

Influencia de la salinidad sobre el crecimiento de la microalga *Rhodorus marinus* (Rhodophyta) en cultivos discontinuos

Salinity influence on growth of the *Rhodorus marinus* (Rhodophyta) microalgae in batch cultures

L. Molina, L. Jonte, R. Mora, J. Ortega, E. Morales

Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo estado Zulia.

Resumen

La biotecnología de cultivo de algas ha incentivado la implementación de nuevas metodologías para optimizar la producción de metabolitos de interés. Se evaluó el efecto de la salinidad a 0; 15; 35; 70 y 100 ppm sobre el crecimiento, producción de pigmentos hidrosolubles, liposolubles y proteínas de *Rhodorus marinus*. Se realizaron bioensayos, por triplicado, en cultivos discontinuos enriquecidos con medio ALGAL, mantenidos en aireación constante, con fotoperiodo de 12:12h, $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $78 \mu\text{mol q.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. El crecimiento se determino por recuento celular. Esta cepa sólo creció en los cultivos a 35 ppm con una densidad celular de $35,05\pm 3,65 \text{ cel.mL}^{-1}$; y producción de clorofila-*a*, carotenoides, ficoeritrina y proteínas de $11,28\pm 1,75$; $3,66\pm 0,54$; $243,76\pm 49,53$; $377,39\pm 12,15 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

Palabras clave: *Rhodorus marinus*, salinidad, crecimiento, cultivos discontinuos, pigmentos.

Abstract

Biotechnology of algae cultures has promoted the implementation of new methodologies to optimize metabolite production. Salinity effect to 0, 15, 35, 70 and 100 ppm on growth, hydrosoluble and liposoluble pigments and protein production of *Rhodorus marinus* was evaluated. Bioassays by triplicate in batch cultures enriched with medium ALGAL, with constant aeration, photoperiod 12:12h, $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $78 \mu\text{mol q.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ were carried out. Growth was

determined by cell counting. This strain grew just at 35 ppm with a cell density of 35.05 ± 3.65 cell.mL⁻¹; and a chlorophyll-*a*, carotenoids, phycoerythrin and protein production of 11.28 ± 1.75 , 3.66 ± 0.54 , 243.76 ± 49.53 , 377.39 ± 12.15 µg.mL⁻¹, respectively.

Keywords: *Rhodorus marinus*, salinity, growth, batch cultures, pigments.

Introducción

Las microalgas representan organismos de suma importancia en los ecosistemas acuáticos, pues constituyen los principales productores primarios, tienen aplicaciones biotecnológicas por la obtención de pigmentos, ácidos grasos y componentes específicos como ciertos aminoácidos, empleados en diversas industrias farmacológicas, alimenticias y cosmetológicas (5). Presentan altas tasas de producción y adaptabilidad a distintas condiciones ambientales, por lo que se pueden encontrar en cualquier medio acuático donde exista una fuente de carbono, nutriente, salinidad y luz suficiente.

Las algas y sus derivados se están produciendo comercialmente a nivel mundial, sobresaliendo los géneros *Dunaliella*, *Spirulina*, *Porphyridium*, *Botryococcus*, *Isochrysis*, *Chlorella* y

Hematococcus (5). Sin embargo, se estima que sólo un 10% de las especies existentes han sido estudiadas, con la finalidad de conocer su fisiología y su potencialidad.

Entre las microalgas de interés como productoras de ficobiliproteínas y de exopolisacáridos se encuentra *Rhodorus marinus*, a partir de la cual se han descrito estudios sobre fotosíntesis, producción de ficoeritrina en fotobioreactores (3). Actualmente no se tienen reportes de estudios fisiológicos a nivel mundial de esta microalga exótica en nuestro país.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la salinidad sobre el crecimiento de la microalga Rhodophyta *Rhodosoorus marinus*, con la finalidad de determinar las condiciones óptimas, hacia la producción de pigmentos y proteínas.

Materiales y métodos

Se utilizó la microalga *Rhodorus marinus*, procedente de la estación Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), ubicado en Ensenada, México, y donado a la Colección del Cepario del Laboratorio de Plantas No Vasculares del Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias (LUZ). La cepa se mantiene en tubos de en-

sayo de capacidad de 20 x 150 mm con 10 mL y bajo condiciones establecidas.

Se estudió el efecto de las salinidades a 0; 15; 35; 7 y 100 ppm, para lo cual al agua de mar se le adicionó NaCl a concentraciones establecidas hasta ajustar a las salinidades indicadas anteriormente y enriquecidas con medio ALGAL a una concentración de 8 mM de NaNO₃. Los cultivos por tri-

plicado se iniciaron con un inóculo de 1×10^6 cel.mL⁻¹ en un volumen de 250 ml a una irradiancia de 78 $\mu\text{mol q.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, con fotoperíodo luz: oscuridad 12:12 h a una temperatura promedio de 27±2°C y mantenidas durante 24 días.

