

Efecto de la salinidad y pH en la composición bioquímica de la microalga *Scenedesmus* sp. en cultivos discontinuos

Effect of salinity and pH on the biochemical composition of the microalgae *Scenedesmus* sp. in batch cultures

Ever Morales¹, Diana Macías^{2*}, Leonardo García², Yelsin Loor³ & Lisbeth Plúas³

¹Docente de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

²Consultora, egresada de la Facultad Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil.

³Estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil.

Recibido 28 de abril 2019; recibido en forma revisada 20 de mayo 2019, aceptado 1 de junio 2019
Disponible en línea 26 de junio 2019

Resumen

El presente estudio evaluó el efecto del pH (5, 6, 9, 11) y de la salinidad (6, 12, 26 y 36 UPS) en el crecimiento y la producción de pigmentos, proteínas, carbohidratos y lípidos de la microalga *Scenedesmus* sp., los cultivos discontinuos se mantuvieron con aireación constante, irradiancia de $50.22 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, fotoperiodo 12:12 h y a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Los resultados indicaron que en cultivos no salinos y a pH 9 se presentaron las densidades celulares más elevadas con $9.48 \pm 0.32 \times 10^6$ cél. mL^{-1} . Mientras, que los de clorofila *a* y *b* se produjeron a 0UPS y pH (8-10) con 5.52 ± 0.09 y $2.03 \pm 0.16 \mu\text{g. mL}^{-1}$, respectivamente, pero con un descenso con el aumento de NaCl. Así mismo, los carotenoides se incrementaron a 12UPS y pH 11 de 0.20 ± 0.004 a $1.45 \pm 0.004 \mu\text{g. mL}^{-1}$ y el más elevado en lípidos ($p < 0.05$) se evidenció a 6UPS con $16 \pm 32.37 \mu\text{g. mL}^{-1}$. Sin embargo, los mayores contenidos de proteínas y carbohidratos se produjeron a 0UPS y pH 11 con 377.37 ± 23.88 y $122.69 \pm 1.68 \mu\text{g. mL}^{-1}$; respectivamente. Los resultados de la adaptación gradual al NaCl permiten concluir que esta cepa de *Scenedesmus* sp., aunque es halotolerante presentó un crecimiento óptimo, mayor contenido de clorofila y de carotenoides en condiciones no salinas y en medio alcalino.

Palabras Clave: Composición bioquímica, pH, salinidad, *Scenedesmus* sp.

Abstract

The present study evaluated the effect of pH (5, 6, 9, 11) and salinity (6, 12, 26 and 36 UPS) on the growth and production of pigments, proteins, carbohydrates and lipids of the microalga *Scenedesmus* sp., discontinuous cultures were maintained with constant aeration, irradiance of $50.22 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, photoperiod 12:12 h and $25 \pm 2^\circ\text{C}$. The results indicated that in non-saline cultures and at pH 9 the highest cell densities were presented with $9.48 \pm 0.32 \times 10^6$ cells. mL^{-1} . Meanwhile, chlorophyll *a* and *b* were produced at 0UPS and pH (8-10) with 5.52 ± 0.09 and $2.03 \pm 0.16 \mu\text{g. mL}^{-1}$, respectively, but with a decrease with the increase in NaCl. Likewise, carotenoids were increased to 12UPS and pH 11 from 0.20 ± 0.004 to $1.45 \pm 0.004 \mu\text{g. mL}^{-1}$ and the highest in lipids ($p < 0.05$) was evident at 6UPS with $16 \pm 32.37 \mu\text{g. mL}^{-1}$. However, the highest protein and carbohydrate contents were produced at 0UPS and pH 11 with 377.37 ± 23.88 and $122.69 \pm 1.68 \mu\text{g. mL}^{-1}$; respectively. The results of the gradual adaptation to NaCl allow us to conclude that this strain of *Scenedesmus* sp., Although it is halotolerant, showed an optimal growth, a higher content of chlorophyll and of carotenoids in non-saline conditions and in an alkaline medium.

Key Key words: Biochemical composition, pH, salinity, *Scenedesmus* sp.

Introducción

Actualmente las microalgas han adquirido mucho interés, puesto que son organismos capaces de fijar CO_2 y liberar O_2 , además producen grandes cantidades de productos básicos y compuestos de valor agregado

como proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos grasos en cortos periodos de tiempo (Bermeo, 2011; Von Albensleben, Magnusson y Heimann, 2015).

