

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA POLITÈCNICA SUPERIOR DE GANDIA

Grado en Ciencias Ambientales



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCOLA POLITÈCNICA
SUPERIOR DE GANDIA

“Eliminación de nutrientes mediante carrizo (*Phragmites australis*) en sistemas flotantes”

TRABAJO FINAL DE GRADO

Autor/a:

Vladyslav Pylypenko

Tutor/a:

Silvia Laura Falco Giaccaglia

Miguel Rodilla Alamá

GANDIA, 2021

Resumen

En este trabajo se evalúa la capacidad de remoción de nutrientes tales como nitrógeno y fósforo en el agua mediante la utilización de *Phragmites australis* como agente fitorremediador. Para ello, se llevó a cabo un experimento donde se implantaron macetas flotantes de *P. australis* en cubos de agua mezclada con fertilizante sólido. Se investigó el proceso de remoción de N, P y Si durante un periodo de 3 meses en el municipio de Gandía. Los datos de los análisis elaborados, tanto del agua como de las plantas, nos mostraron que el N y P se redujo en un 77% y 87% respectivamente, donde el *P. australis* participó en un 20% (N) y 46% (P). También hubo presencia de microalgas que retiró un 5% (N) y 0,4% (P). El resto de N y P retirado, que supone un 53% (N) y 40% (P), se dedujo que fue debido a la producción secundaria. Los resultados sugirieron que el rápido consumo del Si pudo afectar directamente en el desarrollo del *P. australis*, lo que afectó en la capacidad de remoción de la planta.

Palabras clave: fitorremediación, nitrógeno, fósforo, eutrofización, calidad del agua.

Abstract

This work evaluates the removal capacity of nutrients such as nitrogen and phosphorus in water using *Phragmites australis* as a phytoremediation agent. For this purpose, an experiment was carried out in which floating pots of *P. australis* were planted in buckets of water mixed with solid fertiliser. The N, P and Si removal process was investigated over a period of 3 months in the municipality of Gandía. Data from both water and plant analyses showed that N and P were reduced by 77% and 87% respectively, with *P. australis* contributing 20% (N) and 46% (P). Microalgae were also present and removed 5% (N) and 0.4% (P). The remaining N and P removed, accounting for 53% (N) and 40% (P), was inferred to be due to secondary production. The results suggested that the rapid consumption of Si may have directly affected the development of *P. australis*, which affected the removal capacity of the plant.

Key words: phytoremediation, nitrogen, phosphorus, eutrophication, water quality.

Índice

1. Introducción y Conceptos	1
1.1. Problemática actual	1
1.2. Caso de estudio	1
1.3. <i>Phragmites australis</i>	2
1.4. Objetivo	2
2. Material y Métodos	4
2.1. Diseño del experimento	4
2.2. Obtención del <i>P. australis</i>	5
2.3. Análisis del agua	6
2.3.1. Análisis de parámetros físico-químicos in situ del agua	7
2.3.2. Análisis de nutrientes y clorofila del agua	7
2.4. Análisis de la biomasa, N y P total	9
2.5. Análisis de datos	11
3. Resultados	13
3.1. Evolución de parámetros en el agua	13
3.1.1. Temperatura	13
3.1.2. Conductividad	14
3.1.3. pH	14
3.1.4. Oxígeno disuelto	15
3.1.5. Nutrientes	16
3.1.6. Clorofila.....	19
3.2. Biomasa, N y P total en <i>P. australis</i>	20
3.3. Balance de N y P	24
3.3.1. Estimación de N en la biomasa de carrizo y en el agua	24
3.3.2. Estimación de P en la biomasa de carrizo y en el agua	26
3.3.3. Estimación de N y P en microalgas	27

4. Discusión	30
5. Conclusión	33
6. Bibliografía	34

1. Introducción y Conceptos

1.1. Problemática actual

La mayor parte de la población mundial se encuentra asentada en una zona estrecha entre el área marina y terrestre, lo que llamamos la zona costera, y es donde se produce la gran parte de la actividad económica mundial (Ramesh *et al.*, 2015). Debido a que la mayoría de la población está situada en esta zona, todas las actividades desarrolladas alteran directamente la calidad del agua debido al incremento de desechos que contienen nitrógeno y fósforo. Estos dos nutrientes son los culpables del incremento de eutrofización en los ambientes costeros (Cicerol, 2004).

La eutrofización es definida como “sobre enriquecimiento de nutrientes es la acumulación de nutrientes (principalmente nitrógeno y fosforo) en un cuerpo de agua (lagunas, esteros, estuarios y el mar costero), lo cual estimula el crecimiento de algas. Los problemas típicos de la eutrofización observados alrededor del mundo son incremento en las concentraciones de clorofila a (indicador del fitoplancton), florecimientos de algas nocivos y tóxicos, reducción del oxígeno y transparencia, así como alta biomasa de macroalgas (verdes filamentosas y algas rojas) y pérdida de la vegetación acuática sumergida y fauna bentónica” (Herrera *et al.*, 2011).

El fósforo y el nitrógeno son los principales causantes de la aceleración de la eutrofización (Yang *et al.*, 2008). Las principales fuentes antropogénicas del fósforo son debido a desechos domésticos e industriales, detergentes, fertilizantes y excrementos de animales (Boeykens *et al.*, 2017). Por otro lado, las principales fuentes antropogénicas de nitrógeno inorgánico, donde las principales formas iónicas (reactivas) son el amonio (NH_4^+), el nitrito (NO_2^-) y el nitrato (NO_3^-) son vertidos industriales y municipales, residuos y vertidos de granjas de animales y procesos de escorrentía e infiltración en campos de cultivo entre otras (Camargo y Alonso, 2007). Por ello es de gran importancia mitigar la carga de nutrientes para así evitar la pérdida de ecosistemas que genera el proceso de eutrofización (Wilkinson, 2017).

1.2. Caso de estudio

En la zona costera de la Comunidad Valenciana, está presente el municipio de Gandía, el cual está localizado en la comarca de La Safor. En este municipio existe una alta presencia de agricultura donde predomina el cultivo de cítricos, lo que supone el uso de fertilizantes que

pueden acabar en las aguas subterráneas y acequias. Además de esto, hay numerosas viviendas en la zona que pueden no disponer de una conexión directa al alcantarillado para poder depurar los desechos domésticos que producen, donde al final acabaría desembocando directamente en las acequias de la zona. Esto supone un problema aún más grave cuando tenemos en cuenta que las acequias finalmente desembocan directamente en el mar, donde todos los desechos y fertilizantes pueden acarrear una eutrofización en la zona (Sebastiá et al., 2012).

Una posible solución es la fitorremediación, que consiste en el uso de plantas para remover, reducir, degradar o inmovilizar agentes contaminantes, empleando la capacidad que tienen estas de tomar los nutrientes a través de las raíces o gases desde las hojas permitiendo así eliminar sustancias tóxicas del suelo, agua o el aire (Pilon-Smits, 2005). Para el caso de Gandía se pretende utilizar como fitorremediador al *Phragmites australis*.

1.3. *Phragmites australis*

El *P. australis* tiene una gran capacidad de adaptarse a diferentes entornos y eso se refleja en una amplia distribución (Ksenofontova, 1988). El *P. australis* dispone de un sistema de rizoma resistente con una alta capacidad de propagación, un largo periodo de crecimiento, una fuerte adaptabilidad y resistencia a la contaminación (Fraser et al., 2004; Liu et al., 2012). Cuando hay una gran disponibilidad de nutrientes, la producción y el almacenamiento de nutrientes en las raíces y brotes aumenta en el *P. australis* (Mason y Bryant, 1975; Ulrich y Burton, 1985). Una de las características más importantes de la planta es la eficiencia en el uso de los nutrientes, la cual combina una variedad de procesos de absorción y liberación de nutrientes (por ejemplo, la absorción de nutrientes, producción de biomasa y recuperación de nutrientes de hojas senescentes) (Berendse y Aerts, 1987; Aerts y De Caluwe, 1994a).

Debido a todas estas características, el *P. australis* puede ser utilizado en el tratamiento de aguas residuales primarias, secundarias y terciarias, que son originadas en fuentes domésticas e industrias debido a la facilidad de cultivo y la alta eficiencia de remoción de *P. australis* (Bhatia y Goyal, 2014).

1.4. Objetivo

El objetivo del trabajo fue evaluar la capacidad de remoción de nutrientes presentes en un agua enriquecida mediante un sistema flotante compuesto por carrizo (*P. australis*). Para lograr el objetivo general se utilizaron 4 unidades experimentales en un proceso en batch que se

mantuvieron durante un periodo de tres meses en los que, además, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Analizar los cambios en parámetros físico-químicos del agua a lo largo del experimento.
- Estudiar la evolución de la biomasa de *P. australis* y del contenido de N y P en la misma.
- Realizar un balance de N y P del sistema.

2. Material y métodos

2.1 Diseño del experimento

El experimento estuvo compuesto por 4 unidades experimentales en las que se utilizó carrizo (*P. australis*) en sistemas flotantes para la eliminación de nutrientes de un agua enriquecida (Fig 2.1). Se analizó tanto la variación de nutrientes disueltos a lo largo de 3 meses como el incremento de biomasa y el nitrógeno y fósforo retirado tras la cosecha. Se realizó en los viveros de la Escuela Superior de Gandía (EPSG) (figura 2.1), el cual se encuentra en los alrededores del campus. Para la elaboración del experimento se utilizaron 4 cubos de una capacidad de 100 litros que se rellenaron con 60 litros cada uno con agua proveniente de la acequia “Nova” que es próxima al lugar del experimento (figura 2.2). Al agua se le añadió un fertilizante sólido de la marca “COMPO” del tipo de abono “azul universal” el cual está compuesto por un 12% de nitrógeno total (N) (5% nítrico y 7% amoniacal) y 8% de pentóxido de fósforo (P_2O_5), que fue previamente disuelto en la misma. La duración del experimento fue de un total de 93 días, que va desde el 30 de marzo hasta el 2 de julio de 2021.

