Diario Oficial 47837
- Constitución Política de Colombia. (4 de Julio de 1991). Bogotá, Colombia.
- Coppens , J., Grunert, Oliver, Den Heden , S. V., Vanhoutte, I., Boon , N., Haesaert, G., & De Gelder, L. (2015). The use of microalgae as a high-value organic slow-release fertilizer results in tomatoes with increased carotenoid and sugar levels. *Springer Link* , 11.
- Crops. (2014). Recuperado el 4 de Abril de 2018, de Informaciones agronomicos: [http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/\\$webindex/7EFD356D05AA06EA05256A31007595F9/\\$file/Funciones+del+F%C3%B3sforo.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/$webindex/7EFD356D05AA06EA05256A31007595F9/$file/Funciones+del+F%C3%B3sforo.pdf)

- Darajeh, N., Idris, A., Fard Masoumi, H. R., Nourani, A., Truong, P., & Sairi, N. A. (1 de October de 2014). Modeling BOD and COD removal from Palm Oil Mill Secondary Effluent in floating wetland by *Chrysopogon zizanioides* (L.) using response surface methodology. *Journal of Environmental Management*, 181, 343-352. Obtenido de <https://biblioproxy.umanizales.edu.co:2148/science/article/pii/S0301479716304261>
- Decreto N° 462. (23 de Diciembre de 2008). *Por el cual se adopta la Política para el Manejo del Suelo de Protección en el Distrito Capital.*
- EPA. (1993). *Determination of Total Kjeldahl Nitrogen by Semi-Automated Colorimetry* .
- Espinosa, J. (2005). *Acidez y encalado de los suelos*. Quito: International Plant Nutrition institute.
- Espitia, C. F. (2017). *Evaluación de la velocidad de compostaje mediante la utilización de algas y carbohidratos en residuos sólidos urbanos (RSU)*. Bogotá.
- Faheed, F., & Fattah, Z. (s.f.). Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. Egipto, 2008: Botany Dept. Obtenido de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK2009000203>
- Garcia, J., & Sommerfeld, M. (Abril de 2016). Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. 28, 1051-1061. doi:10.1007/s10811-015-0625-2
- Giraldo, S. A. (2011). *Aislamiento y caracterización de microalgas formadoras de tapetes microbianos asociados a un cultivo hidropónico de plantas halófitas*. Artículo, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria., Departamento de Biología. Recuperado el 31 de 10 de 2017, de <http://hdl.handle.net/10553/6792>
- Gómez L, L. M. (2015). Microalgas: Aspectos ecológicos y Biotecnológicos. *Revista cubana de química*, XIX(2), 3-20. Recuperado el 28 de Enero de 2019, de file:///C:/Users/home/Downloads/MICROALGAS_ASPECTOS_ECOLOGICOS_Y_BIOTECNOLOGICOS.pdf
- Grobbelaar, J. (2004). Algal nutrition: mineral nutrition. *Richmond A* , 97.115.
- Guerrero, R. (2005). *Fertilización de Cultivos en Clima Frio*. Colombia: Monómeros.
- Haowei, Y. W. (20 de noviembre de 2018). Biochar amendment improves crop production in problem soils. *Journal of Environmental Management.*, 8-21.
- Hernández, A., & Labbe, J. (2014). Microalgae, culture and benefits. *Biología Marian y oceanografía*, 49(2), 157-172.
- Informe Brundtland. (1987). *Nuestro Futuro Común*. Oxford University Press.