Sin embargo, dada su versatilidad metabólica son susceptibles a variar su composición bioquímica y producción de biomasa al modificar las condiciones

* Correspondencia del autor:
E-mail: darevmo52@yahoo.com



físico-químicas del cultivo para obtener bioproductos de interés comercial para la industria farmacéutica y alimenticia (Maldonado, Morales y Romero, 2014).

Así mismo son utilizadas para la producción de biocombustibles como el biodiesel, biometano y bioetanol; lo que las hace considerar como una alternativa viable y fuente prometedora de producción de energía debido al alto potencial que presentan (Bermeo, 2011; Von Albensleben, Magnusson y Heimann, 2015).

Dada la importancia que han generado las microalgas a nivel biotecnológico y alimenticio este estudio evaluó el efecto del efecto del pH y la salinidad en la composición bioquímica de la microalga *Scenedesmus* sp. con el fin de reportar el comportamiento de esta cepa frente a diversos factores de estrés teniendo en cuenta la variación de la producción de pigmentos (clorofila *a*, *b* y carotenoides) y macromoléculas de interés comercial como proteínas, carbohidratos, lípidos y variabilidad del crecimiento en comparación con las condiciones de cultivo establecidas para esta microalga.

Materiales y métodos

Obtención de la cepa

Se utilizó la cepa *Scenedesmus* sp. (UGB-RJ-3009) proveniente del cepario de microalgas del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, conservada en placas de Petri con agar en el medio de cultivo BG11.

Medio de cultivo

Como medio control se utilizó el medio de cultivo BG11, para la obtención de medios de cultivo salinos estos se prepararon utilizando agua destilada previamente esterilizada agregándole soluciones stock de macronutrientes y micronutrientes del medio de cultivo BG11; además de la adición de NaCl hasta llegar a las concentraciones de salinidad 6 UPS y 12 UPS.

Condiciones de cultivo

Las unidades experimentales se trabajaron por triplicado con un inóculo inicial de 5×10^5 cél.mL⁻¹ y un volumen final de 250 mL. Todos los cultivos se mantuvieron por 19 días con aireación constante, fotoperiodo 12:12 horas (luz/oscuridad), una irradiancia de $50.22 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a una temperatura de 25 ± 2 °C.

El pH se ajustó diariamente dos veces al día con NaOH y HCl 1 M. Previamente se realizó bioensayos de adaptación gradual al NaCl para obtener cultivos adaptados a distintas concentraciones de salinidad y cultivarlos a distintos pH (5, 6, 9, 11).

Parámetros de crecimiento

1. Densidad Celular

Se realizaron recuentos celulares diarios con cámara de Neubauer de 0.1 mm de altura y 1 mm² de área. El

cálculo de la densidad celular se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$N \text{ cél/mL} = (N \text{ células contadas} / N \text{ de cuadros contados}) \times 10^4$$

2. Método de Turbidez

El crecimiento por turbidez se determinó con espectrofotometría a una longitud de onda 680 nm.

Extracción y determinación de pigmentos fotosintéticos

La extracción de pigmentos se realizó con Metanol puro según el método descrito por Arredondo, Voltolina y Cordero (2017), y la cuantificación se efectuó en un espectrofotómetro a tres longitudes de onda 666 nm y 653 nm para clorofila *a* y *b* respectivamente y 470 nm para carotenoides. El cálculo de la concentración de clorofilas y carotenoides se realizó utilizando las fórmulas propuestas por Wellburn (1994).

$$\begin{aligned} Ca &= 15.65A_{666 \text{ nm}} - 7.34A_{653 \text{ nm}} \\ Cb &= 27.05A_{653 \text{ nm}} - 11.21A_{666 \text{ nm}} \\ C_{x+c} &= (1000A_{470 \text{ nm}} - 2.86C_a - 129.2C_b) / 221 \end{aligned}$$

Extracción y cuantificación de macromoléculas orgánicas

1. Determinación de proteínas

La extracción de proteínas se realizó con NaOH 1M calentado en baño maría a 100 °C por 1 hora, la cuantificación se efectuó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 750 nm como indica el método de Lowry et al. (1951) modificado por Morales (2012).

2. Determinación de carbohidratos

La extracción se realizó añadiéndole 4 mL de NaOH 1 M a la biomasa húmeda y calentando en baño maría a 100 °C por 30 minutos, el contenido de carbohidratos totales se cuantificó a una longitud de onda de 480 nm mediante el método de fenol-ácido sulfúrico propuesto por Dubois et al (1956) modificado por Morales (2012).