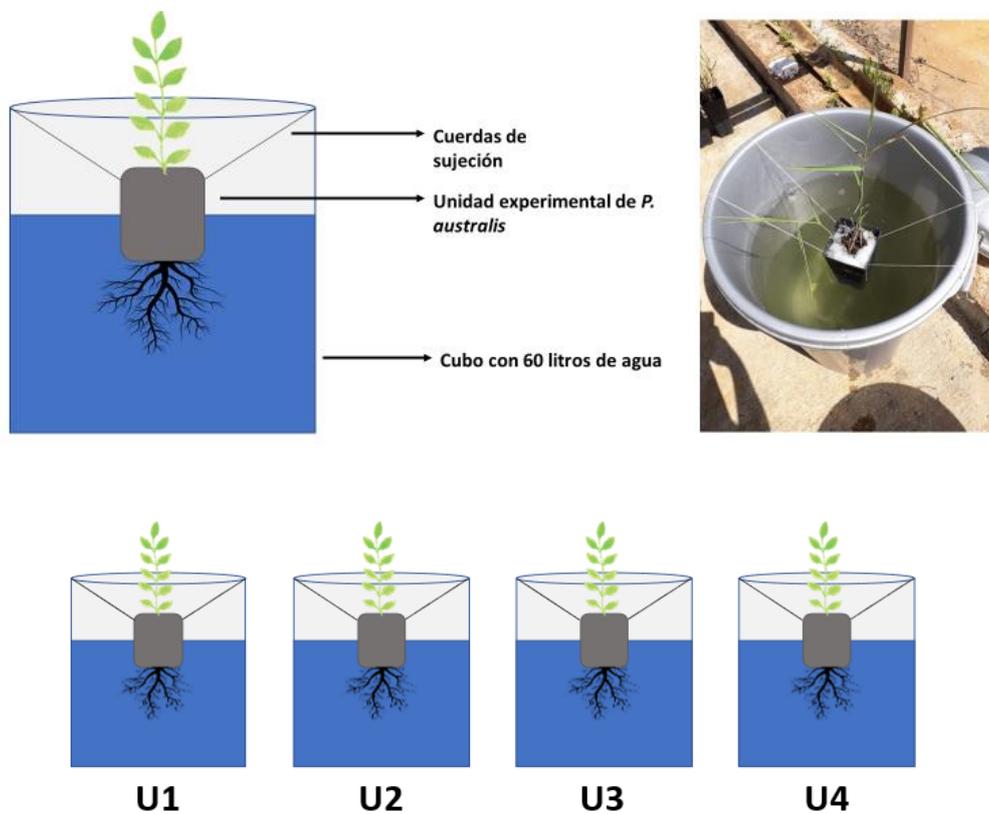


Figura 2.1. Estructura del experimento.



Figura 2.2. Localización del vivero (recuadro rojo) y de la acequia Nova.

Cada unidad experimental consta básicamente de un cubo, al que se le añadió 60 L de agua enriquecida en nutrientes, y un grupo de plantas de *P. australis* en una maceta que fue asegurada con cuerdas para mantener la flotación en el agua. Las cuerdas se atan en el cubo junto a la maceta para proporcionarle flotabilidad y estabilidad (figura 2.1). La maceta fue sumergida hasta la mitad para asegurar de que las raíces estuvieran en contacto directo con el agua. Previamente se le había retirado la tierra que llevaban consigo las macetas y añadido algodón de plástico para que tuvieran estabilidad. Además de todo esto, se le añade una tapa con un orificio para que las condiciones climáticas como la lluvia y viento afecten lo mínimo posible a nuestro experimento.

2.2 Obtención del *P. australis*

Para la obtención de las plantas se ha recurrido a un vivero “The Original Garden”, que está localizado en el municipio de Miramar, en el cual se obtuvieron los ejemplares de *P. australis* (figura 2.3) para la realización del experimento. Se utilizaron 4 macetas para los experimentos de absorción de nutrientes del agua y otras 4, que se analizaron al inicio del experimento, para estimar los niveles iniciales de N y P de las plantas. Así obtenemos 2 grupos de ejemplares de *P. australis*, donde al grupo 1, el cual no fue utilizado en el experimento, fue nombrado como “inicial” y el grupo 2, que fue utilizado en el experimento, fue nombrado como “final”.



Figura 2.3. Ejemplares de *Phragmites australis*.

2.3 Análisis del agua

Para realizar un seguimiento de los diferentes parámetros del agua se recurrió a mediciones y análisis con una frecuencia que se muestra en la siguiente tabla (tabla 2.1):

Tabla 2.1. Frecuencia de medición y análisis de los parámetros del agua.

Parámetros	Mediciones
Temperatura	Cada 3-4 días
Oxígeno disuelto	Cada 3-4 días
Conductividad	Cada 3-4 días
pH	Cada 3-4 días
Nitrito	Cada 15 días
Nitrato	Cada 15 días
Amonio	Cada 15 días
Fosfato	Cada 15 días
Silicio	Cada 15-30 días
Clorofila	Cada 15 días

2.3.1 Análisis de parámetros físico-químicos in situ del agua

La medición de los parámetros físico-químicos del agua se realizaba in situ mediante diferentes sondas que se introducían directamente en los cubos y el resultado se registraba en un bloc de notas (tabla 2.2).

Tabla 2.2. Instrumentos utilizados para medición de los parámetros físico-químicos.

Parámetros físico-químicos	Instrumento de medición
Temperatura (°C)	Oxímetro óptico "YSI"
Oxígeno disuelto (mg O ₂ /L)	
Oxígeno disuelto (%)	
Conductividad (μS/cm)	WTW pH/Cond 3320 SET 2
pH	

2.3.2 Análisis de nutrientes y clorofila del agua

Para el análisis de los nutrientes (nitrito, nitrato, amonio, fosfato y silicio) y la clorofila, se homogeneizaba el agua y se recogían muestras de agua de las 4 unidades mediante un recipiente de plástico el cual se cerraba y se transportaba hacia el laboratorio. Una vez allí, se filtraban 300 ml de cada unidad y se trasladaban 50 ml a 5 frascos de polipropileno marcados con: nombre del nutriente, número de la unidad y fecha de la recogida de la muestra. Después de ser marcados, todas las muestras se congelaban para su posterior análisis, a excepción del amonio que tenía que ser analizado el mismo día de haber tomado la muestra.

Los métodos de análisis de los nutrientes y la clorofila que se realizaron en el laboratorio fueron los siguientes:

- **Nitrito**

La determinación del nitrito se basa en la reacción clásica de Griess, donde el ion nitrito es diazotado con sulfanilamida para producir un compuesto azo, el cual con presencia de diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina forma un compuesto azoico altamente coloreado,

cuya absorbancia se mide espectrofotométricamente a 543 nm (Bendschneider y Robinson, 1952).

- **Nitrato**

En este método se determina los nitratos en el agua mediante la reducción del nitrato a nitrito, donde para ello se utiliza una columna reductora de Cu/Cd en un medio básico (pH = 8,5). Posteriormente deberemos determinar la concentración de nitrito mediante el método de Bendschneider y Robinson (1952). Finalmente, para saber la concentración de nitratos debemos restar la concentración de nitritos que es obtenida a partir de la muestra sin pasar por la columna (Grasshof, 1976).

- **Amonio**

El amonio se determina en un medio alcalino donde el amonio disuelto reacciona con el hipoclorito, formando así una monocloramina. La monocloramina, en presencia de fenol y un exceso de hipoclorito, forma azul de indofenol. La reacción es catalizada por el ión nitroprusiato y la adición de citrato trisódico elimina la interferencia de Ca y Mg (Solórzano, 1969).

- **Nitrógeno inorgánico disuelto (NID):** Se obtuvo sumando las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato.

- **Fosfato**

La determinación del fosfato se realiza provocando la formación de un complejo fosfomolibdico de color azul mediante la adición de molibdato amónico en un medio ácido. El ortofosfato reacciona con el molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio, en un medio ácido, para así formar un complejo de fosfomolibdato de antimonio. Este se verá reducido por el ácido

ascórbico y producirá el azul de molibdeno, el cual será susceptible de determinación colorimétrica (Murphy y Riley, 1962).

- **Silicio**

En este método para la determinación del ácido ortosilícico, se forma en un pH 1-2 un complejo entre el molibdato amónico y las formas monómera o dímera del ácido ortosilícico. A continuación, se reducirá este último con metanol para formar un complejo azul, el cual será susceptible de determinación colorimétrica (Mullin y Riley, 1955).

- **Clorofila**

Para determinar la concentración de clorofila en el agua se ha utilizado el método tricromático basado en espectroscopía visible (APHA et al.,2012). Para ello se congelan las membranas de acetato de celulosa, que se utilizaron para filtrar las muestras, con la finalidad de romper las células. A continuación, se introducen 6 ml de acetona al 90 % en agua con el 1 % en carbonato cálcico. Estas muestras se centrifugan y se traslada la solución que queda en la parte superior a otro tubo de ensayo. Finalmente se determina la densidad óptica de la muestra a distintas longitudes de onda (630, 647 y 664 nm) para determinar el contenido pigmentado, y a 750 nm para corregir la turbidez. Para calcular la concentración se utilizaron las ecuaciones de Jeffrey y Humphrey (1975).

2.4 Análisis de la biomasa, N y P total

- ❖ **Biomasa**

Los 4 ejemplares “iniciales” de *P. australis* se sacaron de las macetas y se le retiró la tierra. Posteriormente se introdujeron en la estufa durante 2-3 días a una temperatura de 80-90 °C para retirar toda el agua que hay en su interior. Una vez secas, fueron pesadas y se introdujeron en bolsas zip, respectivamente etiquetadas, y guardadas para su posterior uso. Los 4 ejemplares

“finales” fueron retirados del agua (figura 2.4) y se trasladaron al laboratorio para proceder a realizar el mismo proceso que se utilizó para los 4 ejemplares “iniciales”.



Figura 2.4. Retirada de los ejemplares “finales”.

❖ N y P total

Una vez que ya se tuvieron los ejemplares de “inicio” y “final” secos en las bolsas ZIP, se procedió a triturar el 100% de la biomasa obtenida mediante una trituradora para transformar cada ejemplar en polvo. Después pusimos cada ejemplar triturado en la estufa durante 2 días a 90 °C para asegurarnos que no había humedad y tener el polvo completamente seco. Sacamos los ejemplares triturados secos y se introdujeron separadamente en unos recipientes de plástico marcados para identificar que ejemplar era (inicio o final) y de que unidad (U1, U2, U3 o U4). Finalmente, con las plantas en forma de polvo, se procedió a la determinación de N y P total en la biomasa.

• Determinación de N total

Para el análisis de nitrógeno (N) en la biomasa de los *P.australis*, se realizó una digestión en medio ácido para transformar el N orgánico en NH_4^+ , continuado de una destilación para finalmente obtener una solución NH_4^+ (aq.). Este primer método es una adaptación del método semi-micro Kjeldahl 4500-N_{org}C para aguas (APHA et al.,2012). Posteriormente, el amonio es analizado por el método de Solórzano (1969), que ha sido usado anteriormente en el análisis de

amonio en las muestras. Con este método se determina la concentración de N a partir de la concentración de NH_4^+ de los destilados.

- **Determinación del P total**

La determinación del fósforo total de las plantas de *P. australis* se hizo en dos etapas. En la primera se realiza una digestión adaptando el método desarrollado por Valderrama (1981) para aguas. La segunda etapa consiste en determinar el fósforo total presente en la biomasa mediante el método de Murphy y Riley (1962), que es el mismo que se ha utilizado para determinar el fósforo presente en el agua.

