

UNIVERSIDAD DEL MAR



Evaluación del crecimiento y determinación de pigmentos de cuatro cepas de *Dunaliella* Teodoresco (1905), (Chlorophyta:Chlorophyceae) en laboratorio a diferentes condiciones de cultivo.

TESIS

que para cumplir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
LICENCIADO EN BIOLOGÍA MARINA

presenta:

Leticia Sánchez Estudillo

Puerto Ángel, Oaxaca, Julio de 2002

Resumen de tesis de **Leticia Sánchez Estudillo** presentada como requisito parcial para obtener el grado de **LICENCIADO EN BIOLOGÍA MARINA**, Puerto Ángel, Oaxaca, México, julio de 2002.

“EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO Y DETERMINACIÓN DE PIGMENTOS DE CUATRO CEPAS DE *Dunaliella* TEODORESCO (1905) (CHLOROPHYTA:CHLOROPHYCEAE) EN LABORATORIO A DIFERENTES CONDICIONES DE CULTIVO”.

Resumen aprobado por:

I.B.Q. Amado Jorge Shain Mercado

Director de Tesis

El género *Dunaliella* ha sido estudiado por ser organismos que se utilizan como alimento en acuicultura y para obtener metabolitos de importancia comercial, Diversas combinaciones de factores como salinidad, variación de nutrientes, iluminación y temperatura se han realizado para promover la acumulación de pigmentos accesorios. En este estudio se presentan la variación de la concentración de nitratos y la salinidad para evaluar la promoción de la acumulación de la relación carotenos:clorofila “a”. En este sentido, se aisló una cepa (DUN3) de *Dunaliella* del sistema salino “La Colorada”, Tehuantepec Oaxaca, para comparar su crecimiento celular y la capacidad de acumular pigmentos fotosintéticos con el de otras cepas (DUN1, DUN2, DUN3 y DUN4) del mismo género cultivadas en el laboratorio. Se ensayaron 3 condiciones de cultivo variando las concentraciones salinas (10, 15 y 20 %) y disminuyendo la cantidad de nitratos (75, 37.5 y 25 mg·L⁻¹) en el medio f/2. La iluminación (465.12 μE m⁻²s⁻¹) y temperatura (23 ± 2° C) se mantuvieron constantes durante los 15 días del cultivo en un sistema batch.

El seguimiento de los cultivos se realizó por conteo celular directo y la determinación de los pigmentos (clorofila “a”, “b” y carotenos totales) mediante un análisis espectrofotométrico. Se observó que la concentración salina elevada (20%) y una deficiencia en la cantidad de nitratos disueltos (25 mg·L⁻¹)-en el medio de cultivo fueron factores que retardaron el crecimiento celular en DUN1 y DUN2 (p<0.05). Las cepas DUN3 y DUN4 no presentaron diferencias significativas entre las poblaciones creciendo bajo las condiciones de cultivo establecidas.

El análisis espectrofotométrico realizado para cada cepa demostró que existieron diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de pigmentos para DUN1 y en la clorofila “a” de DUN2 (p< 0.05). Las cepas DUN3 y DUN4 así como la clorofila “b” y carotenos totales de DUN2 no presentaron diferencias estadísticamente significativas (p>0.05) en su acumulación de pigmentos al desarrollarse en las condiciones de cultivo propuestas. Las condiciones de cultivo propuestas en este trabajo fueron insuficientes para promover el cambio en la proporción de pigmentos fotosintéticos de las cepas ensayadas.

Palabras clave: *Dunaliella*, pigmentos accesorios, cultivo batch, salinidad, nitratos.