3. Determinación de lípidos

La extracción de lípidos totales se efectuó agregando metanol-cloroformo en proporción 3:1.5 a la biomasa liofilizada como indica el método de calcinación propuesto por Marsh y Weinstein (1966) modificado por Morales (2012), la cuantificación espectrofotométrica se realizó a una longitud de onda de 375 nm. Los resultados fueron expresados en µg/mL.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa StatGraphics Plus versión 5.1 (2000), con el cual se realizó un análisis de varianza (ANOVA FACTORIAL) a todos los tratamientos con un nivel de significancia $p \leq 0.05$, además se aplicó un análisis de Contraste Múltiple de Rangos para determinar cuáles de las medias presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos con un nivel de confianza del 95 %.

Resultados

Crecimiento de *Scenedesmus sp.* a distintas concentraciones de salinidad

La mayor densidad celular se registró en el control (0 UPS) con $7.13 \pm 0.53 \times 10^6$ cél.mL⁻¹, seguido de la concentración de 6 UPS con $4.70 \pm 0.32 \times 10^6$ cél.mL⁻¹, a 26 UPS el mayor crecimiento se obtuvo en el día 7 con $3.22 \pm 0.46 \times 10^6$ cél.mL⁻¹; mientras que a 36 UPS se observó una reducción de la densidad celular con un máximo de $1.78 \pm 0.35 \times 10^6$ cél.mL⁻¹. Estos resultados indican que a pesar de que el crecimiento de la microalga es inhibido con la concentración del NaCl, se observó una tendencia a una adaptación a medida que gradualmente se le incrementaba la salinidad.

Crecimiento mediante el método de turbidez pre adaptación a distintas concentraciones de NaCl.

El mejor crecimiento medido a DO 680 nm se registró en los cultivos no salinos (0 UPS) con 1.12 ± 0.05 , seguido de 6 UPS con 0.913 ± 0.04 , la densidad máxima registrada en los cultivos que se les indujo adaptación gradual hasta 26 UPS fue de 0.683 ± 0.06 y la menor densidad celular se obtuvo a 36 UPS con un máximo de 0.619 ± 0.004 .

Efecto del pH y salinidad sobre el crecimiento

1. Crecimiento a diferentes pH a 0 UPS

La máxima densidad celular se presentó en los cultivos ajustados a pH 9 con $9.48 \pm 0.32 \times 10^6$ cél.mL⁻¹, seguido del pH 11 ($7 \pm 0.09 \times 10^6$ cél.mL⁻¹), observándose el menor crecimiento celular a pH 5 con ($1.6 \pm 0.44 \times 10^6$ cél.mL⁻¹). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el control (8-10) y el rango de pH estudiados (511).

2. Crecimiento a diferentes pH a 6 UPS

La máxima densidad celular se registró a pH 9 ($6.71 \pm 0.38 \times 10^6$ cél.mL⁻¹), seguido del cultivo a pH 6 con $5.88 \pm 0.25 \times 10^6$ cél.mL⁻¹; mientras que a pH 11 el valor máximo de crecimiento fue de $3.29 \pm 0.51 \times 10^6$ cél.mL⁻¹; reduciéndose la densidad celular a pH 5 con $0.92 \pm 0.35 \times 10^6$ cél.mL⁻¹.

3. Crecimiento a distintos pH a 12 UPS

El estudio del pH determinó que el crecimiento de *Scenedesmus sp.* es favorable entre 7 (control) y 11. En cambio, se demostró una reducción de la densidad celular a pH desde 6 hasta 5, causando una inhibición y efecto letal a los cultivos de la microalga a partir del día 11 y día 4; respectivamente.

Al final del experimento al día 19, la densidad celular del control (pH 7) se mantuvo superior respecto a todos los pH analizados, alcanzando $4.5 \pm 0.21 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ con diferencia significativa ($p > 0.05$). En cambio a pH 9 y 11, reportaron valores de $2.48 \pm 0.23 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ y de $1.98 \pm 0.03 \times 10^6$ cél.mL⁻¹, respectivamente. Estos resultados reflejan que el pH 7 optimiza el crecimiento de *Scenedesmus sp.* a las condiciones de cultivos expuestas. No obstante, en condiciones ligeramente ácidas a pH 6 se observó cierta tolerancia hasta el día 12 con una densidad celular reducida hasta de $1.78 \pm 0.05 \times 10^6$ cél.mL⁻¹; la misma que es más reducida a pH 5 con $0.6 \pm 0.08 \times 10^6$ cél.mL⁻¹; mientras que a partir del día 12, este pH causó mortalidad en los cultivos.