- Jaramillo, D. (2002). *Introducción a la ciencia del suelo*. Medellín: Universidad Nacion de Colombia.
- Jimeno, Mercado, Ballesteros, Yépez, & Vega. (2017). *Uso de la microalga chlorella sp. viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil*. Mexico.: *Prospectiva*, 15 (1) 1-7.
- Kenechukwu Agwa, O., Chimezie, J. O., & Williams, E. E. (2017). Field Evidence of *Chlorella vulgaris* Potentials as a Biofertilizer for *Hibiscus esculentus*. (U. o. Department of Microbiology, Ed.) *International journal of agricultural research*, 2-10. doi:10.3923
- León, M. E. (2015). *Respuesta de lechuga (Lactuca sativa L. var. crispa) y remolacha (Beta vulgaris L. var. Conditiva) a la aplicación al suelo del consorcio de microalgas (Chlorella sp.) y (Scenedesmus sp.)*. Quito.
- Ley N° 388. (18 de Julio de 1997). *Por la cual se modifica la Ley 9 de 1989, y la Ley 2 de 1991 y se dictan otras disposiciones*.
- Ley N° 9. (21 de Enero de 1979). *Las normas generales que servirán de base a las disposiciones y reglamentaciones necesarias para preservar, restaurar y mejorar las condiciones sanitarias en lo que se relaciona a la salud humana;*
- Ley N° 99. (22 de Diciembre de 1993). *Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA, y se dictan otras disposici*. Colombia.
- Malam Issa, O., Bissonnais, Y., Défare, C., & Trinchent, J. (2001). Role of a cyanobacterial cover on structural stability of sandy soils in the Sahelian part of western Niger. *Geoderma*, 101: 15-30.
- Manahan, S. E. (2007). *Introducción a la química ambiental* (Primera ed.). México: Reverte S.A. Recuperado el 10 de Enero de 2018, de https://books.google.com.co/books?id=5NR8DIk1n68C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Martinez, L. (2008). *Eliminación de CO2 con microalgas*. Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León.
- Martínez, L. (2008). *Eliminación de CO2 con microalgas autóctonas*. Tesis doctoral, Universidad de León, León. doi:10.4067/S0718-19572014000200001
- Mendoza, L. (2019). *Relaciones entre la mesofauna y el contenido de materia orgánica del suelo en relictos de bosque altoandino en la reserva forestal distrital*

- encenillales de pasquilla y su corredor de restauración en localidad de Usme, Bogotá D.C.* Bogota: Universidad Nacional de Colombia.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (17 de Marzo de 2015). Resolución 631 de 2015. Bogotá D.C., Colombia. Obtenido de Diario Oficial 49486
- Morales, E., & Martínez, R. &. (2017). Aislamiento, cultivo, viabilidad y evaluación de un consorcio cianobacteria-microalga como acondicionador de suelos. *Revista Ecuatoriana De Medicina Y Ciencias Biológicas*, 51-71. doi:10.26807
- Munévar, F. (1978). Efecto del encalado en la fijación de fósforo por 10 Andisoles. *Revista ICA*, 59-68.
- Ortiz, M., Cortés, C., Sánchez, J., Padilla, J., & Otero, A. (2012). *Evaluación del crecimiento de la microalga chlorella sorokiniana en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas*. Orinoquia. Obtenido de <http://www.redalyc.org/html/896/89625076002/>
- Parra, O., & Bicudo, C. (1996). *Introducción a la biología y sistemática de las algas*. Chile: Universidad de Concepción,.
- Perdomo, C., & Barbazan, M. (2005). *Nitrogeno en suelos* . Montevideo: Facultad de agronomia universidad de la republica.
- Pérez, E., & Villamil, E. (22 de Diciembre de 2017). De las territorialidades Urbano-Rurales a las transformaciones del paisaje: Un estudio de caso en la vereda la requilina, localidad Usme, Sur de la ciudad de Bogotá. *Luna Azul*(46), 26. doi: 10.17151/luaz.2018.46.15
- Pérez, R. O. (2009). *Eliminación de nutrientes para el tratamiento Biológico de agua residual usando un sistema inmovilizado Microalga-Bacteria en crecimiento autotrófico*. La Paz.
- Pino J., R. R. (2015). INFLUENCIA DEL NITRÓGENO EN LA GERMINACIÓN. *XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología.*, (pág. 425). Sevilla, España.
- Poh, P. E., & Chong, M. (August de 2014). Upflow anaerobic sludge blanket-hollow centered packed bed (UASB-HCPB) reactor for thermophilic palm oil mill effluent (POME) treatment. *Biomass and Bioenergy*, 67, 231-242. Obtenido de <https://biblioproxy.umanizales.edu.co:2148/science/article/pii/S0961953414002566>
- Poh, P. E., Ong, W., Lau, E. V., & Chong, M. N. (June de 2014). Investigation on micro-bubble flotation and coagulation for the treatment of anaerobically treated palm oil mill effluent (POME). *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(2), 1174-