2.5 Análisis de datos

Para analizar si existen diferencias significativas en los parámetros analizados en *P. australis* al inicio y final del experimento, se utilizó la prueba ANOVA en el Statgraphics.

La prueba de ANOVA es un análisis de la varianza que nos confirma la hipótesis de que las medias de dos o más poblaciones son iguales. En nuestro caso, ANOVA nos permite confirmar de si existe diferencia entre las concentraciones de nitrógeno, fósforo y biomasa del inicio y del final.

Para ello, los datos que vamos a introducir en la prueba ANOVA tienen que cumplir 2 condiciones:

- ✓ Los datos de la población deben de seguir una distribución normal.
- ✓ Debe existir homocedasticidad entre las varianzas.

Para comprobar la normalidad se recurrió a los coeficientes de sesgo y curtosis estandarizados. Si estos se encuentran entre +2 y -2 podemos decir que nuestros datos siguen una distribución normal.

Para comparar las varianzas se utilizó la prueba de verificación de varianza de Levene en el que se obtiene un p-valor en el que, si es menor de 0,05, se rechaza la hipótesis nula (H_0), por lo que las varianzas son diferentes, y si el p-valor es mayor de 0,05, se acepta la hipótesis nula (H_0) y las varianzas son iguales.

En el caso de que alguno de estos requisitos no se cumple, es posible la realización de diferentes transformaciones para solucionar este problema.

El problema que surgió en nuestro caso es que no se cumplía la homocedasticidad entre las varianzas de la biomasa, que es el segundo requisito obligatorio para realizar la prueba ANOVA. Se procedió a solucionar este problema transformando los datos al tipo Box-Cox utilizando el software Excel, las cuales se utilizan para corregir problemas de normalidad y homocedasticidad. Finalmente, después de realizar la transformación, no hubo ningún problema con la normalidad y homocedasticidad a la hora de realizar de nuevo la prueba ANOVA para la biomasa.

3. Resultados

3.1. Evolución de parámetros en el agua

A continuación, se va a presentar los resultados de los parámetros medidos en el agua, mediante instrumentos y métodos anteriormente explicados, durante los 93 días que ha estado el experimento en funcionamiento:

3.1.1 Temperatura

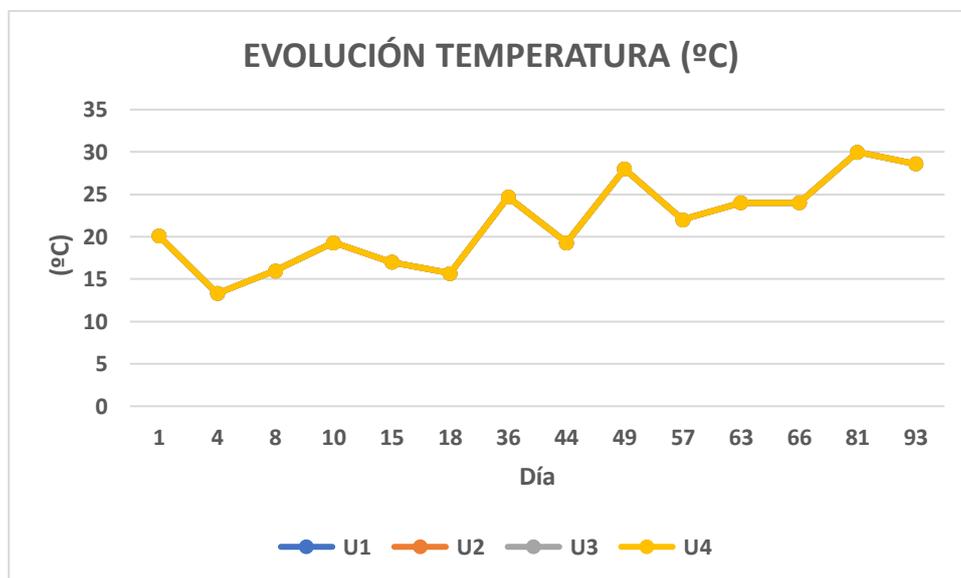


Figura 3.1. Evolución de la temperatura.

Se observa (figura 3.1) que la temperatura del agua de las 4 unidades experimentales va aumentando desde una temperatura de unos 20 °C hasta un pico máximo de unos 30 °C, lo que es totalmente lógico ya que el experimento se realiza durante los meses: marzo, abril, mayo, junio y julio donde en los últimos meses se produce un aumento de la temperatura ambiental. También se observa que los valores de las 4 unidades experimentales se superponen debido a que todas tienen la misma temperatura a la hora de tomar los datos.

3.1.2 Conductividad

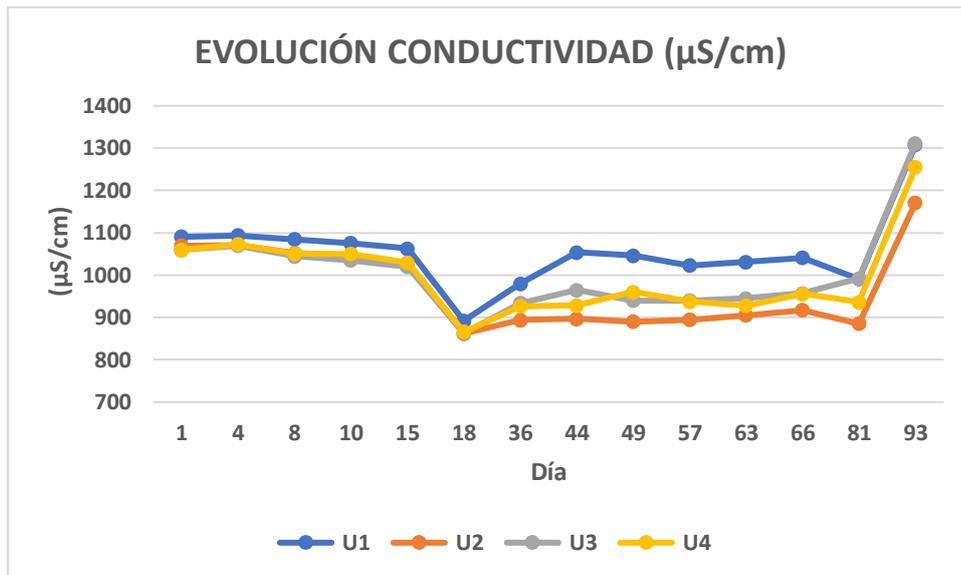


Figura 3.2. Evolución de la conductividad.

La conductividad (figura 3.2) inicial de las 4 unidades experimentales es de un promedio de 1070 ($\mu\text{S/cm}$), pero en el día 18 se reduce hasta los 870 ($\mu\text{S/cm}$). A continuación, la conductividad va aumentando hasta llegar al día 93 con 1261 ($\mu\text{S/cm}$) de promedio de las 4 unidades.

3.1.3 pH

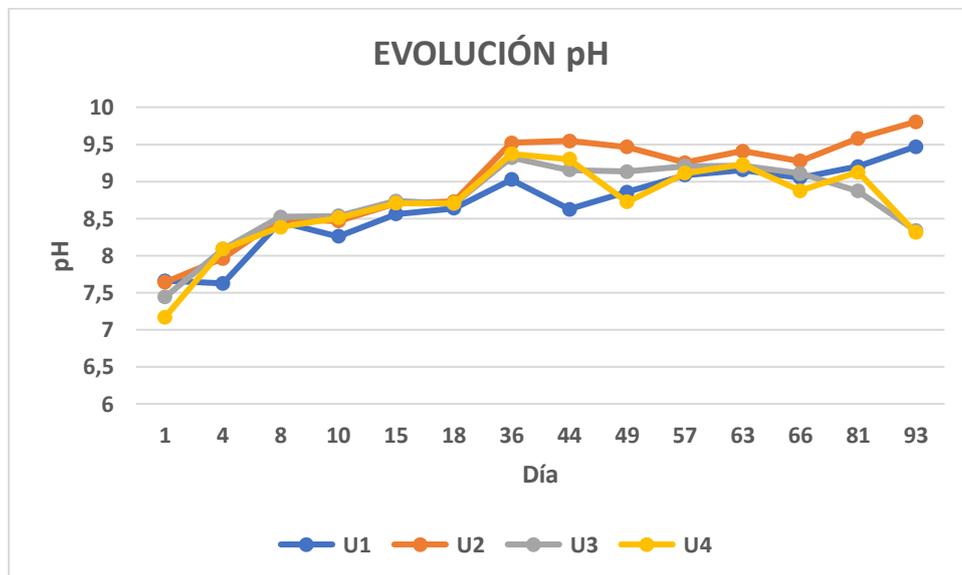


Figura 3.3. Evolución del pH.

La evolución del pH (figura 3.3) tiende a aumentar durante todo el transcurso del experimento, donde las 4 unidades experimentales empiezan con un pH alrededor de 7,5 y el día 93 las unidades 1 y 2 acaban con un pH de 9,6 de promedio y las unidades 3 y 4 con 8,3 de pH.

3.1.4 Oxígeno Disuelto

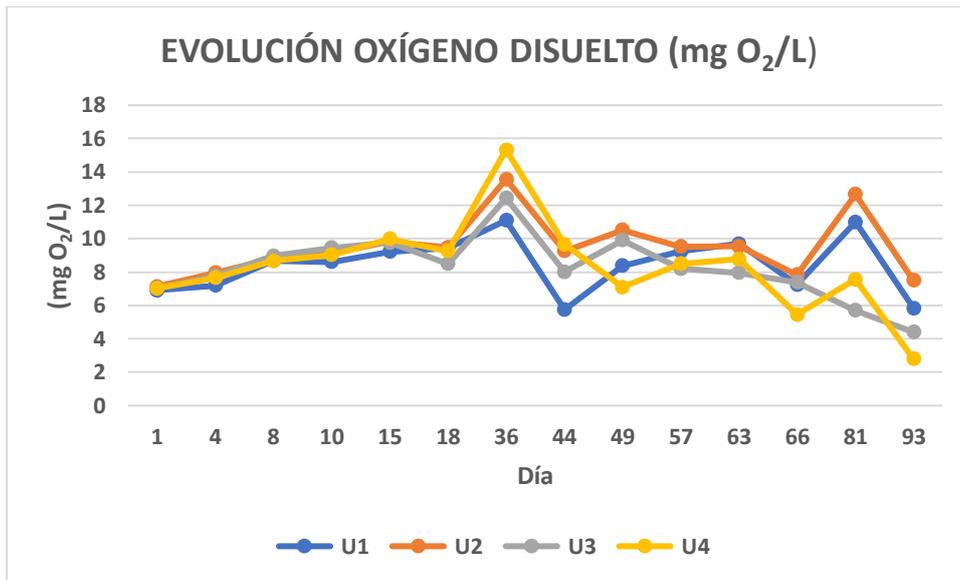


Figura 3.4. Evolución del oxígeno disuelto.