Crecimiento medido por Turbidez

El mayor valor de absorbancia a 680 nm se obtuvo a 0 UPS con 1.44 ± 0.13 , seguido del pH 11 con 1.39 ± 0.09 ; sin embargo, el menor valor se registró a pH 5 y a 6 UPS con 0.090 ± 0.009 . El análisis estadístico presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los distintos tratamientos estudiados tanto para el factor salinidad como para el pH.

Por otra parte, en los tratamientos a 6 UPS fue el control quien obtuvo superioridad ($p > 0.05$) en los valores de absorbancia registrados con 1.13 ± 0.05 , seguido del pH 9 que presentó 1.02 ± 0.03 .

De la misma manera en los ensayos a 12 UPS se presentó la misma tendencia en que el control obtuvo los mayores valores de absorbancia (0.42 ± 0.04), seguido del pH 9 con (0.36 ± 0.02).

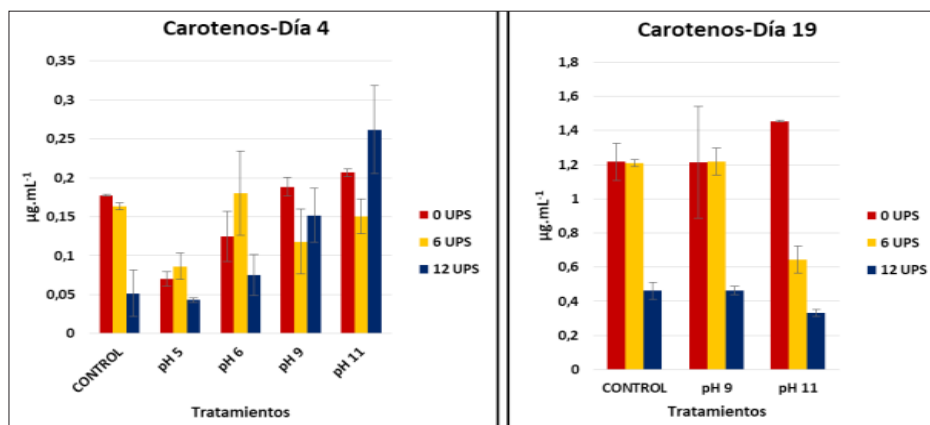


Figura 1. Efecto del pH y a diferentes concentraciones de NaCl (UPS) sobre el contenido de carotenos totales (µg.mL⁻¹) en *Scenedesmus sp.*

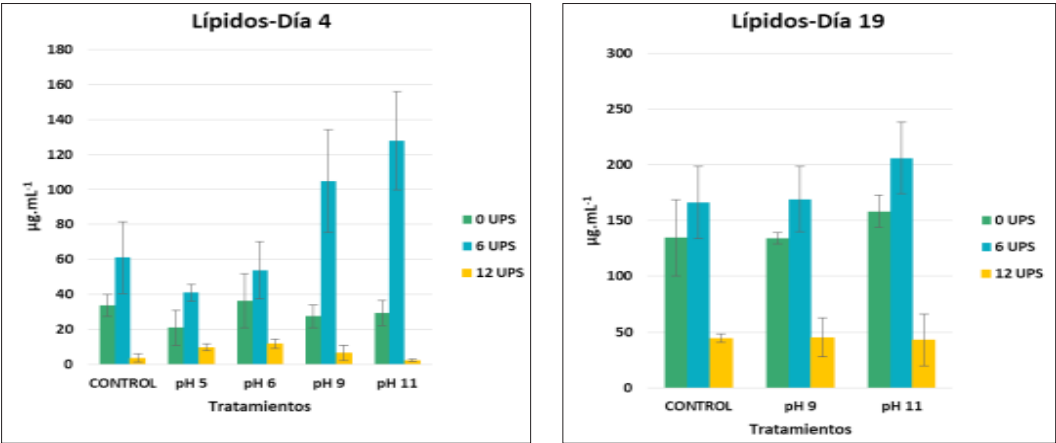


Figura 2. Contenido de lípidos ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) de *Scenedesmus* sp. a diferentes pH y salinidades.