1181. Obtenido de <https://biblioproxy.umanizales.edu.co:2148/science/article/pii/S2213343714000918>
- Prieto, M., Mogollon, M., Castro, A., & Sierra, L. (2005). *Efecto del medio y condiciones de cultivo en la productividad de tres diatomeas marinas con potencial acuícola*. Córdoba: Revista MVZ. doi:10.1
- Ramos, S. J. (2014). *Producción de Biogás a partir de Biomasa de la Microalga Scenedesmus*. Madrid: Universidad politécnica de Madrid.
- Ray, K., Chandan, M., & Ghosh, A. N. (4 de October de 2013). A Way to Curb Phosphorus Toxicity in the Environment: Use of Polyphosphate Reservoir of Cyanobacteria and Microalga as a Safe Alternative Phosphorus Biofertilizer for Indian Agriculture. 47. (E. s. technology, Ed.) India. doi:10.1021/es403057c
- República de Colombia. (28 de Diciembre de 1974). *Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente*. Obtenido de [http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/decretos/9d-dec_2811_1974%20\(2\).pdf](http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/decretos/9d-dec_2811_1974%20(2).pdf)
- República de Colombia. (Noviembre de 2000). *REGLAMENTO TÉCNICO DEL SECTOR DE AGUA POTABLE Y SANEAMIENTO BASICO RAS*. Obtenido de Ministerio de Desarrollo Económico: http://www.minvivienda.gov.co/Documents/ViceministerioAgua/010710_ras_titulo_e_.pdf
- Saeed, M. O., Azizli, K., Isa, M. H., & Bashir, M. J. (December de 2015). Application of CCD in RSM to obtain optimize treatment of POME using Fenton oxidation process. *Journal of Water Process Engineering*, 8, e7-e16. Obtenido de <https://biblioproxy.umanizales.edu.co:2148/science/article/pii/S2214714414001251>
- Saucedo, E. (2014). *Google libros*. Recuperado el 23 de Mayo de 2017, de https://books.google.com.co/books?id=qRXVBQAAQBAJ&pg=PT27&dq=fases+del+suelo&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwipg_XC14PQAhWKSiyKHfSIA8EQ6AEINzAD#v=onepage&q=fases%20del%20suelo&f=false
- Standard Methods* (Vol. XVII). (2017). American Public Health Association. Recuperado el 5 de Abril de 2018
- Suarez. (2017). *Guia tecnica para el cultivo de zanahoria*. Recuperado el 21 de Diciembre de 2017, de <http://istphuancane.pe.tripod.com/docs/agrop/zanahoria.pdf>
- Tam, N., & Y, W. (1998). *Tratamiento de aguas residuales con algas*. Berlin: Springer-Verlag.

- Torres, K., & Zuluafa Montoya, t. (2009). *Biorremediación de suelos contaminados por Hidrocarburos*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Recuperado el 24 de Enero de 2019, de http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009.pdf
- Universidad Antonio Nariño. (2015). Guías de laboratorio para llevar a cabo métodos normalizados en el laboratorio de ingeniería ambiental de la universidad antonio nariño. 43. Bogotá, Colombia. Recuperado el 21 de Marzo de 2018
- Universidad Nacional . (2008). *Informe Global environmental Outlook Usme*. Bogotá: Alcaldía Mayor de Bogotá.
- Williams, & Laurens, L. (2010). *Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks Review & analysis of the biochemistry*. Energy Environ.
- Zangeneh, H., Zinatizadeh, A. A., Zinadini, S., Feyzi, M., & Bahnemann, D. (June de 2018). A novel photocatalytic self-cleaning PES nanofiltration membrane incorporating triple metal-nonmetal doped TiO₂ (K-B-N-TiO₂) for post treatment of biologically treated palm oil mill effluent. *Reactive and Functional Polymers*, 127, 139-152. Obtenido de <https://biblioproxy.umanizales.edu.co:2148/science/article/pii/S1381514818300221>

9. Anexos

Anexo I. Carta cesión de cepa *Chlorella sp* ATCC 50258.

