

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CURVA DE CRECIMIENTO DE LA MICROALGA *Scenedesmus obliquus* CON FINES BIOTECNOLÓGICOS

¹Pérez Vázquez Cynthia Guadalupe, ²Ayala Islas Alberto

¹[Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] | [cynthia_94_3@hotmail.com]

²[Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Irapuato, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] | [alayala@itesi.edu.mx]

Resumen

Las algas son organismos acuáticos foto-autótrofos oxigénicos y, que por lo general son menos complejas morfológicamente que las plantas terrestres; son organismos antiguos y diversos que no tienen un origen en común, siendo morfológicas y anatómicas sus aparentes semejanzas y estas se deben a la adaptación al medio acuático. Las microalgas tienen un valor muy importante para los seres humanos debido al gran uso que estos le pueden atribuir. En el presente trabajo primeramente se realizó el aislamiento de la microalga *Scenedesmus obliquus*; para esto, se utilizó un medio líquido mínimo de sales minerales denominado Bold Basal, posteriormente del aislamiento se procedió con la identificación de la microalga, la cual solo se realizó de manera morfológica y por último se realizó la cinética de crecimiento de la microalga primero en el medio Bold Basal y después en el mismo medio pero con un aumento en la fuente de nitrógeno obteniendo resultados de crecimiento favorables para la microalga en ambas variantes del medio, mostrando una fase exponencial de 10 días.

Abstract

Algae are aquatic and oxygenic photo-autotrophic organisms, which usually are less complex morphologically than terrestrial plants; they are old and various agencies that do not have a common origin, being its apparent morphological and anatomical similarities and these are due to adaptation to the aquatic environment. Microalgae are a very important value to humans due to heavy use these can be attributed. In this paper first the isolation of the microalgae *Scenedesmus obliquus* is made; for this, a minimum liquid mineral salts medium was used called Bold Basal, then isolation proceeded with the identification of the microalgae, which is only performed morphological way and finally the growth kinetics of the microalga first was in the middle Bold Basal and then in the same medium but with an increase in nitrogen source obtaining favorable results for both variants microalgae growth medium, showing an exponential phase of 10 days.

Palabras Clave

Scenedesmus obliquus.; microalga; medio Bold Basal; fotobiorreactor.

INTRODUCCIÓN

Historia de las algas

Desde hace 3500 millones de años se conoce la existencia de las Microalgas o Micrófitos, cuando evolucionaron de las Arqueobacterias (los primeros organismos de la tierra), volviéndose capaces de capturar la energía del Sol a través de la fotosíntesis. [1] (Pontificia Universidad Católica de Chile., 2008)

Dichas microalgas han sido aprovechadas a lo largo de la historia de la humanidad, aunque su biotecnología contemporánea inició en los años 50, cuando científicos alemanes comenzaron a cultivarlas en forma masiva para obtener lípidos y polisacáridos, reemplazando así a las proteínas animales y vegetales para el consumo del ganado y del hombre. [2] (Colorado Gómez, Moreno Tirado, & Pérez Posada, 2013)

Características generales de las algas

El termino alga proviene del latín que significa “planta acuática”, las algas con organismos acuáticos autótrofos y contienen clorofilas, unos pigmentos fotosintéticos que se asemejan a los que contienen las plantas superiores; su pared celular está compuesta de polisacáridos o proteínas. [3] (Dreckmann, Senties, & Núñez, 2013)

A pesar de su simplicidad y la alta distribución que estas tienen, son necesarios algunos factores ecológicos limitantes, como la radiación luminosa, la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y la concentración de determinados nutrientes, para la colonización y su desarrollo. [4] (Gomez Luna, 2007)

- *Clasificación de las algas*

Las algas se clasifican en microscópicas y macroscópicas, unicelulares y pluricelulares y se encuentran en diez *phyla* diferentes:

- ✓ Cianofita.
- ✓ Clorofita.
- ✓ Euglenofita.

- ✓ Xantofita.
- ✓ Dinofita.
- ✓ Criptofita.
- ✓ Crisofita.
- ✓ Baciliariofita.
- ✓ Rodofita.
- ✓ Paeofita.