En esta figura (figura 3.4) se observa que en las 4 unidades experimentales aumenta moderadamente el OD que va desde los 7,0 mg O₂/L hasta unos 9,3 mg O₂/L el día 18. A continuación, el día 36 se produce un aumento del OD, de una forma marcada en cada unidad, donde la unidad con menor aumento (U1) tiene un valor de OD de 11,1 mg O₂/L y la unidad con mayor aumento (U4) tiene un valor de OD de 15,3 mg O₂/L. Después en el día 44 se produce una disminución en todas las unidades. Entre los días 44 y 63 la concentración de OD en las unidades aumenta y disminuye, pero se mantienen con relativa estabilidad, hasta que llega el día 81 en el cual las unidades U1, U2 y U4 aumentan y la unidad U3 sigue disminuyendo. Finalmente, en el día 93 las 4 unidades experimentales disminuyen.

3.1.5. Nutrientes

- **Amonio**

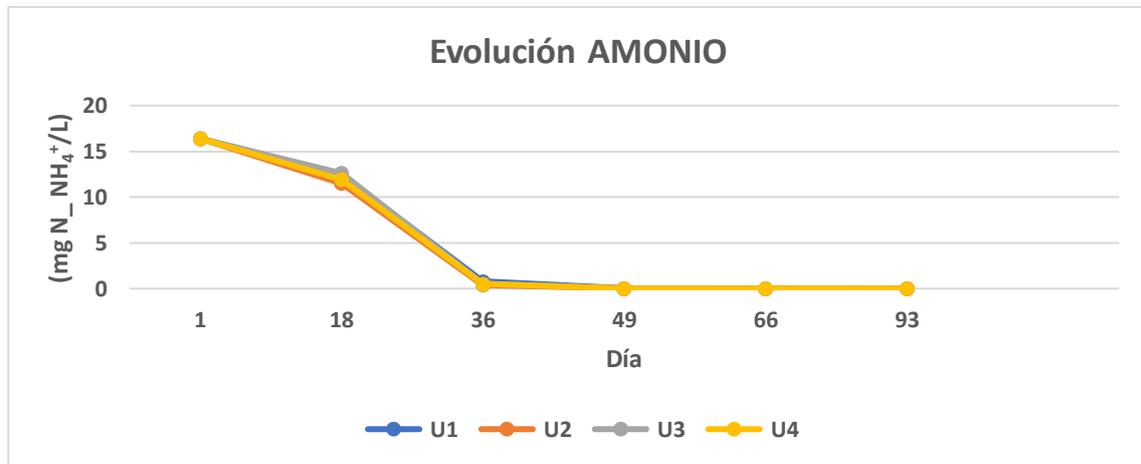


Figura 3.5. Evolución del amonio.

En la figura 3.5 se observa que el amonio disminuye en las 4 unidades experimentales de una forma muy rápida, ya que en 36 días pasa de una concentración de 16,4 mg N_ NH₄⁺/L a 0,6 mg N_ NH₄⁺/L. Desde el día 36 hasta el 93 (final del experimento) se mantiene con esa concentración mínima de amonio.

- **Nitrito**

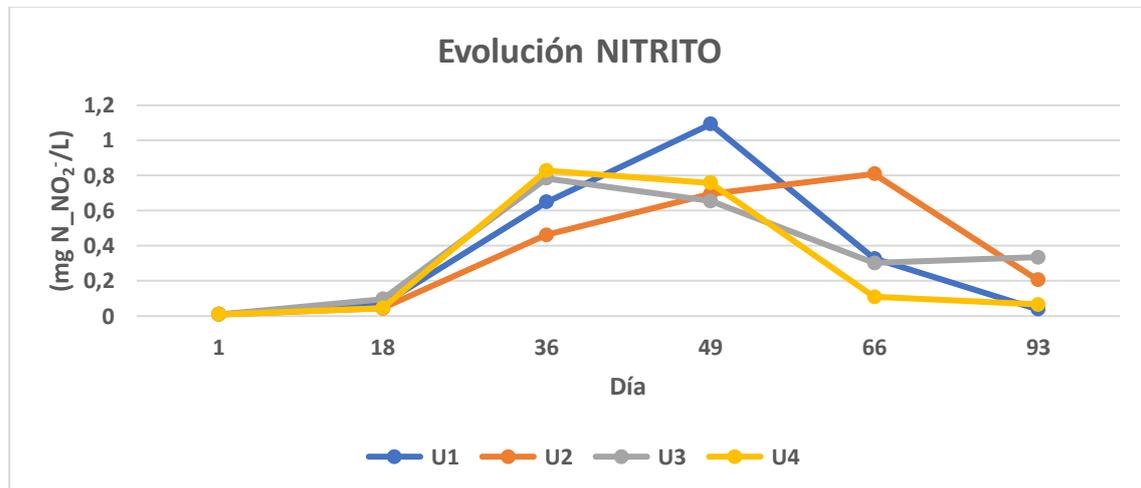


Figura 3.6. Evolución del nitrito.

La evolución del nitrito (figura 3.6) comienza con un ligero aumento hasta el día 18 (igual en las 4 unidades) que pasa de los 0,009 mg N_ NO₂⁻/L a los 0,063 mg N_ NO₂⁻/L. A partir del día 18 se producen unos picos, que alcanzan su máximo en distintos días en cada unidad, que finalmente terminan en valores bajos el día 93.

- **Nitrato**

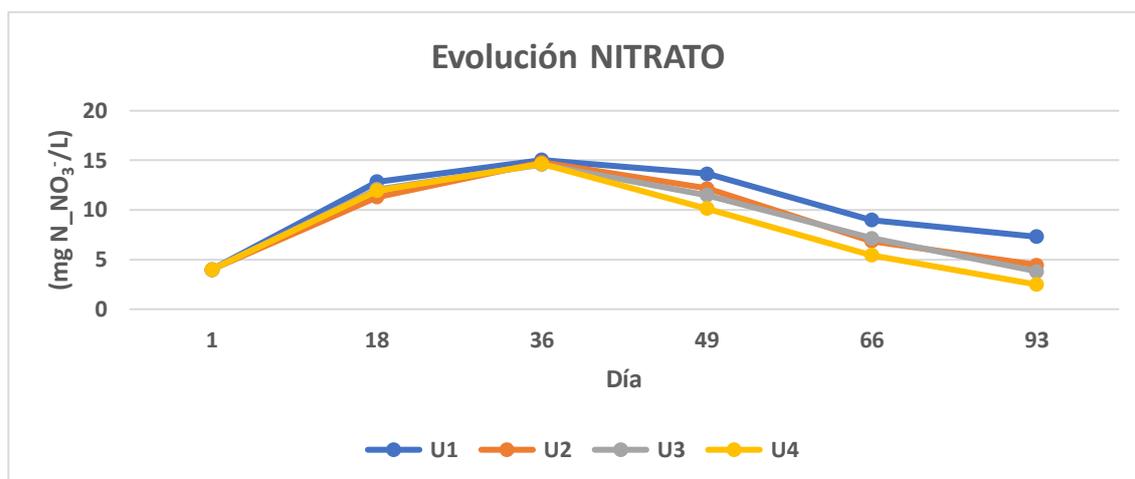


Figura 3.7. Evolución del nitrato.

En esta figura (figura 3.7) se observa que el nitrato tiene una evolución mucho más estable que la del nitrito (figura 3.6), donde en las 4 unidades el nitrato aumenta de manera casi idéntica con 4,2 mg N_{NO₃⁻/L el día 1 hasta el día 36 con una concentración de 14,8 mg N_{NO₃⁻/L. A partir de esta fecha las concentraciones de nitrato en las diferentes unidades van disminuyendo hasta el final del experimento (día 93) de manera semejante, pero con un rango de diferencia más amplio. Las concentraciones finales de las diferentes unidades es la siguiente: 7,3 mg N_{NO₃⁻/L (U1), 4,5 mg N_{NO₃⁻/L (U2), 3,8 mg N_{NO₃⁻/L (U3) y 2,5 mg N_{NO₃⁻/L (U4).}}}}}}

- **NID**

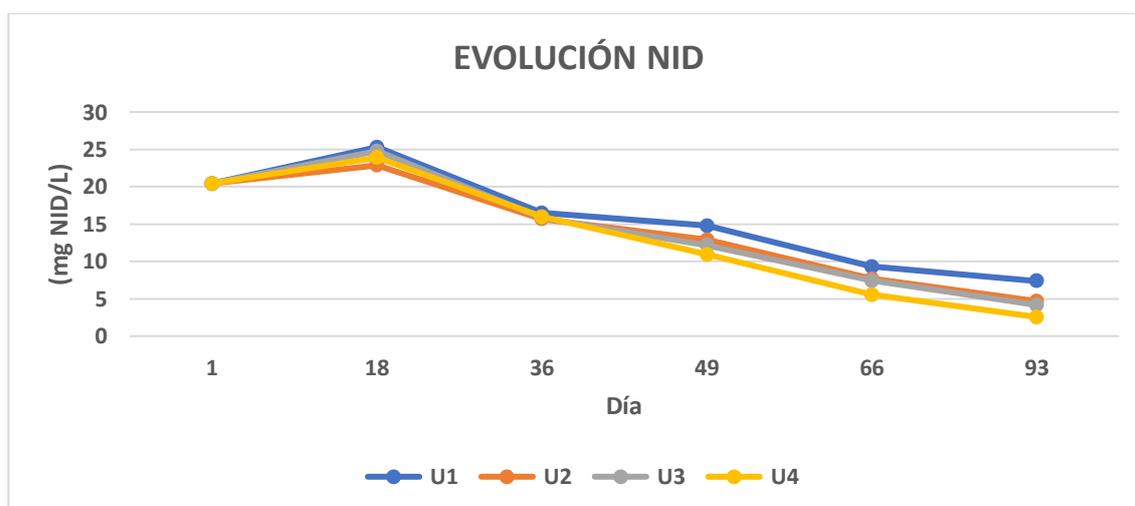


Figura 3.8. Evolución del NID.

El NID (figura 3.8) aumenta hasta el día 18 de manera muy pareja en las 4 unidades, donde se empieza con una concentración de 20,4 mg NID/L y el mayor aumento se produce en la U1 con una concentración de 25,3 mg NID/L. Después se produce una disminución similar en las 4 unidades, donde las concentraciones finales son las siguientes: 7,3 mg NID/L (U1), 4,7 mg NID/L (U2), 4,2 mg NID/L (U3) y 2,5 mg NID/L (U4).