UAN
UNIVERSIDAD
ANTONIO NARIÑO

Una Universidad con Presencia
Nacional y Vocación Regional

Bogotá 20 de marzo de 2018

Sr: Giovanni Sánchez
Ingeniero Agrónomo
Srta Xiomara Becerra Aldana
Administradora Ambiental

Referencia: Carta de cesión de cepa *Chlorella sp* ATCC 50258 para fines de investigación.

El día 20 del mes de Marzo, en la ciudad de Bogotá, Colombia, en la sede Circunvalar de la Universidad Antonio Nariño, facultad de Ingeniería Ambiental y Civil, se estableció el acuerdo de cesión para uso compartido de la microalga (*Chlorella sp*) ATCC 50258, bajo los lineamientos de investigación haciendo la aclaración que las CEPAS MICROALGALES utilizadas por la facultad son de uso netamente investigativo y son recibidas bajo el protocolo de importación de Global Bioresource Center ATCC 50258, dicha acuerdo se sostiene entre el señor Juan Daniel Valderrama, identificado con la cédula 80058488 de Bogotá, investigador y director del Laboratorio de Ingeniería Ambiental adscrito a la Facultad de Ingeniería Ambiental y civil quien se denominará **CEDENTE**, y la parte que se denominará **CESIONARIO** integrado por el señor Giovanni Sánchez Rojas identificado con la cédula 79856447 de Bogotá y la señorita Xiomara Becerra Aldana identificada con la cédula:1023904830 de Bogotá, quienes para fines pertinentes convienen las siguientes cláusulas:

PRIMERA. - Objeto: el **CEDENTE** transfiere el derecho de uso de la cepa de microalga *Chlorella sp* ATCC 50258 a los **CESIONARIOS** con el único propósito de realizar las investigaciones pertinentes a su trabajo de grado titulado "Evaluación del potencial de *Chlorella spp.* en la producción de biomasa de zanahoria (*Daucus carota*) como requisito de maestría en Desarrollo sostenible y medio ambiente de la Universidad de Manizales.

SEGUNDA. - El derecho de cesión se deberá realizar bajo las condiciones de laboratorio que para tal fin se acuerda y permite a bien suministrar los espacios requeridos en el laboratorio de Ingeniería ambiental sede Circunvalar.

TERCERA. -Se establece que por ningún motivo la utilización de esta cepa tendrá uso para fines comerciales.

CUARTA. - El **CESIONARIO** Asume cualquier riesgo y responsabilidad relacionados con la recepción, manipulación, almacenamiento, eliminación, transferencia y uso de la cepa *Chlorella sp* ATCC 50258.

Calle 58 a bis No. 37 - 94 Sede Federmán
Línea Gratuita Nacional: 01 8000 123 060
Línea en Bogotá: 315 2980
www.uan.edu.co

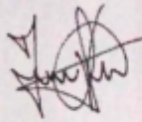
QUINTO- El CESIONARIO está de acuerdo en que cualquier actividad llevada a cabo con la cepa en mención debe realizarse de acuerdo con todas las directrices, leyes y regulaciones aplicables.

SEXTO.- Dándose por entendido como convenio y con fines investigativos, el CESIONARIO podrá realizar posteriores publicaciones, presentaciones y demás actividades con los resultados obtenidos sin requerir previa autorización del CEDENTE, ya que la propiedad intelectual de los resultados e investigaciones quedaran a nombre de los receptores de la cepa

SÉPTIMA- El convenio de cesión no tendrá costos económicos para CESIONARIO, por parte del CEDENTE.