Cada *phylum* cuenta con diversas características como por ejemplo, el tipo de pigmento, pero compartiendo también algunas similitudes. [5] (Bellinger & Sigee, 2015)

- *Géneros de algas con interés biotecnológico*

Algunos trabajos han demostrado que las algas tienen diverso interés biotecnológico siendo algunos de ellos:

Las algas verdes, en específico *Dunaliella salina* es una de las principales especies utilizadas para producir carotenos. [6] (Cubas, 2008)

Otro trabajo ha demostrado que las microalgas verdes, y en particular la especie *Chlamydomonas reinhardtii*, han surgido como una alternativa atractiva para la producción de proteínas recombinantes, debido principalmente a su cultivo sencillo y económico, su gran capacidad para acumular biomasa y a que son, generalmente, consideradas como inocuas para el ser humano. [7] (Rivera Solís, Peraza Echeverría, & Herrera Valencia, 2011)

También se ha demostrado que las algas *Chlorella* y *Arthrospira* (*Spirulina*) de agua dulce se utilizan principalmente como suplementos para humanos e ingredientes para la alimentación animal. [8] (Filer, 2014)

Debido a la utilización de las microalgas para diversos fines como la salud humana, cosmetología, purificación de aguas residuales, prevención de contaminación acuática, industria farmacéutica, acuicultura, producción de pigmentos y antibióticos, en los últimos años estas han sido un objetivo amplio de estudio. [9] (Medina Jasso, Piña Valdez, Nieves Soto, Arzola Gonzales, & Guerrero Ibarra, 2012)

Las microalgas son abundantes en la tierra y se conocen diversas aplicaciones que estas pueden tener, es por ello que en el presente trabajo se hace estudio de una microalga la *Scenedesmus obliquus* que ha sido aislada de una muestra de agua dulce, identificada solo morfológicamente y evaluada su cinética de crecimiento en un medio líquido con requerimientos de minerales estandarizados para el crecimiento de las microalgas y en un medio líquido con mayor concentración de la fuente de nitrógeno con el fin de ver su comportamiento para una posterior aplicación biotecnológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de la microalga.

Para iniciar el desarrollo del proyecto se comenzó con el aislamiento de la microalga objeto de estudio; esta microalga proviene de un ambiente de agua dulce.

El aislamiento se realizó por diluciones seriadas tomando 1 ml de la muestra original y se agregó a un tubo de ensayo que contiene 9 ml de medio de cultivo estéril, se homogenizó y luego se agregó 1 ml a un segundo tubo con 9 ml de medio, se volvió a homogenizar y así sucesivamente hasta llegar al número de diluciones necesarias para obtener un cultivo axénico, en este caso se realizaron 10 diluciones observando el cultivo axénico en la dilución 10^{-9} ; el medio de cultivo utilizado fue el Bold Basal un medio líquido mínimo en sales minerales.

Identificación de la microalga

Después de obtener el cultivo axénico se hizo la observación de la microalga aislada al microscopio con el objetivo de 100X para poder revisar la morfología con que contaba esta microalga y así compararla con bibliografía ya establecida y definir al género con que se esta trabajando.

- *Curvas de crecimiento*

Posteriormente se procedió a realizar curvas de crecimiento de la microalga para observar su desarrollo. Para la producción de la biomasa se utilizó un fotobiorreactor adaptado con luz blanca en

el cual se le adicionó medio líquido Bold Basal y se inoculó la microalga.


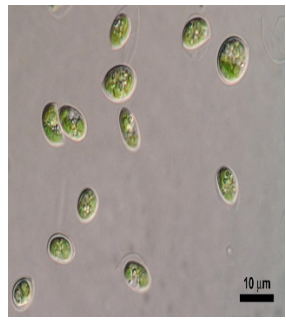
Las curvas de crecimiento se realizaron bajo conteo celular en una cámara de Neubauer y midiendo la densidad óptica de la clorofila a 685 nm. Cabe mencionar que se realizaron dos curvas de crecimiento, una con el inóculo creciendo en el medio Bold Basal ya definido y la otra curva de crecimiento se realizó con el inóculo en un medio Bold Basal rico en fuente de nitrógeno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos a lo largo del trabajo han sido los siguientes:

La identificación de la microalga se realizó consultando la referencia bibliográfica [10] (Serediak & Huynh, 2006) basándose en la morfología de la microalga como se muestra en la tabla 1, reportando una morfología de estas células como ovoides de color verde pardo, rodeadas por una membrana y acomodadas de manera individual.