- **Fosfato**

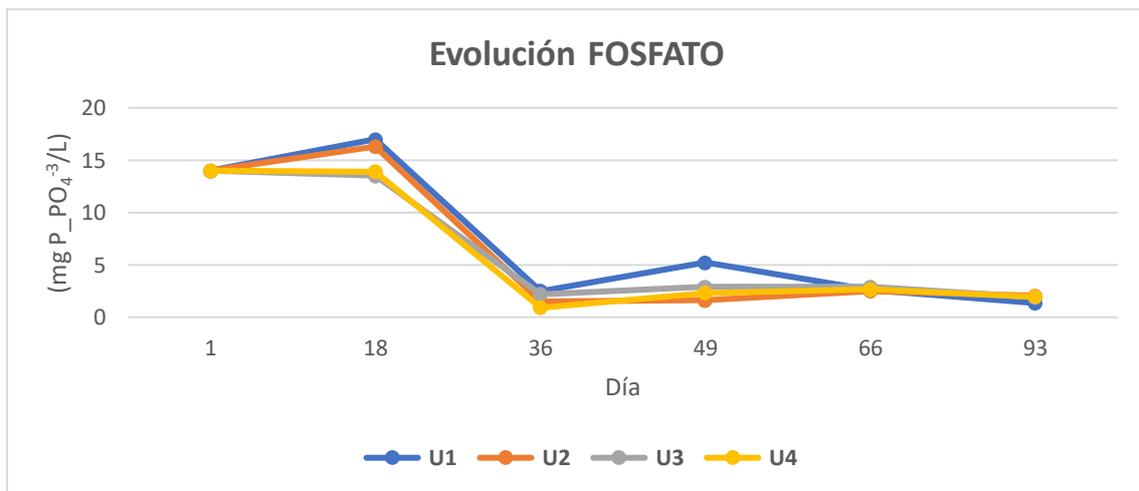


Figura 3.9. Evolución del fosfato.

La evolución del fosfato (figura 3.9) empieza con una concentración en las 4 unidades de 14 mg P_{PO₄³⁻/L, donde hasta el día 18 mantiene una tendencia a aumentar en las unidades 1 y 2 que llegan hasta una concentración de unos 16,5 mg P_{PO₄³⁻/L, mientras que las unidades 3 y 4 tiene una tendencia a disminuir hasta los 13,6 mg P_{PO₄³⁻/L. Del día 18 al 36 se produce una disminución muy acentuada, donde las 4 muestras llegan a tener una concentración alrededor de los 1,7 mg P_{PO₄³⁻/L. A continuación, se mantienen en niveles bajos llegando el día 93 con una concentración de las 4 unidades de alrededor de 1,8 mg P_{PO₄³⁻/L.}}}}}

- **Silicio**

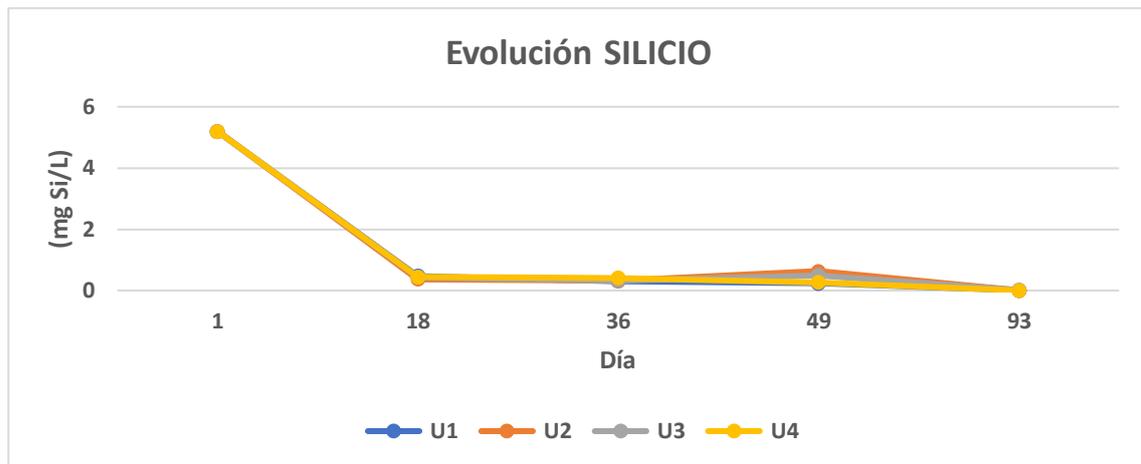


Figura 3.10. Evolución del silicio.

La evolución del silicio (figura 3.10) es muy clara, donde empezamos con una concentración de 5,200 mg Si/L el día 1 en las 4 unidades y en el día 18 la concentración ha disminuido alrededor de los 0,420 mg Si/L en las 4 unidades. Desde este día, la concentración de silicio disminuye muy ligeramente hasta el final del experimento, donde las unidades acaban el día 93 con una concentración de alrededor de los 0,008 mg Si/L.

3.1.6 Clorofila

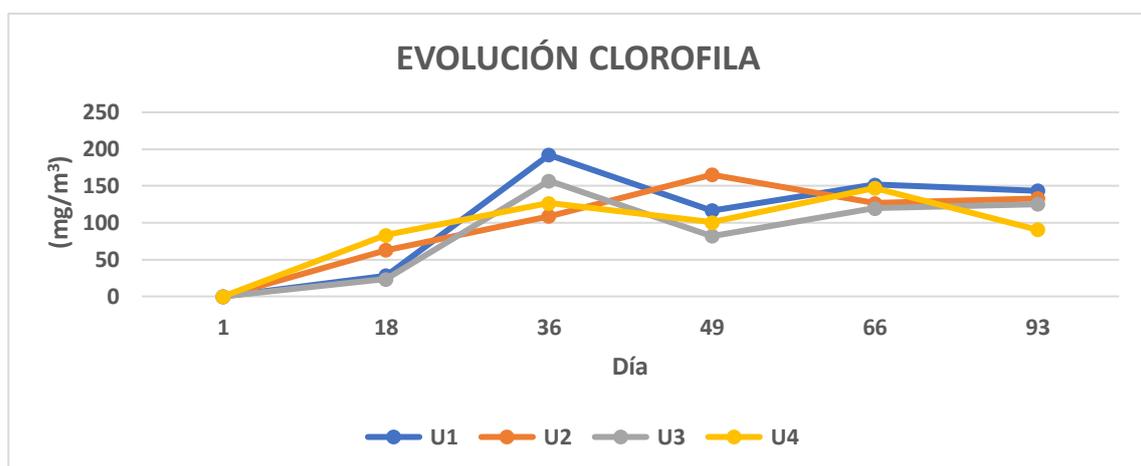


Figura 3.11. Evolución de la clorofila.

La clorofila (figura 3.11) empezó a analizarse el día 18 del experimento, debido al marcado cambio de coloración del agua de las distintas unidades experimentales a causa del crecimiento

de microalgas. Podemos asumir que el día 1 del experimento la concentración de clorofila era cercana a cero ya que el agua de cada unidad experimental fue preparada con agua de la acequia “Nova” más la adición de fertilizante sólido. Dicho esto, la concentración de clorofila en las unidades aumenta a unas concentraciones de: 28,1 mg/m³ (U1), 62,9 mg/m³ (U2), 23,3 mg/m³ (U3) y 83,5 mg/m³ (U4) en el día 18. Las unidades 1 y 3 aumentan mucho más rápido el día 36 (192,1 mg/m³ (U1) y 157,1 mg/m³ (U3)), mientras que las unidades 2 y 4 tienen una tendencia a aumentar más pausada, donde la concentración máxima de la unidad 2 se produce el día 49 con 165,2 mg/m³ y la unidad 4 el día 66 con 147,2 mg/m³. Al final del experimento (día 93) las concentraciones finales de clorofila en el agua son las siguientes: 143,8 mg/m³ (U1), 133,2 mg/m³ (U2), 125,4 mg/m³ (U3) y 90,5 mg/m³ (U4).

3.2. Biomasa, N y P total en *P. australis*

En este punto se va a comparar los datos de inicio y final del nitrógeno y fósforo total en tanto por cien (%) y la biomasa en gramos (g). En la tabla 3.1 se muestran los valores promedios y las desviaciones estándar para cada uno de ellos.

Tabla 3.1. Datos de Biomasa, N y P total.

Parámetro	Unidad	Periodo	Promedio	Desviación estándar
Biomasa	g	Inicio	30,25	3,30
		Final	50,75	6,24
NT	%	Inicio	0,63	0,21
		Final	0,85	0,13
PT	%	Inicio	0,82	0,13
		Final	1,26	0,27

- **Biomasa**

Se observa en la tabla anterior (tabla 3.1) la biomasa en seco de las muestras del inicio y final. El promedio de la biomasa del inicio es de 30,25 gramos con una desviación estándar de 3,30. El promedio de la biomasa en las muestras del final es de 50,75 gramos con una desviación estándar de 6,24.

Tabla 3.2. Verificación de Varianza de la biomasa.

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	8,33333	0,0278

A la hora de comprobar si los requisitos de distribución normal y homocedasticidad son correctos, observamos que la prueba de verificación de la varianza (tabla 3.2) indicó existía una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar. Por lo tanto, se recurre a la transformación Box-Cox de los datos mediante el programa Excel.

Una vez realizada la transformación de los datos y comprobar que se cumple tanto el criterio de normalidad como el de homocedasticidad, se procedió a volver a realizar la prueba ANOVA con Statgraphics con los nuevos datos.