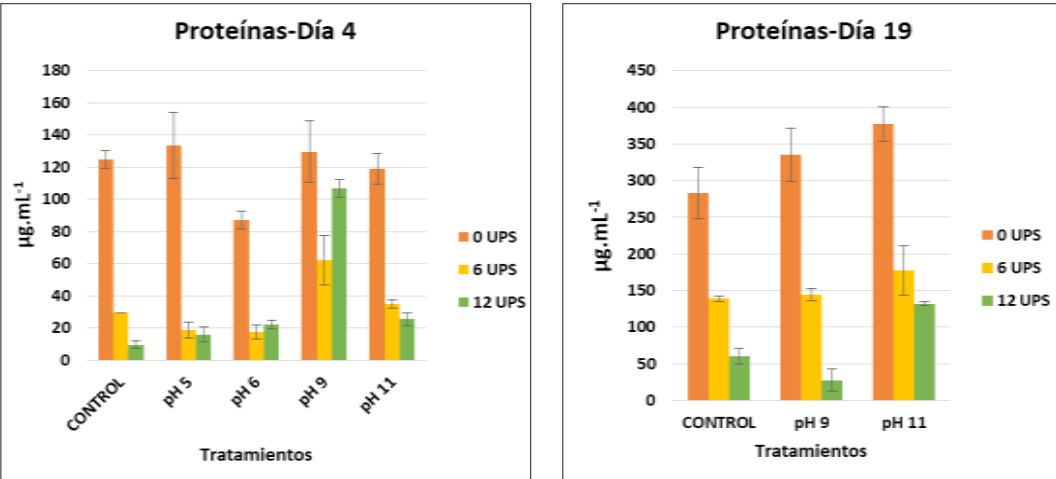


Figura 3. Contenido de Proteínas ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) de *Scenedesmus* sp. (salinidad-pH) en los días 4 y 19.

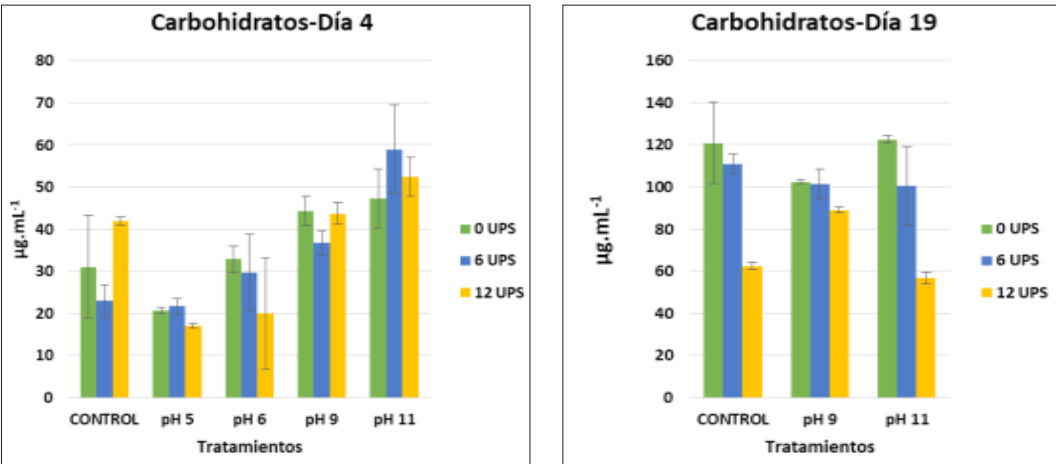


Figura 4. Producción de carbohidratos a diferentes pH y salinidad de *Scenedesmus* sp. en los días 4 y 19.

Pigmentos Fotosintéticos

1. Clorofila total

El contenido de clorofila total fue superior ($p < 0.05$) en el control (pH 8.10) a 0 UPS con $7.55 \pm 0.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en el día 19 de cultivo, seguido del pH 9 a salinidad de 6 UPS con $6.56 \pm 0.44 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; mientras que la menor concentración se obtuvo a 12 UPS de salinidad con $1.85 \pm 0.31 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

2. Carotenos totales

El mayor contenido de carotenoides se obtuvo a 12 UPS y 0 UPS en los cultivos ajustados a pH 11, en estos se produjo un incremento con la edad del cultivo, es decir, del día 4 al 19 aumentó de 0.20 ± 0.004 a $1.45 \pm 0.004 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente. La menor producción se presentó a pH 5 en todos los tratamientos, alcanzando el máximo valor de $0.086 \pm 0.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ a la concentración de 6 UPS (Fig 1).

Producción de lípidos

La mayor acumulación de lípidos entre los tratamientos se obtuvo a 0 UPS y pH 6 con $36.50 \pm 15.60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, seguido de los ensayos a 6 UPS y pH 11 con valores de $127.73 \pm 58.06 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para el día 4. Por lo tanto, hacia el día 19 se evidenció un incremento de los valores de acumulación en los distintos tratamientos, mostrando un contenido superior de lípidos el pH 11 a 6 UPS con $206.16 \pm 32.37 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, seguido de 0 UPS con $158.34 \pm 14.35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, y con la menor producción el pH 9 a 12 UPS, con un valor de $45.18 \pm 17.48 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Fig 2).