Tabla 1. Comparación morfología de la microalga aislada vs. la microalga de referencia bibliográfica.

| Microalga aislada | Mircoalga de referencia |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |
| | <i>Scenedesmus obliquus</i> |

Posteriormente se obtuvieron resultados de las cinéticas de crecimiento de las microalgas observándose lo siguiente:

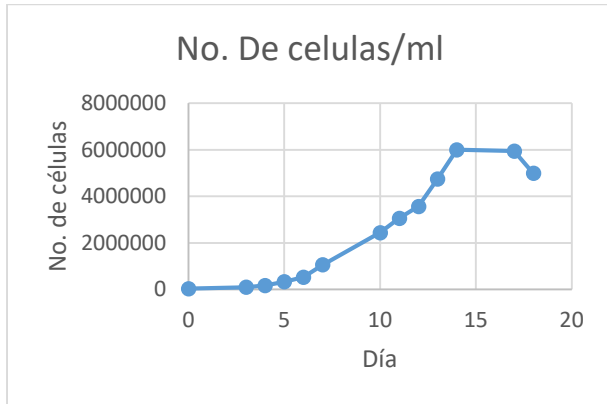


IMAGEN 1. Cinética de crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* en medio Bold Basal por conteo celular.

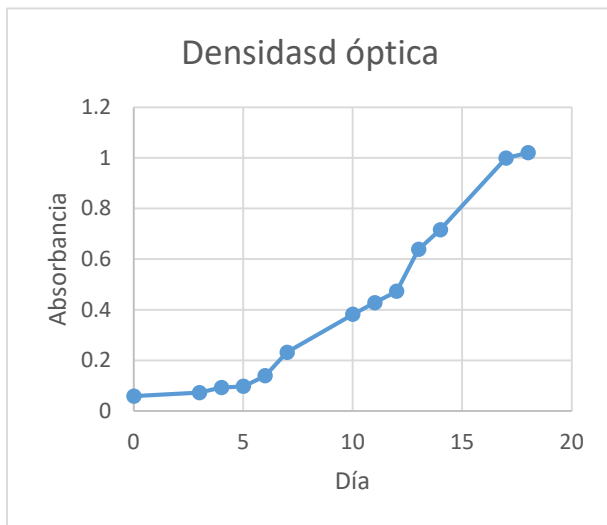


IMAGEN 2. Cinética de crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* en medio Bold Basal por densidad óptica.

Como se puede observar en la imagen 1 y 2 la microalga presenta una fase de latencia del día 0 hasta el día 3, además una fase exponencial que abarca del día 4 hasta el día 14 siendo aproximadamente un crecimiento de 10 días y una fase estacionaria que inicia el día 15; con esto podemos asegurar que el medio que se está utilizando es apto para el crecimiento de la microalga.

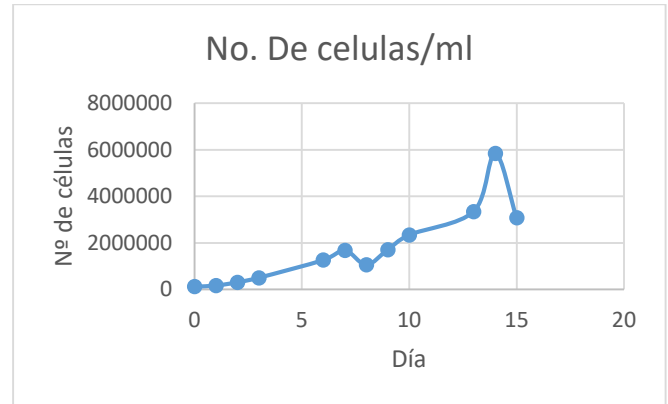


IMAGEN 3. Cinética de crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* en medio Bold Basal con el doble de la fuente de nitrógeno por conteo celular.