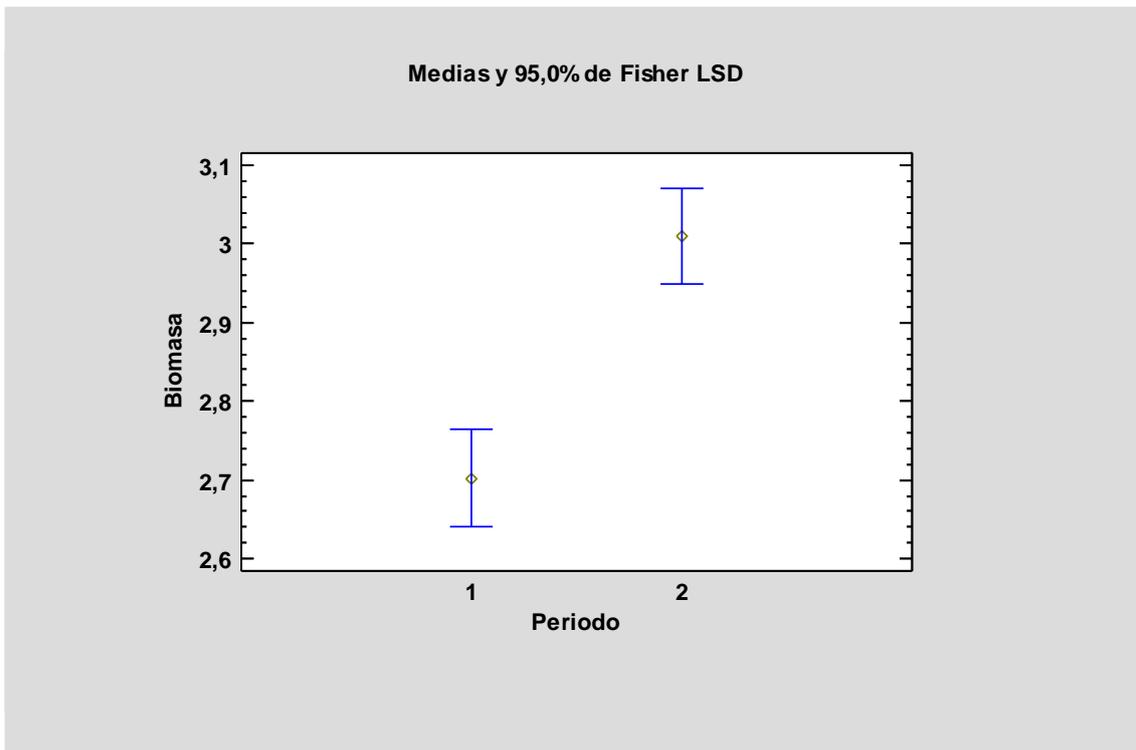


Figura 3.12. Medias de inicio y final de biomasa (Box-Cox).

Tabla 3.3. ANOVA para Biomasa por Periodo.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,189113	1	0,189113	37,98	0,0008
Intra grupos	0,029875	6	0,00497917		
Total (Corr.)	0,218988	7			

Observamos que en la tabla de ANOVA (tabla 3.3) el valor-P es de 0,0008, lo que indica existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Biomasa entre las muestras al inicio y al final. Esto se puede comprobar en la figura 3.12 donde las barras de error no se superponen y están a una distancia entre ellas respecto al eje y.

- **Nitrógeno total**

En esta tabla se observan los datos obtenidos tanto del inicio como del final del nitrógeno (%) presente en la biomasa del *P. australis* (tabla 3.1). Se observa que ha habido un aumento de nitrógeno en las muestras que han participado en el experimento, donde su promedio es de 0,85 %N mientras las muestras que no han participado tienen un promedio de 0,63 %N.

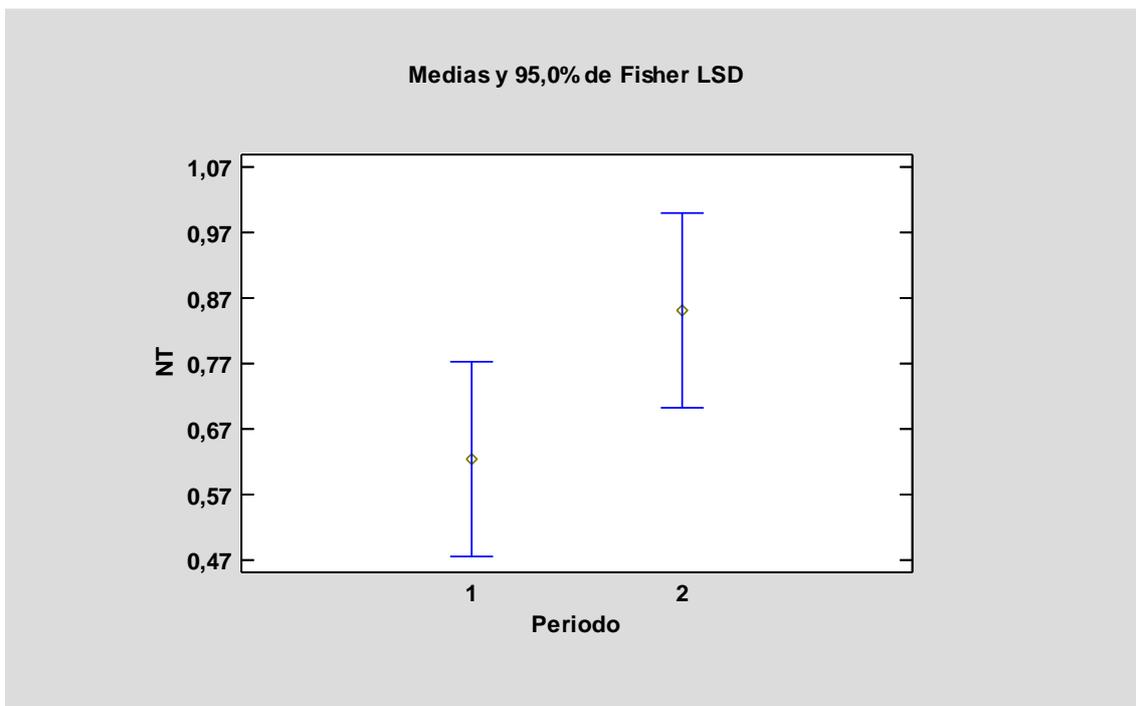


Figura 3.13. Medias de inicio y final de nitrógeno total.

Tabla 3.4. ANOVA para nitrógeno total por Periodo.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,10125	1	0,10125	3,42	0,1138
Intra grupos	0,1775	6	0,0295833		
Total (Corr.)	0,27875	7			

Para analizar si había diferencias significativas entre los valores de NT inicio y final, una vez comprobado que se cumplen los dos requisitos de ANOVA, se observa, en la tabla 3.4, que el valor-P es de 0,1138 lo que nos indica que es mayor que 0,05, y por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de NT entre periodo 1 (inicio) y periodo 2 (final). Esto también se puede comprobar en la figura 3.13 donde se observa perfectamente que las dos barras de error se superponen respecto al eje y.

Por lo tanto, el tratamiento estadístico de los datos con la prueba ANOVA nos indica que no existe una diferencia significativa entre la media del nitrógeno total y el inicio y final.

- **Fósforo total**

La concentración de fósforo total (tabla 3.1) ha aumentado entre el inicio y final, donde el promedio del inicio es de 0,82 %P y el final es de 1,26 %P.

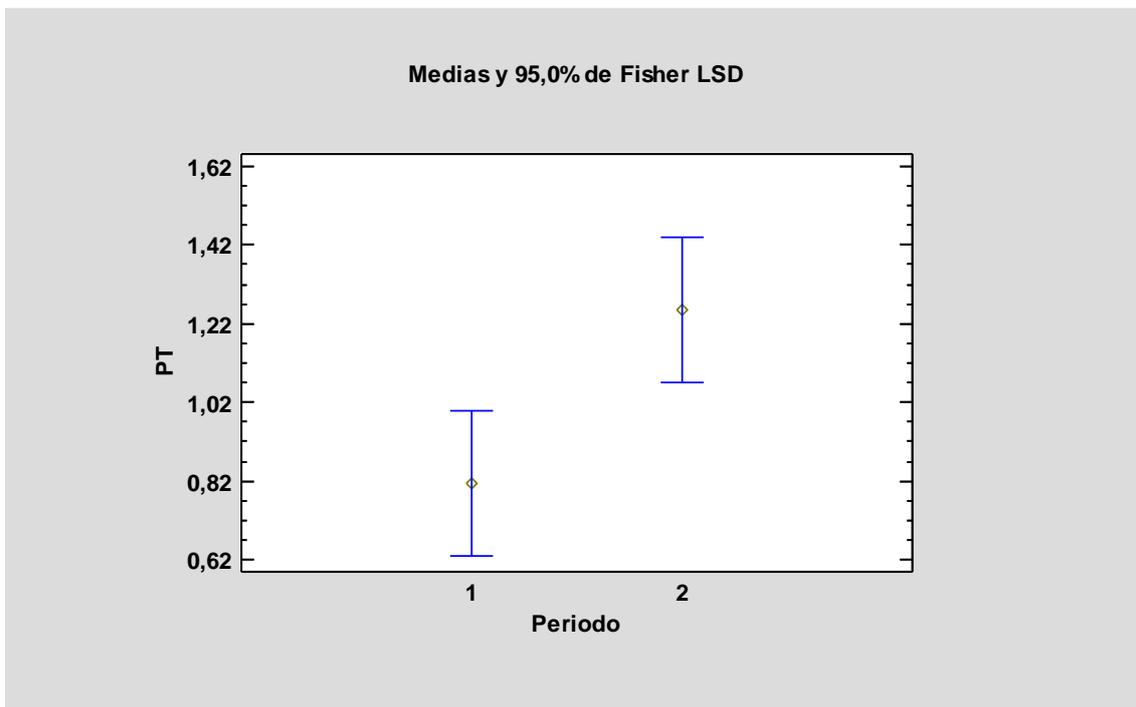


Figura 3.14: Medias de inicio y final del fósforo total.

Tabla 3.5. ANOVA para fósforo total por Periodo.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,3872	1	0,3872	8,42	0,0273
Intra grupos	0,2758	6	0,0459667		
Total (Corr.)	0,663	7			

El análisis estadístico indicó que existe una diferencia significativa entre las concentraciones de fósforo total entre las muestras del inicio y las muestras del final (Valor-P= 0,0273) (tabla 3.5). Esto se puede observar más fácilmente la figura 3.14 donde las barras de error no llegan a superponerse respecto al eje y.

3.3. Balance de N y P

3.3.1. Estimación de N en la biomasa de carrizo y en el agua

- **Biomasa**

En el inicio del experimento el promedio de la biomasa de las muestras de *P. australis* es de 30,25 g y al final es de 50,75 g con una concentración de nitrógeno inicial de 0,625 % y final de 0,85 % (tabla 3.1). Por lo tanto, en nitrógeno que había en la biomasa al inicio del experimento (N_i) era:

$$N_i: \frac{(30,25 \text{ g} \cdot 0,625 \%) }{100} = 0,189 \text{ g}$$

Y el nitrógeno final (N_f) era

$$N_f: \frac{(50,75 \text{ g} \cdot 0,85 \%) }{100} = 0,431 \text{ g}$$

Podemos obtener por tanto el nitrógeno acumulado por el *P. australis* y el aumento de la biomasa:

$$N_{ac} : N_f - N_i \rightarrow 0,431 \text{ g} - 0,189 \text{ g} = \mathbf{0,24g}$$

$$\Delta \text{Biomasa}: 50,75 \text{ g} - 30,25 \text{ g} = 20,5 \text{ g}$$

Ahora podemos calcular el nitrógeno que podríamos acumular en un kilogramo de nuevo crecimiento:

$$\frac{0,242 \text{ g} \cdot 1000 \text{ g}}{20,5 \text{ g}} = 11,8 \frac{\text{g de N}}{1 \text{ kg Biomasa}}$$

Con este resultado sabemos que con el experimento se ha conseguido realizar una acumulación de 11,8 g de nitrógeno por 1 kg de biomasa que ha crecido.