OCTAVA- Las partes aceptan las cláusulas establecidas en este documento

CEDENTE:



JUAN DANIEL VALDERAMA

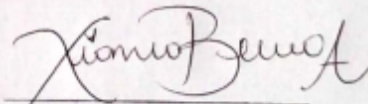
CC 80058488

CESIONARIOS:



GIOVANNI SANCHEZ

CC 79.856.447.



XIOMARA BECERRA

CC 1023904830

Anexo III. Cálculo para aplicación de microalgas en función de nitrógeno.

Lote A1, USME. Clima frío. Altura 2.782 msnm

Ítem	valor	Observación
pH	5.8	Medianamente ácido
Densidad Aparente g/cm ³	0.65	
Carbono Total %	2.25	<2,9 para frío se consideró bajo
Nitrógeno Total \$	0.2589	<0.25 se consideró bajo
Hectárea (área) m ²	10000	
Profundidad (m)	0.2	Profundidad de trabajo para el cultivo de zanahoria
Volumen de la Hectárea (m ³)	2000	Se calculó multiplicando área (hectárea) por altura (profundidad para zanahoria)
Peso de la Hectárea (Kg)	1300	Se estableció multiplicando el volumen por la densidad del suelo
Relación C/N	8.690614137	Se utiliza la tabla de conversión para determinar el N disponible por Ha, cuando está en el rango menor a 10 en la relación (C/N) se multiplica por 225 para determinar en ppm
Nitrógeno disponible en ppm	58.2525	
Determinación de N Por Ha en Kg (Kg/Ha)	75.72825	En 1.000.000 de gramos de suelo hay 58,25 partes de N, en 1.300.000 hay 75,72
Requerimiento del Nitrógeno para Zanahoria clima frío (Kg/Ha)	192	Recomendación según consulta bibliográfica, fertilización de cultivo de clima frío. Monómeros Colombo venezolanos
Nitrógeno faltante para el cultivo de zanahoria (Kg/Ha)	116.27175	
Nitrógeno faltante para el cultivo de zanahoria (g/Ha)	116,271.75	Correspondencia en gramos
Contenido de N en muestra de Chlorella mg NTK/L	23,08	Equivale a 23,08 gramos por m ³
Requerimiento de solución de Chlorella a 0,291 en longitud de onda a una absorbancia de 670 nm, de la muestra analizada (m ³ /Ha)		Como se calculó el volumen de la hectárea en relación a la densidad aparente este corresponde a 2000 m ³ y un peso de 1300 kg)

Ítem	valor	Observación
Volumen de la Matera para investigación con suelo de Usme (L)	2,5	Las dimensiones de la matera corresponden a 16,4 diámetro superior, 10,3 diámetro inferior y una altura de 15,3 cm el volumen corresponde al volumen efectivo de trabajo
Volumen de tierra total por tratamiento con Chlorella que corresponden a 5 materas (L)	12,5	
Relación de volumen requerido de solución de Chlorella por cada metro cúbico de suelo (m ³)		Se requieren 2,52 m ³ de solución de Chlorella con longitud de onda 0,291 por cada m ³ de suelo de Usme lote A1
Relación de volumen requerido de solución de Chlorella para el tratamiento T2 que corresponde a enmienda con Chlorella (L)	31,486067 48	Por cada 1000 litros de suelo se requieren 3148 litros de solución de chlorella para aporte de nitrógeno, para 12,5 litros del suelo de materas se requiere 31,48 litros de solución de Chlorella.
Recomendación fraccionada en 10 riegos de acuerdo al ciclo biológico de la zanahoria	3.1486067 48	Se recomienda utilizar por semana 3,14 litros de solución Chlorella para el tratamiento T2, la cual puede a su vez dividirse en tres riegos de 1,04 litro por cada día de riego (lunes-miércoles y viernes). Se recomienda sedimentar en nevera con 4°C durante cinco días para utilizar 220 cm ³ de cada 1,04 litros -por día de riego.
Recomendación por Matera en mL	44	Por día de riego se recomiendan 44 mL por matera del tratamiento T2, para un total de 220 cm ³ de solución de microalgas por las cinco materas
Recomendación para tratamiento T3 por matera el doble del tratamiento T"	88	Se recomendó utilizar 400 mL para las cinco materas del Tratamiento T3

Anexo IV. Resultados del IGAC.