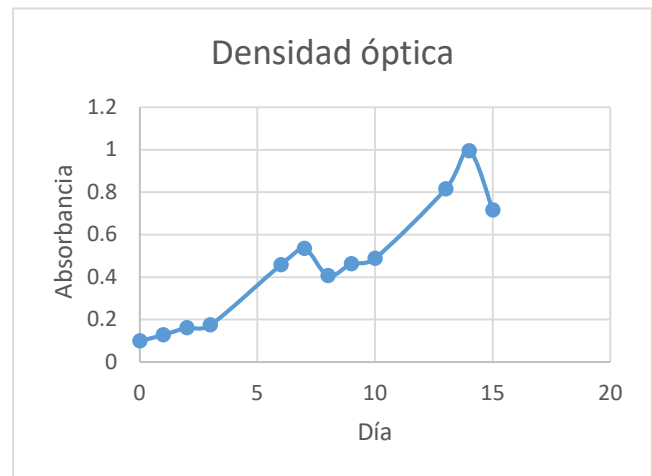


IMAGEN 4. Cinética de crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* en medio Bold Basal con el doble de fuente de nitrógeno por densidad óptica.

Al observar la imagen 3 y 4 podemos notar que la microalga presenta una fase de latencia del día 0 hasta el día 3 en un medio con el doble de la fuente de nitrógeno y esta misma fase se presenta en la cinética de crecimiento con el medio Bold Basal estándar; la fase exponencial se presenta del día 4 hasta el día 14 misma que se presenta en la cinética anterior manteniendo un número de células similar en ambas cinéticas de crecimiento al igual la densidad óptica no es muy variada. Cabe mencionar que en el día 8 y día 15 el número de células y el valor de la densidad óptica disminuye esto debido a que al fotobiorreactor se le adiciona medio líquido pues el volumen disminuye con el paso de los días. Además podemos notar que en el

medio con un aumento en la fuente de nitrógeno se nota más favorecido el crecimiento pues en el día 15 sigue la fase exponencial en comparación con el crecimiento en el medio estándar donde al día 15 ya se puede ver la fase estacionaria.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la morfología es una de las formas de identificación de las algas y se utilizó para la identificación de la microalga estudiada; además de que el medio líquido Bold Basal estándar es un buen medio para el crecimiento de las algas y también se puede decir que la microalga *Scenedesmus obliquus* se adaptó de forma favorable al medio con las dos concentraciones utilizadas de nitrógeno, mostrando una fase exponencial de más días en el medio enriquecido con fuente de nitrógeno.

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos van dirigidos primeramente a mi asesor M. C. Alberto Ayala Islas por la dedicación y tiempo que ha mostrado, a mis padres por su apoyo incondicional y mis amigas Elizabeth Aguilera y Gemma Tejas por su apoyo y su gran amistad.

REFERENCIAS

- [1] Rivera, A. M. (3 de Agosto de 2008). Pontificia Universidad Católica de Chile. Obtenido de http://web.ing.puc.cl/~ing1004/Homeworks/SeresVivos_E3/g09_alejandra%20naranjo%20Chlorophyta.pdf
- [2] Colorado Gómez, M. A., Moreno Tirado, D. A., & Pérez Posada, J. (2013). Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas. *Ambiente y desarrollo*, 113-126.
- [3] Dreckmann, K. M., Senties, A., & Núñez, M. L. (2013). Manual de prácticas de laboratorio biología de algas. México.
- [4] Gomez Luna, L. M. (2007). Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de química*, 3-20.
- [5] Bellinger, E. G., & Sigeo, D. C. (2015). *Freshwater Algae*. Reino Unido: Wiley Blackwell.
- [6] Cubas, P. (2008). Aulados. Obtenido de Aulados: http://www.aulados.net/Botanica/Curso_Botanica/Algas_verdes/9_Chlorophyta_texto.pdf

- [7] Rivera Solís, R. A., Peraza Echeverría, S., & Herrera Valencia, V. A. (2011). La microalga verde *Chlamydomonas reinhardtii*. *Ciencia*, 1-9.
- [8] Filer, K. (2014). *Microalgas: Un mar de oportunidades para la industria acuícola*. Ministerio de agricultura, ganadería y pesca.
- [9] Medina Jasso, A., Piña Valdez, P., Nieves Soto, M., Arzola Gonzales, J., & Guerrero Ibarra, M. (2012). La importancia de las microalgas. *Biodiversitas*, 1-5.
- [10] Sereidiak, N., & Huynh, M.-I. (2006). *Algae identification. Field guide*. Canada.