Producción de proteínas

Los cultivos a 0 UPS y pH 9 presentaron concentraciones superiores con $129.73 \pm 18.92 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ hacia el día 4; sin embargo, se evidenció un cambio hacia el día 19 donde el pH 11 mostró el mayor valor con $377.37 \pm 23.88 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, seguido del pH 9 con $334.89 \pm 36.47 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. De la misma forma a salinidad 6 y 12 UPS las concentraciones superiores se registraron a pH 9 con 62.36 ± 15.4 y $106.67 \pm 5.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente para el día 4 de cultivo; mientras que hacia el día 19 se demostró una variación en la producción, siendo el pH 11 el que mayor contenido de proteínas presentó con $177.08 \pm 33.47 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para la concentración de 6 UPS, y $132.16 \pm 2.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para 12 UPS (Fig 3).

Producción de Carbohidratos

La concentración de carbohidratos en cultivos no salinos para el día 4 fue de $47.33 \pm 6.99 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, con un aumento para el día 19 de $122.69 \pm 1.68 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en cultivos ajustados a pH 11. De la misma manera, en cultivos adaptados a 6 UPS el mayor contenido se registró a pH 11 con valores de $58.94 \pm 32.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en el día 4, cabe recalcar que para el día 19 el control (pH 8) obtuvo los mayores valores de productividad con $111.08 \pm 4.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. La menor producción se produjo a pH 5 con $21.68 \pm 1.9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; así mismo a la concentración de 12 UPS el pH 11 presentó los contenidos superiores de carbohidratos hacia el día 4 con $52.46 \pm 4.68 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; sin embargo, para el día 19 la máxima acumulación se evidenció a pH 9 con $89.25 \pm 1.26 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Fig 4).

Discusión

Este estudio demostró que *Scenedesmus* sp. (UGB-RJ-3009) presentó respuestas diversas al estrés inducido por la salinidad y el pH. En cuanto a la salinidad, este género de microalga de hábitat dulceacuícola, presentó tolerancia al NaCl hasta 26 UPS, comprometiendo el crecimiento con la menor densidad celular obtenida a esta salinidad; mientras que a medida que se aumentó gradualmente la salinidad hasta 36 UPS se evidenció una disminución del crecimiento celular en comparación con el control que presentó un máximo de $7.13 \pm 0.53 \times 10^6 \text{ cél} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Estos datos son comparables con los expresados por Arora *et al.* (2019) quienes demostraron que la presencia del NaCl puro en el medio de cultivo puede afectar a la microalga produciendo inhibición de su crecimiento a altas concentraciones; a 36, 18 y 6 UPS. Sin embargo, el presente estudio demostró que a concentraciones de 6 y 12 UPS se produjo una buena capacidad de adaptación al NaCl.

Al respecto, Pandit, Fulekar y Karuna (2017), registraron que *Chlorella vulgaris* y *Acutodesmus obliquus* presentaron buen crecimiento con el incremento de Cloruro de sodio de 0 a 6 UPS; mientras que al aumentar la concentración de NaCl a 18 y 24 UPS el crecimiento de ambas microalgas disminuyó. La disminución de la densidad celular en respuesta al aumento de la concentración de cloruro de sodio permite inferir que esta cepa de microalga es poco halotolerante a niveles mayores a 12 UPS de salinidad. El crecimiento inhibitorio a pH 5 demuestra que esta cepa de *Scenedesmus* sp. no es resistente a las condiciones ácidas de cultivo este comportamiento es similar a los presentados por Difusa *et al.* (2015), quienes reportaron que las condiciones ácidas (pH 5 y 6) no favorecieron el crecimiento celular y la productividad de biomasa obteniendo una disminución lineal del crecimiento en estas condiciones debido a que las microalgas presentan sensibilidad a las variaciones o cambios de pH, este factor tiene un efecto significativo en el crecimiento y producción bioquímica de las mismas.

La salinidad tuvo efecto en la producción de pigmentos fotosintéticos disminuyendo los valores de clorofila *a*, *b*, y carotenoides con el aumento de cloruro de sodio de 0 a 12 UPS. Los mismos, son comparables con los registrados por Kirrolia, Bishnoi y Singh (2011), en los que encontraron que a concentraciones de 0.012 UPS y 0.006 UPS la concentración de clorofilas de *Scenedesmus quadricauda* disminuyó con el incremento de NaCl en comparación con el control de los tratamientos estudiados.