El análisis de la biomasa microalgal, se determinó cada tres días hasta alcanzar el final de la fase estacionaria, por recuentos celulares. La extracción y determinación de pigmentos liposolubles (Clorofila *a* y Carotenoides) se realizó con una solución de Dimetilsulfóxido, emplean-

do la fórmula propuesta por Wellburn (6), evaluando todos los tratamientos directamente sobre cultivos frescos y por triplicado, la extracción de los pigmentos hidrosolubles ficobiliproteínas se realizó por el método de congelamiento/descongelamiento repetidos, mientras que la cantidad de ficoeritina, ficocianina y aloficocianina se calculó de acuerdo a la fórmula de Bennet y Bogorad (1). La determinación de proteínas se realizó por el método de Hebert y col (4).

Resultados y discusión

La cepa *Rhodospirillum rubrum* solo creció en los cultivos a 35 ppm con una densidad celular de 35,05±3,65 cel.mL⁻¹ mientras que en las demás salinidades se observó una marcada inhibición (figura 1).

En los cultivos no salinos, se observó una lisis celular con la liberación de la ficoeritina al tercer día del cultivo. A 15 ppm las células duplicaron su tamaño, al sexto día conservando una densidad celular de 1,41±0,36 cel.mL⁻¹ hasta el décimo quinto día, donde empezó a descender progresivamente. Mientras que a la salinidad de 70 ppm las células floccularon inmediatamente como mecanismo de protección ante el estrés salino, y a 100 ppm hubo una reducción del tamaño celular, tornándose clorótica, en ambos cultivos la densidad celular inicial se redujo en un 66% con valo-

res de 0,66±0,16 y 0,65±0,21 cel.mL⁻¹, respectivamente.

El contenido de clorofila *a*, carotenoides y ficoeritina a 35 ppm fueron 11,28±1,75; 3,66±0,54; 24376±49,53 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. La producción de proteínas fue de 377,39±12,15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, mientras que en el resto de los tratamientos el contenido de pigmentos y proteínas fue inhibido junto con su crecimiento (cuadro 1).

La inhibición en el crecimiento y en la producción de metabolitos en los cultivos no salinos y a 15; 70 y 100 ppm, muestra la incapacidad de adaptación a los cambios en la salinidad de *R. rubrum*, debido a que no puede regular los cambios osmóticos para mantener su integridad celular, efecto similar se observó en *Chroomonas salina* (2).

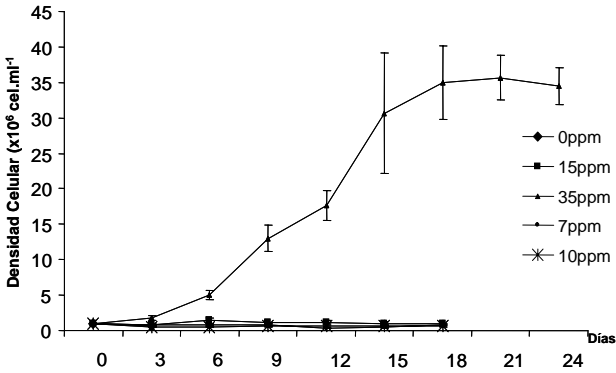


Figura 1. Influencia de la concentración de salinidad sobre el crecimiento de microalga Rhodophyta *RHodosorus. Marinus*.

Cuadro 1. Influencia de la salinidad sobre la producción pigmentos liposolubles e hidrosolubles en la microalga Rhodophyta *RHodosorus. marinus*.

Salinidad (ppm)	Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Carotenoides ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Ficoeritrina ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Proteínas ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
15	0,34 \pm 0,18	0,34 \pm 0,18	27,87 \pm 5,76	28,43 \pm 1,12
35	11,28 \pm 1,75	3,66 \pm 0,54	243,76 \pm 49,53	377,39 \pm 12,15
70	0,56 \pm 0,11	0,17 \pm 0,02	36,91 \pm 9,05	-

Conclusión

Estos resultados demuestran que la microalga Rhodophyta *Rhodosorus marinus* alcanzó una densidad óptima a 35 ppm en fase estacionaria, así como la mayor producción de clorofila *a*; carotenoides,

ficoeritrina y proteínas, mientras que en las otras concentraciones de salinidad mostró una inhibición de crecimiento y producción de estos metabolitos.

Literatura citada

- Bennet, A. y L, Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.* 58: 419-435.
- Bermudez, J., C. Lodeiros y E. Morales. 2002. Producción de biomasa de la microalga marina *Chroomonas* sp., en función del pH, intensidad luminosa y salinidad. *Bol. Inv. Mar. Cos.* 31: 167-185.

3. Herbert, D., P. Phipps y P. Stronoe. 1971. Chemical analysis of microbial cells. En Norris J. y Ribbons D. (eds). *Methods in Microbiology*. Academic Press (5B): 209-344.
4. Mendiola J., F. Marín, F. Hernández, B. Arredondo, J. Señoráns, E. Ibañez y G. Reglero. 2005. Characterization via liquid chromatography coupled to diode array detector and tandem mass spectrometry of supercritical fluid antioxidant extracts of *Spirulina platensis* microalga. *J. Sep. Sci.* 28, 1031-1038.
5. Wellburn, A. 1994. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144: 307-313.
6. Wilson, S., J. West, J. Pickett-Heaps, A. Yokoyama y H Yoshiaki. 2002. Chloroplast rotation and morphological plasticity of the unicellular alga *Rhodorus* (Rodophyta, Stylonematales). *Phycological Research* 50 (3), 183-191.