- **Agua**

En este apartado, vamos a obtener el balance entre el día 1 y el 93. El volumen de agua que se ha utilizado en el experimento es de 60 litros. Con este dato y los resultados de la concentración de nitrógeno en el agua en los días 1 y 93 (figura 3.8) se pueden realizar los cálculos para saber cuánto nitrógeno hay en los 60 litros. Cabe informar que las concentraciones que se van a utilizar ahora es el promedio de NID las 4 unidades.

$$\text{Día 1: } 20,425 \frac{\text{mg N}}{\text{l}} \cdot 60 \text{ l} = 1225,5 \text{ mg de N} \rightarrow 1,22 \text{ g N}$$

$$\text{Día 93: } 4,69 \frac{\text{mg N}}{\text{l}} \cdot 60 \text{ l} = 281,4 \text{ mg de N} \rightarrow 0,28 \text{ g N}$$

Con el cálculo realizado obtenemos que el día 1 hay una cantidad de 1,22 g de nitrógeno y el día 93 hay 0,2814 g de nitrógeno en los 60 litros. Con estos datos se obtienen la cantidad de N eliminado del agua:

$$\Delta N : 0,28 \text{ g N} - 1,22 \text{ g N} = -0,94 \text{ g N}$$

3.3.2. Estimación de P en la biomasa de carrizo y en el agua

- **Biomasa**

Para realizar el balance del fósforo en la biomasa, se va a utilizar el mismo método que se ha utilizado con el nitrógeno. La concentración inicial de fósforo es de 0,82 % y 1,26 % la concentración final (tabla 3.1). Por lo tanto:

$$P_i: \frac{(30,25 \text{ g} \cdot 0,82 \%) }{100} = 0,25 \text{ g}$$

$$P_f: \frac{(50,75 \text{ g} \cdot 1,26 \%) }{100} = 0,64 \text{ g}$$

Con esto, se obtiene el fósforo acumulado por el *P. australis* y el aumento de la biomasa:

$$P_{ac} : P_f - P_i \rightarrow 0,64 \text{ g} - 0,25 \text{ g} = \mathbf{0,39 \text{ g}}$$

$$\Delta \text{Biomasa}: 50,75 \text{ g} - 30,25 \text{ g} = 20,5 \text{ g}$$

Ahora podemos calcular el fósforo que podríamos acumular en un kilogramo de biomasa que ha crecido en nuestro experimento:

$$\frac{0,391 \text{ g} \cdot 1000 \text{ g}}{20,5 \text{ g}} = 19,07 \frac{\text{g de P}}{1 \text{ kg Biomasa}}$$

- **Agua**

El volumen del agua son 60 litros como con el nitrógeno, con este dato y los resultados de la concentración de fósforo en el agua en los días 1 y 93 (figura 3.9) se pueden realizar los cálculos para saber cuánto fósforo había en los 60 litros al inicio y final del experimento. Cabe informar que las concentraciones que se van a utilizar ahora es el promedio de las 4 unidades.

$$\text{Día 1: } 14 \frac{\text{mg P}}{\text{l}} \cdot 60 \text{ l} = 840 \text{ mg de P} \rightarrow 0,84 \text{ g P}$$

$$\text{Día 93: } 1,8125 \frac{\text{mg P}}{\text{l}} \cdot 60 \text{ l} = 108,75 \text{ mg de P} \rightarrow 0,11 \text{ g P}$$

Con el cálculo realizado obtenemos que el día 1 hay una cantidad de 0,84 g y el día 93 hay 0,11 g de fósforo. Con estos datos se obtiene la cantidad de P que es eliminada del agua:

$$\Delta P : 0,11 \text{ g P} - 0,84 \text{ g P} = -0,73 \text{ g P}$$

3.3.3. Estimación de N y P en microalgas

Como se ha explicado anteriormente, se realizó un análisis de la clorofila en el agua, debido a que a partir del día 18 aparecieron microalgas en el agua (figura 3.11), por ello se decidió realizar un control sobre la evolución de la clorofila en el agua. Se asume que el día 1 hay una concentración de $0 \frac{\mu\text{g clorofila}}{\text{litro}}$ mientras que el día 93 tenemos el valor promedio de las 4 unidades experimentales $123,23 \frac{\mu\text{g clorofila}}{\text{litro}}$. Para saber cuánto hay en los 60 litros, se procede a este cálculo:

$$\text{Ch 1: } \sim 0 \frac{\mu\text{g clorofila}}{\text{l}} \cdot 60 \text{ l} = 0 \mu\text{g clorofila} \rightarrow 0 \text{ g Ch}$$

$$\text{Ch 93 : } 123,23 \frac{\mu\text{g clorofila}}{\text{l}} \cdot 60 \text{ l} = 7393 \mu\text{g clorofila} \rightarrow 0,00739 \text{ g Ch}$$

$$\Delta \text{Ch} : 0,00739 \text{ g Ch} - 0 \text{ g Ch} = 0,00739 \text{ g Ch}$$

Se observa que ha habido un aumento de 0,00739g de clorofila entre el día 1 y el 93. Por lo tanto, este sería el crecimiento de la biomasa producido por las microalgas.

En principio, la reducción de nitrógeno y fósforo presente en el agua era debido a la absorción del *P. australis*, pero debido a la presencia de microalgas, se realizó una estimación para determinar cuánto nitrógeno y fósforo ha sido consumido por estas microalgas.

Para realizar estos cálculos, tenemos que determinar cuánto carbono hay en la clorofila. La relación que se va a utilizar es la de Ciotti et al., (1995):

$$\frac{C}{Clorofila} = 50$$

$$C = 50 \cdot Clorofila$$

$$Carbono\ en\ algas = 50 \cdot 0,00739\ g\ Ch = 0,3695\ g\ C$$

Una vez determinada la cantidad de C a partir de la cantidad de microalgas, ahora hay que determinar cuánto nitrógeno y fósforo hay en las microalgas, por ello se recurre a la relación de carbono, nitrógeno y fósforo de Redfield et al (1963) donde la relación es la siguiente:

Tabla 3.6. Relación C, N y P de las microalgas.

Elemento	C	N	P
Relación	106	16	1

Con esta relación (tabla 3.6) se puede obtener la cantidad de nitrógeno y fósforo que las microalgas han extraído del agua mediante estos cálculos:

$$N: \frac{0,3695\ g\ C \cdot 16}{106} = 0,056\ g\ N$$

$$P: \frac{0,3695\ g\ C \cdot 1}{106} = 0,003\ g\ P$$

Los resultados del balance nos indican que ha habido un cambio de concentración en el agua del N y P:

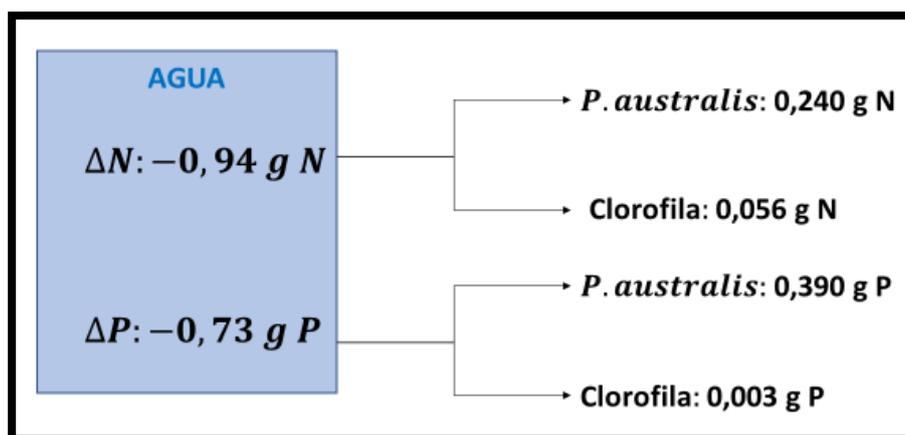


Figura 3.15. Cantidad retirada de N y P del agua por *P. australis* y clorofila.

En la figura 3.15 se observa la cantidad retirada de N y P del agua por el *P. australis* y la clorofila de las microalgas presentes. De la cantidad inicial de N en el agua (1,22 g) se retiró 0,94 g lo que representa un 77% de remoción. De este 77%, *P. australis* retiró del agua 0,242 g de N (20%) y mientras que la clorofila retiró 0,056 g de N (5%). Respecto a la cantidad inicial del P (0,84 g), se retiró 0,73 g, que representa un 87% de remoción. De este 87%, *P. australis* retiró del agua 0,390 g de P (46%) y la clorofila retiró 0,003 g de P (0,4%).

Tabla 3.7. Cantidad de nutrientes de N y P retirado por *P. australis*, clorofila y desconocido.

	Nutrientes retirados del agua (g)	Nutrientes retirados por: (g)		
		<i>P. australis</i>	Clorofila	Desconocido
N	-0,94	0,24	0,056	0,642
P	-0,73	0,39	0,003	0,337

Finalmente se observa en la tabla 3.7 que 0,642 g de N, que supone un 53%, fue retirado por factores desconocidos. También 0,337 g de P, que supone un 40%, también fue por factores desconocidos.

4. Discusión

Durante los 93 días que duró el experimento, la calidad del agua sufrió diferentes cambios en los parámetros físico-químicos analizados. La temperatura (figura 3.1) tuvo un aumento constante que siguió una pauta acompasada a la temperatura atmosférica. En la conductividad (figura 3.2) se observa, en todas las unidades experimentales, un descenso notorio entre el día 15 y 18, probablemente debido a las precipitaciones producidas entre los días 15 y 16 de abril, y un incremento, que fue muy marcado a partir del día 81, producido por las altas temperaturas que rondaban los 30 °C provocando la evaporación y concentración de las sales, aumentando así la conductividad. El aumento del pH (figura 3.3) observado está relacionado con el alto crecimiento de la clorofila (figura 3.11) producido en el agua durante el experimento. Esto es debido a que la actividad fotosintética, producida por el crecimiento de microalgas, altera los valores del pH por retirar el CO_2 y HCO_3^- de la disolución (Rodríguez Martínez, 2016). Respecto al oxígeno disuelto (figura 3.4), los valores aumentaron hasta el día 36 y luego disminuyeron, siendo, su concentración, consecuencia del resultado del balance de procesos, biológicos y físicoquímicos, que incorporan y eliminan oxígeno del medio. Procesos biológicos, como la producción primaria, produce un aumento de oxígeno durante la actividad fotosintética (Rodríguez Martínez, 2016). Por el contrario, la temperatura (figura 3.1) afecta a la cantidad de oxígeno disuelto en el agua donde a mayor temperatura, menor es la solubilidad del oxígeno. Así, si la temperatura aumenta, el agua se sobresatura de oxígeno y se establece un flujo neto hacia la atmosfera (Rodríguez Martínez, 2016).