Por otra parte, para el factor pH el mayor contenido de clorofila total y de carotenos se registraron en el control (pH 8-10) a 0 UPS y 12 UPS y pH 11, respectivamente; demostrándose que el pH tuvo efecto positivo en la producción de pigmentos liposolubles en todos los tratamientos. En cambio,

en una cepa de *Chlorella* sp. estudiada por Mora, Moronta, Ortega y Morales (2005) se demostró que el contenido de clorofila y carotenoides se incrementa con el aumento de la salinidad en comparación con el control; además reportaron que el pH no tuvo influencia en la producción de pigmentos, como ha sido observado en *Scenedesmus* sp.

La composición bioquímica de la microalga se vio influenciada por el pH y la salinidad; de este modo la producción de proteínas fue mayor en los tratamientos a 0 UPS y pH 11; pero disminuyendo con el aumento de la salinidad a 6 y 12 UPS. Estos datos no concuerdan con los obtenidos por Kirrolia, Bishnoi y Singh (2011); puesto que en su investigación mostraron que el contenido de proteínas de *Scenedesmus* era menor a concentraciones de NaCl entre 0.012 y 0.024 UPS; mientras que a mayor salinidad 0.036 UPS el contenido de proteínas aumentó.

La mayor producción de carbohidratos se evidenció en cultivos no salinos, el estrés inducido por la salinidad provocó que *Scenedesmus* presentara una respuesta diversa en el contenido de carbohidratos; puesto que en los primeros días de cultivo (día 4) se presentó mayor contenido de estas macromoléculas con aumento de la salinidad (12 UPS). Sin embargo, hacia el final del experimento se obtuvo un comportamiento distinto en la productividad de hidratos de carbono de la célula, obteniendo los mayores valores de producción en cultivos no salinos. Además, dentro del rango de pH estudiado la mejor respuesta se presentó en el pH 11 con un contenido máximo de 122.69 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Estos resultados discrepan con los expresados por Kirrolia, Bishnoi y Singh (2011), que demostraron que el contenido de carbohidratos aumentó en todas las concentraciones de salinidad (0.012-0.036 UPS) estudiadas, aunque las concentraciones utilizadas en el presente estudio son muy bajas; mientras que Arora et al. (2019) evidenciaron un incremento del contenido de carbohidratos con el aumento de la salinidad de 6 a 36 UPS de NaCl; este comportamiento puede deberse a que la célula establece estrategias fisiológicas para regular su equilibrio osmótico, produciendo moléculas para resistir y/o adaptarse a las condiciones estresantes de cultivo.

En cuanto al contenido de lípidos en relación al pH entre 5 y 11, los resultados sugieren que este factor no tuvo influencia en su producción.

El comportamiento de *Scenedesmus* sp. frente al incremento de la salinidad desde 0 a 6 UPS de NaCl sí fue efectivo, pero no lo fue al ser expuesta a un incremento gradual de 12 UPS; esto sugiere que esta cepa de *Scenedesmus* es halotolerante solo a bajas concentraciones. Este hallazgo es comparable con los registrados por Kirrolia, Bishnoi y Singh (2011), quienes observaron una disminución del porcentaje de acumulación de lípidos con el aumento de la salinidad; mientras que Salama et al. (2013) obtuvieron un mayor porcentaje de acumulación con el aumento de la salinidad a 1.5 UPS. De tal manera

que es posible que tal efecto sea dependiente de cada especie de microalga.

Conclusiones

Los resultados de la adaptación gradual a diferentes concentraciones de NaCl nos permiten concluir que esta cepa de *Scenedesmus* sp. es halotolerante; puesto que evidencia tolerancia al estrés producido por la salinidad hasta 26 UPS. Sin embargo, el mejor crecimiento se registró a las concentraciones de 6 UPS y 12 UPS sin superar al control; mientras que con el aumento de la salinidad hasta 36 UPS se observó una disminución considerable del crecimiento celular.

De acuerdo a los resultados obtenidos sobre el efecto del pH (5, 6, 7, 9, 11) se demostró que *Scenedesmus* sp. presentó el mejor crecimiento a pH 9 y a 0 UPS, con una densidad celular máxima de $9.48 \pm 0.32 \times 10^6$ cél. mL^{-1} ; esto demuestra su nicho alcalino. En cambio, en condiciones ácidas entre pH 6 y 5 mostró tolerancia hasta el día 12 y 4, respectivamente, pero con una mortalidad tanto en los cultivos controles a pH 8-10, como a los sometidos a salinidades de 6 y 12 UPS.

Esto significa que en medio ácido la microalga no reflejó un crecimiento sustentable. Sin embargo, a pH 6 y con un aumento de salinidad a 6 UPS *Scenedesmus* sp. 6 valores a pH 11 y hasta la salinidad de 6UPS mostró resistencia en el crecimiento hasta el día 12.