IGAC																	FECHA	
RESULTADOS DE ANÁLISIS QUÍMICO – CARACTERIZACIÓN Q-04																	AAAA-MM-DD	
GESTIÓN AGROLÓGICA																	2017-09-01	
NOMBRE Y APELLIDO / EMPRESA / PROYECTO: GIOVANNI SANCHEZ										TIPO DE MUESTRA: SUELO				No. SOLICITUD: 2383_1				
DEPARTAMENTO / MUNICIPIO / LOCALIZACIÓN: Bogotá D.C. - Bogotá, D.C.										DIRECCIÓN DEL CLIENTE: CALLE 10 A NO. 32A - 23 CASA B								
SUPLEMENTO DE RESULTADOS: [] DE FECHA: []																		
No. DE LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO	PROFUNDIDAD (cm)	GRANULOMETRÍA			CLASE TEXTURAL	GRAVILLA %	RELACIÓN DE pH	pH	ACIDEZ INTERCAMBIABLE (cmol+/Kg)	S.A.I. %	SALINIDAD		CARBONATO DE CALCIO		CARBONO ORGÁNICO %	CARBONO TOTAL %	
			ARENA %	LIMO %	ARCILLA %							CE (dS/m)	PSI	Cuantitativo %	Cuantitativo %			
MQ1-25053	LOTE A1	0-15	29.4	33.7	36.9	F Ar	N.A.	1:1	5.8	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	2.25	
FÓSFORO DISPONIBLE (mg/kg)	COMPLEJO DE CAMBIO (cmol+/Kg)						S.B. %	ELEMENTOS MENORES (mg/kg)						NITRÓGENO TOTAL %	AZÚCARE TOTAL %			
	CIC	Ca	Mg	K	Na	B.T.		Mn	Fe	Zn	Cu	B	S			NH4	NO3	
165.23	17.383	6.110	2.800	0.800	0.150	9.860	56.72	0.79	179.29	4.59	0.88	0.35	N.A.	N.A.	N.A.	0.2599	N.A.	
Observaciones:																		
<p>meq Calcio/100g (cmol+/Kg) x 200 = mg/Kg. meq Potasio/100g (cmol+/Kg) x 391 = mg/Kg. meq Magnesio/100g (cmol+/Kg) x 120 = mg/Kg. meq Sodio/100g (cmol+/Kg) x 230 = mg/Kg. Porcentaje (%) = mg/Kg / 10.000</p> <p>A = ARENA; L = LIMO; Ar = ARCILLA; F = FRANGULA; CE = CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA; * CaCO3; (+) = (+) = NO PRESENTE; BAJO; (++) = MEDIO; (+++) = ALTO; (++++) = MUJY ALTO. N.A. = NO APLICA; N.E. = NO DETECTADO</p> <p>SAT = SATURADO; B.T. = BASES TOTALES; S.A.I. % = PORCENTAJE SATURACIÓN ACIDEZ INTERCAMBIABLE; S.B. % = PORCENTAJE SATURACIÓN DE BASES; PSI = PORCENTAJE SATURACIÓN DE SODIO.</p> <p>NOTA: LA MUESTRA NO DISPERSO APROPIADAMENTE, EL % DE ARCILLA PUEDE SER MAYOR.</p> <p>NOTA: Los resultados almacenados en la base de datos y los enviados por correo electrónico se conservarán durante tres años a partir de la entrega de los mismos. Las muestras para análisis químicos, físicos y mineralógicos se almacenarán durante seis meses a partir de la fecha de entrega de resultados. Las muestras para análisis biológicos se conservarán 15 días a partir de la fecha de entrega de resultados, aguas y abonos no se conservarán. La información emitida por el Laboratorio Nacional de Suelos, se limita al análisis de la(s) muestra(s) entregadas por el cliente. Favor comunicar su sugerencia, observación o reclamo al Laboratorio Nacional de Suelos Cra 30 N° 48-51 Bogotá, Telefax 3694016 ó 3694000 Ext. 91548 y 91266, mail: laboratorio@igac.gov.co</p> <p>Prohibida la reproducción parcial sin autorización escrita del Laboratorio.</p> <p>Certificaciones ISO para las normas ISO 9001:2008, NTCGP 1000:2009 e ISO 14001:2004.</p>																		
<p>APROBADO POR COORDINADOR DEL SIT: _____</p> <p style="text-align: center;">NOMBRE: JAIME ALVAREZ HERRERA</p> <p style="text-align: right;">Firma: _____</p>																		