Los compuestos nitrogenados (NID) (figura 3.8) han disminuido a lo largo del experimento como consecuencia de la absorción por parte del *P. australis* y de la clorofila que han retirado nitrógeno del agua, pero se observa un pequeño aumento el día 18. Esto podría haber sido causado por la incompleta disolución del fertilizante sólido añadido al agua. A partir del día 18 el descenso ha sido constante hasta el día 93. Los máximos niveles de amonio, nitrito y nitrato (figuras 3.5, 3.6 y 3.7) se observan en distintos momentos, donde el amonio disminuye durante el primer mes no solo por la absorción de *P. australis* y de la clorofila, sino porque es transformado a nitrito y después a nitrato a través de bacterias quimiolitotróficas aeróbicas mediante el proceso de la nitrificación (Rodríguez Martínez, 2016). La concentración de fósforo en el agua también disminuye debido a la absorción por parte del *P. australis* y de la clorofila, pero como con el NID, se observa que el día 18 aumenta y es debido, como se ha explicado anteriormente, a la incompleta disolución del fertilizante sólido añadido al agua. Sin embargo,

la disminución de P (figura 3.9) fue máxima entre los días 18 y 36 del experimento manteniéndose luego en valores bajos hasta el final. Respecto al silicio (figura 3.10), se consumió muy rápidamente y se mantuvo en valores muy bajos hasta el final del experimento. Esto pudo ser un factor limitante para el crecimiento de las plantas ya que tanto para el *P. australis* como algunas especies fitoplanctónicas como las diatomeas, el silicio es necesario para su crecimiento y desarrollo (Raya Pérez y Aguirre Mancilla, 2012).

La biomasa del *P. australis* (tabla 3.1) aumento un 67% respecto a la biomasa inicial en un periodo de 3 meses. El aumento de la biomasa lo calculamos comparando el peso en seco de las macetas de *P. australis* “iniciales” que no participaron en la remoción de nutrientes y las “finales” que son las que fueron utilizadas en el experimento. Por tanto, se asumió que la biomasa inicial del promedio de las plantas utilizadas en el experimento fue la misma que la del promedio de las plantas analizadas y que procedían de un grupo del mismo lote de las cuales la mitad se utilizó en el experimento y la otra sirvió para el análisis inicial de la biomasa de las plantas. En cambio, en los estudios realizados por Saltonstall y Court Stevenson (2007) y Li y Guo (2017) el análisis del crecimiento lo realizan midiendo la altura de los tallos de las plantas que están realizando el experimento. Si bien, haber medido la altura de nuestras plantas habría permitido la comparación, ese crecimiento no ha tenido en cuenta ni el desarrollo radicular, ni el engrosamiento e incorporación y tamaño de las hojas desarrolladas por las plantas de *P. australis*.

Esta biomasa, al final del experimento, incrementó su contenido tanto nitrógeno como fósforo total (tabla 3.1), donde en el caso del nitrógeno, el aumento de 0,63 a 0,85 % no fue significativo (valor-P: 0,1138), pero en el caso del fósforo, el incremento de 0,82 a 1,26 % sí que fue significativo (valor-P: 0,0273).

Sabiendo que se retiró del agua un total de 0,94 g de N y 0,73 g de P (figura 3.15) a lo largo del experimento, que supuso un 77 y 87 % de remoción respectivamente, y que, de estos porcentajes, un 20% (para N) y 46% (para P) correspondieron al crecimiento de *P. australis*, y un 5% (para N) y un 0,4% (para P) correspondieron al crecimiento de microalgas, podemos decir que otros factores no contemplados en este experimento, fueron más determinantes a la hora de explicar la eliminación de estos nutrientes. Comparando la capacidad de remoción del N con el estudio realizado por Li y Guo (2017), los % de remoción del N de un 91%, son más elevados a los nuestros teniendo en cuenta que se realizó con un sistema muy parecido, en un periodo de 80 días (desde mayo hasta agosto) y partiendo de una concentración inicial en el agua de

9,63 mg N/L (prácticamente la mitad que la de nuestro experimento, 20,425 mg/L). Del 91% de remoción del N, Li y Guo (2017) establecen que un 72% correspondió a la absorción por *P. australis* sin especificar la forma con la que estiman esta absorción que difiere mucho con los obtenidos en nuestro experimento (20%). Para la remoción de P no se encontró ningún estudio que tenga un sistema experimental como el realizado en nuestro caso como para poder comparar los resultados de % de remoción del P.

Una vez realizado el balance (tabla 3.7) del N y P que se ha absorbido del agua y sabiendo que una parte la ha absorbido el *P. australis* y la clorofila, nos queda un total de 0,642 g de N total (53% de la cantidad inicial de N) y 0,337 de P total (40% de la cantidad inicial de P) que ha sido absorbido del agua, pero por factores desconocidos. Una posibilidad es que todo este N y P fuera retirado por productores secundarios, tanto procariontas como eucariotas, presentes en el agua, a los cuales no se les hizo un control y estudio.

5. Conclusión

Mediante el uso de *P. australis* en sistemas flotantes se ha observado que:

- El % de eliminación de N y P analizados en el agua fue de un 77 y 87 % respectivamente.
- Supuso un aumento de biomasa y un aumento del contenido de N y P en la biomasa.
- Mediante el balance de materiales observamos que la remoción de las plantas supuso un 20% y 46%, el de las microalgas supuso un 5% y 0,4% y el resto se deduce que fue debido a producción secundaria, con una remoción de 53% y 40% de N y P respectivamente.
- El silicio pudo haber actuado como nutriente limitante reduciendo el crecimiento de la biomasa del *P. australis* y la remoción de nutrientes presentes en el agua.

6. Bibliografía

- Aerts, R., y De Caluwe, H. (1994a). Nitrogen use efficiency of *Carex* species in relation to nitrogen supply. *Ecology*, 75, 2362–2372.
- APHA, AWWA, WEF, American Public Health, American Water Works Association y Water Environment Federation. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association*, 22, 1360 pp.
- Bendschneider, K., y Robinson, R. J. (1952). A new spectrophotometric determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* 2: 87-96.
- Berendse, F., y Aerts, R. (1987). Nitrogen use efficiency: a biologically meaningful definition? *Functional Ecology*, 1, 293–296.
- Bhatia, M., y Goyal, D. (2014) Analyzing remediation potential of wastewater through wetland plants: a review. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 33, 9–27.
- Boeykens, S., Piol, N., Samudio, L., Saralegui, A., y Vasquez, C. (2017). Eutrophication decrease: Phosphate adsorption processes in presence of nitrates. *Journal of Environmental Management*, 203 (3), 888-895.
- Camargo, J. A., y Alonso, A. (2007). Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas*, 16(2).
- Cicerol, N. (2004). Eutrofización y calidad del agua de una zona costera tropical. *Tesis doctoral, Universitat de Barcelona. Departament d'Ecologia*, 502 p.
- Ciotti, Á. M., Odebrecht, C., Fillmann, G., y Moller Jr, O. O. (1995). Freshwater outflow and Subtropical Convergence influence on phytoplankton biomass on the southern Brazilian continental shelf. *Continental shelf research*, 15(14), 1737-1756.
- Fraser, L. H., Carty, S. M., y Steer, D. (2004) Atest of four plant species to reduce total nitrogen and total phosphorus from soil leachate in subsurface wetland microcosms. *Bioresour Technol*, 94, 185–192.
- Grasshoff, K. (1976). *Methods of Seawater Analysis*. Weinstein, New York: Verlag Chemie
- Herrera-Silveira, J. A., Morales-Ojeda S. M. y Cortes-Balan, T. O. (2011). Eutrofización en los ecosistemas costeros Del Golfo de México. *SEMARNAT-NOAA-GEF-UNIDO*. 88 pp. 1

- Jeffrey, S. W., y Humprey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, and c in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167(2), 191-194.
- Ksenofontova, T. (1988). Morphology and mineral contents in *Phragmites australis* in different water bodies of the Estonian SSR. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 23, 17–43.
- Li, X., y Guo, R. (2017). Comparison of Nitrogen Removal in Floating Treatment Wetlands Constructed with *Phragmites australis* and *Acorus calamus* in a Cold Temperate Zone. *Water Air Soil Pollut* 228, 132.
- Liu, X., Huang, S., Tang, T., Liu, X., y Scholz, M. (2012). Growth characteristics and nutrient removal capability of plants in subsurface vertical Flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 44, 189–198.
- Mason, C. F., y Bryant, R. J. (1975). Production, nutrient content and decomposition of *Phragmites australis* and *Typha angustifolia*. *Journal of Ecology*, 63, 71–96.
- Mullin, J. B., y Riley, J. P. (1955). The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to seawater. *Anal. Chem. Acta*, 12, 162-170.
- Murphy, J. y Riley, J.P. (1962). A Modified Single Solution Method for Determination of Phosphate in Natural Water. *Anal. Chem. Acta*, 27, 31-36.
- Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 15-39.
- Ramesh, R. Z., Che, V., Cummins, J., Day, B., Denninson, D., ... y Wolanski, E. (2015). Land–Ocean Interactions in the Coastal Zone. Past, present & future. *Anthropocene*, 12, 85-98.
- Raya Pérez, J. C., y Aguirre Mancilla, C. L. (2012). El papel del Silicio en los Organismos y Ecosistemas. *ConCiencia Tecnológica*, 43, 42-46.
- Redfield, A. C., Ketchum, B. H., y Richards, F. A. (1963). The influence of organisms on the composition of seawater. *The sea*, 2, 26-77.
- Rodríguez Martínez, J. (2016). *Ecología*. Pirámide.
- Saltonstall, K., y Court Stevenson, J. (2007). The effect of nutrients on seeding growth of native and introduced *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 86(4), 331-336.
- Sebastiá, M., Rodilla, M., Sanchis, J., Altur, V., Gadea, I., y Falco, S. (2012). Influence of nutrient inputs from a wetland dominated by agricultura on the phytoplankton community in a shallow harbour at the Spanish Mediterranean coast. *Elsevier*, 152, 10-20.
- Solòrzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenol hypochlorite method. *Limnology and Oceanography*, 14, 799-801.

- Ulrich, K. E., y Burton, T. M. (1985). The effects of nitrate, phosphate and potassium fertilisation on growth and nutrient uptake patterns of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. *Aquatic Botany*, 21, 53–62.
- Valderrama, J.C. (1981). The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry*, 10, 109-122.
- Wilkinson, G. (2017). Eutrophication of Freshwater and Coastal Ecosystems. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. *Encyclopedia of Sustainable Technologies*, 145-152.
- Yang, X., Wu, X., Hao, H., y He, Z. (2008). Mechanisms and assessment of water eutrophication. *Journal of Zhejiang University*, 9, 197-209.