En cuanto al efecto de la salinidad y pH sobre el contenido de clorofila *a* y *b* se produjo el valor más elevado en el control (0 UPS y a pH 8-10); pero en cambio hubo un descenso con la salinidad. Así mismo, la mayor concentración de carotenoides se obtuvo a 0 UPS y pH 11. Estos resultados sugieren que, *Scenedesmus* sp. acumula mayor contenido de clorofila y de carotenoides cuando se expone a condiciones no salinas y en medio alcalino.

El pH no demostró influencia en la producción de lípidos puesto que no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos; sin embargo, la salinidad a 6 UPS estimuló su producción.

En relación al contenido de proteínas se encontraron los valores más elevados entre pH 7 y 10; no obstante en condiciones ácidas no fue favorecida su producción en diferentes salinidades.

La concentración de carbohidratos se modificó en los diferentes tratamientos salinidad-pH, registrándose los mayores

El presente estudio sugiere que *Scenedesmus* sp. es una cepa con una moderada tolerancia a la salinidad y con capacidad de óptimo crecimiento y producción de pigmentos, proteínas y carbohidratos en condiciones no salinas y en medio alcalino.

Recomendaciones

Realizar estudios sobre la haloterancia específica de *Scenedesmus* sp. para identificar a que concentración de cloruro de sodio se produce la mayor cantidad de lípidos, para realizar cultivos intensivos con fines comerciales.

Investigar las condiciones de cultivo óptimas de esta cepa en medios de cultivo de bajo costo para optimizar una producción rentable de metabolitos de interés comercial.

Extender los estudios sobre el efecto del pH y salinidad en la producción de biomasa, carbohidratos, proteínas, lípidos y pigmentos fotosintéticos en otras cepas microalgales nativas.

Referencias

- Arredondo, B., Cordero, B., y Voltolina, D. (2017). Determinación de pigmentos totales métodos espectrofotométricos. B. Arredondo, D. Voltolina, T. Zenteno, M. Arora, N., Laurens, L., Sweeney, N., Pruthi, V., Poluri, K., y Pienkos, P. (2019). Elucidating the unique physiological responses of halotolerant *Scenedesmus* sp. cultivated in sea water for biofuel production. *Algal Research*, 37:260-268.
- Arce & G. Gómez (Eds.), Métodos y herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal, pp. 75-82. México.
- Bermeo, L. (2011). *Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado* (Maestría). Universidad de Cádiz. España, 54 p.
- Difusa, A., Talukdar, J., Kalita, M., Mohanty, K., y Goud, V. (2015). Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species. *Biofuels*, 6(1-2): 37-44.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., y Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- Kirrolia, A., Bishnoi, N., y Singh, N. (2011). Salinity as a factor affecting the physiological and biochemical traits of *Scenedesmus quadricauda*. *Journal Of Algal Biomass Utilization*, 2(4), 28-33.
- Lowry, O., Rosenbrough, H., Farr, A., y Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent *Biological Biochemistry*, 193, 265-275.
- Maldonado, E., Morales, E., y Romero, P. (2014). *Evaluación de la capacidad mixotrófica de la microalga Graesiella emersonii (Chlorella emersonii) con sustratos amiláceos* (p.2). Recuperado de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/8568/1/AC-B-ESPE-047755.pdf>
- Marsh, B., & Weinstein, B. (1966). Simple charring method for determination of lipids. *Journal of Lipid Research*, 7: 574-576.
- Mora, R., Moronta, R., Ortega, J., y Morales, E. (2005). Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. Recuperado de <http://www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/ciencia/article/viewFile/9214/920>
- Morales, E. (2012). Manual de Laboratorio: Algas en la Biotecnología.
- Escuela Politécnica Del Ejército, 59-93. Pandit, P., Fulekar, M., y Karuna, M. (2017). Effect of salinity stress on growth, lipid productivity, fatty acid composition, and biodiesel properties in *Acutodesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*.

Environmental Science And Pollution Research, 24(15), 1343713451.

Salama, E., Kim, H., Abou-Shanab, R., Ji, M., Oh, Y., Kim, S., y Jeon, B. (2013). Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress. *Bioprocess And Biosystems Engineering*, 36(6): 827-833.

Von Albenleben, N., Magnusson, M., y Heimann, K. (2015). Salinity tolerance of four freshwater microalgal species and the effects of salinity and nutrient limitation on biochemical profiles. *Journal Of Applied Phycology*, 28(2): 861-876.

Wellburn, A. (1994). The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal Of Plant Physiology*, 144(3):307-313.