Página 1 de 2

IGAC																	FECHA	
RESULTADOS DE ANÁLISIS QUÍMICO – CARACTERIZACIÓN Q-04																	AAAA-MM-DD	
GESTIÓN AGROLÓGICA																	2017-09-01	
NOMBRE Y APELLIDO / EMPRESA / PROYECTO: GIOVANNI SANCHEZ										TIPO DE MUESTRA: SUELO				No. SOLICITUD: 2383_1				
DEPARTAMENTO / MUNICIPIO / LOCALIZACIÓN: Bogotá D.C. - Bogotá, D.C.										DIRECCIÓN DEL CLIENTE: CALLE 10 A NO. 32A - 23 CASA B								
SUPLEMENTO DE RESULTADOS: [] DE FECHA: []																		
Condición de la muestra		Explicación:																
APROBADA		N.A.																
Fecha de recepción de la muestra		Fecha de pago de la muestra				Fecha de ejecución de los análisis												
2017-08-10		2017-08-11				2017-08-29												
Método	Condiciones específicas o ambientales del método					Incertidumbre estimada (Si aplica)			Límite de detección (Si aplica)			Límite de cuantificación (Si aplica)						
CIC (capacidad intercambio catiónico): extracción con Acetato de Amonio 1M pH 7 – Volumétrico cuantificación por volumetría.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					1,6 cmol+/kg			1,2 cmol+/kg			2,04 cmol+/kg						
BASES INTERCAMBIABLES (calcio, magnesio, potasio y sodio): extracción con Acetato de Amonio 1M pH 7 y cuantificación por absorción-emisión atómica.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					N.A.			N.A.			N.A.						
FÓSFORO DISPONIBLE: Bray II – Espectrofotométrico. Modificado por el IGAC y adaptado a los suelos colombianos.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					1,42 mg P/kg suelo			0,11 mg P/kg suelo			0,37 mg P/kg suelo						
ACIDEZ INTERCAMBIABLE (A.I.) aluminio de cambio: extracción con cloruro de potasio 1M y cuantificación por volumetría.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					0,13 cmol+/kg			0,21 cmol+/kg			0,23 cmol+/kg						
CARBONO TOTAL: oxidación completa y cuantificación por infrarrojo.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					N.A.			N.A.			N.A.						
TEXTURA DEL SUELO: Hidrómetro de Bouyoucos – densimétrico. Método IGAC adaptado a los suelos colombianos.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					1,3 %Ar			N.A.			N.A.						
pH: Potenciométrico en relación suelo:agua 1:1.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					0,5			N.A.			N.A.						
ELEMENTOS MENORES: Manganese (Mn), hierro (Fe), zinc (Zn) y cobre (Cu): extracción con DTPA y cuantificación por Absorción Atómica (A.A.).	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					N.A.			N.A.			N.A.						
NITRÓGENO TOTAL: Kjeldahl y oxidación potenciométrica ó Combustión en Analizador Elemental.	Temperatura: 10-40 °C y Humedad relativa no superior al 85%.					N.A.			N.A.			N.A.						
CONVERSIÓN DE UNIDADES(CUANDO SE REQUIERA)																		
N.A.																		
Cualquier inquietud puede comunicarse con:																		
Efraín Useche Arciniegas Ext. 91676																		
APROBADO POR COORDINADOR DEL SIT: _____																		
NOMBRE: JAIME ALVAREZ HERRERA																		
Firma: _____																		

Página 2 de 2

Anexo V. Análisis de varianza.

GERMINACIÓN

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
GERMINACIÓN	80	0,2	0,17	54.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31.05	3	10.35	6.53	<0,0001
Tratamiento	31.05	3	10.35	6.53	<0,0001
Error	120.5	76	1.59		
Total	151.55	79			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.04596

Error: 1.5855 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T0	1.3	20	0.28	A
T3	2.4	20	0.28	B
T1	2.65	20	0.28	B
T2	2.95	20	0.28	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

PORC_GERM

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
GERMINACIÓN	80	0,2	0,17	54.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	19406.25	3	6468.75	6.53	0.0005
tratamiento	19406.25	3	6468.75	6.53	0.0005
Error	75312.5	76	990.95		
Total	94718.75	79			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=26.14889

Error: 1.5855 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T0	32.5	20	7.04	A
T3	60	20	7.04	B
T1	66.25	20	7.04	B
T2	73.75	20	7.04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

PESO TOTAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO TOTAL	80	0,64	0,63	44,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	172001,02	3	57333,67	45,99	<0,0001
Tratamiento	172001,02	3	57333,67	45,99	<0,0001
Error	94748,00	76	1246,68		
Total	266749,02	79			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=22,23802

Error: 1246,6842 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T0	14,44	20	7,90 A
T3	54,39	20	7,90 B
T1	120,18	20	7,90 C
T2	125,17	20	7,90 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ddddddd

PESO RAIZ

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO RAIZ	80	0,62	0,61	45,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	99099,89	3	33033,30	41,72	<0,0001
Tratamiento	99099,89	3	33033,30	41,72	<0,0001
Error	60182,12	76	791,87		
Total	159282,01	79			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=17,72331

Error: 791,8700 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T0	11,88	20	6,29 A
T3	45,91	20	6,29 B
T1	93,11	20	6,29 C
T2	96,87	20	6,29 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PESO FOLIAR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO FOLIAR	80	0,65	0,63	50,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8881,13	3	2960,38	46,39	<0,0001
Tratamiento	8881,13	3	2960,38	46,39	<0,0001
Error	4849,93	76	63,81		
Total	13731,06	79			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=5,03128

Error: 63,8148 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T0	2,57	20	1,79	A
T3	8,48	20	1,79	B
T2	25,20	20	1,79	C
T1	27,07	20	1,79	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

LONGITUD TOTAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONGITUD TOTAL	80	0,42	0,40	41,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11186,36	3	3728,79	18,51	<0,0001
Tratamiento	11186,36	3	3728,79	18,51	<0,0001
Error	15313,99	76	201,50		
Total	26500,35	79			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=8,94037

Error: 201,4999 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T0	15,87	20	3,17	A
T3	32,19	20	3,17	B
T1	39,10	20	3,17	B
T2	48,19	20	3,17	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

LONGITUD RAIZ

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONGITUD RAIZ	80	0,40	0,38	43,21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	993,49	3	331,16	16,91	<0,0001
Tratamiento	993,49	3	331,16	16,91	<0,0001
Error	1488,49	76	19,59		
Total	2481,98	79			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,78730

Error: 19,5853 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T0	4,60	20	0,99	A		
T3	10,39	20	0,99		B	
T1	11,85	20	0,99		B	C
T2	14,14	20	0,99			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

LONGITUD FOLIAR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONGITUD FOLIAR	80	0,40	0,38	43,98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5555,36	3	1851,79	17,20	<0,0001
Tratamiento	5555,36	3	1851,79	17,20	<0,0001
Error	8181,85	76	107,66		
Total	13737,21	79			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=6,53487

Error: 107,6559 gl: 76

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T0	11,27	20	2,32	A		
T3	21,80	20	2,32		B	
T1	27,25	20	2,32		B	
T2	34,05	20	2,32			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)