CONTENIDO

	Páginas	
1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	10
3	OBJETIVOS	15
	3.1 Objetivo General	15
	3.2 Objetivos Específicos	15
4	ÁREA DE ESTUDIO	16
5	MATERIAL Y MÉTODOS	19
	5.1 Colecta y adaptación de la cepa regional.	19
	5.2 Aislamiento celular.	21
	5.2.1 Aislamiento por pipetas capilares y placas de agar.	21
	5.2.2 Tratamiento con antibióticos.	22
	5.3 Cultivo de diferentes cepas de <i>Dunaliella</i> sp.	22
	5.4 Condiciones de cultivo.	23
	5.5 Crecimiento celular.	25
	5.6 Determinación del peso seco.	26
	5.7 Análisis de pigmentos.	27
	5.8 Análisis estadístico de los datos.	28
6	RESULTADOS	29
	6.1 Aislamiento celular.	29
	6.2 Cepa clonal DUN1.	30
	6.2.1 Crecimiento celular.	30
	6.2.2 Peso Seco.	31
	6.2.3 Pigmentos Fotosintéticos.	33
	6.3 Cepa clonal DUN2.	37
	6.3.1 Crecimiento celular.	37
	6.3.2 Peso Seco.	39
	6.3.3 Pigmentos Fotosintéticos.	39
	6.4 Cepa clonal DUN3.	43
	6.4.1 Crecimiento celular.	43
	6.4.2 Peso Seco.	45
	6.4.3 Pigmentos Fotosintéticos.	46
	6.5 Cepa clonal DUN4.	49
	6.5.1 Crecimiento celular.	49
	6.5.2 Peso Seco.	51
	6.5.3 Pigmentos Fotosintéticos.	51
	6.6 Comparación entre poblaciones de cada cepa.	54
7	DISCUSIÓN	56
	7.1 Aislamiento celular.	56
	7.2 Crecimiento celular	56
	7.3 Peso Seco.	59
	7.4 Relación de pigmentos fotosintéticos.	61
8	CONCLUSIONES	68
	LITERATURA CITADA	69
	ANEXO	79

Lista de Figuras

Figura		Página
1	Aplicaciones biotecnológicas en el cultivo de microalgas.	2
2	Esquema que representa la morfología típica de dos especies del género <i>Dunaliella</i> .	5
3	Intervalos de salinidad reportados para tres especies de <i>Dunaliella</i> .	6
4	Estructura química de algunos carotenoides presentes en el género <i>Dunaliella</i> .	8
5	Productos y usos que pueden obtenerse de los carotenos.	8
6	Área de estudio: Laguna “La Colorada”, Santiago Astata, Tehuantepec, Oaxaca, México.	18
7	Curva de crecimiento de una población cultivada en sistema cerrado (cultivo batch).	26
8	Crecimiento celular de la cepa DUN1 bajo tres condiciones de cultivo.	32
9	Relación entre pigmentos fotosintéticos y densidad celular de DUN1 en tres condiciones de cultivo.	36
10	Crecimiento de la cepa DUN2 cultivada en tres condiciones de cultivo.	38
11	Relación entre pigmentos fotosintéticos y densidad celular de DUN2 en tres condiciones de cultivo.	42
12	Crecimiento celular de la cepa DUN3 bajo tres condiciones de cultivo.	44
13	Relación entre pigmentos fotosintéticos y densidad celular de DUN3 en tres condiciones de cultivo.	48
14	Crecimiento de DUN4 (<i>Dunaliella salina</i>) cultivada bajo tres condiciones de cultivo.	50
15	Relación entre pigmentos fotosintéticos y densidad celular de DUN4 en tres condiciones de cultivo.	53

Lista de tablas

Tablas		Página
I	Distribución de pigmentos fotosintéticos entre divisiones algales.	1
II	Especies de algas explotadas comercialmente para obtención de productos alimenticios y químicos.	4
III	Nutrientes del medio f/2 de Guillard y Ryther (1962).	20
IV	Condiciones del medio de cultivo f/2 empleadas durante el experimento.	24
V	Densidad celular ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) de la cepa DUN1 en tres condiciones de cultivo dentro del laboratorio.	32
VI	Comparación estadística ($\text{Wilks}_{6,\alpha=0.05}$) de los pigmentos de la cepa DUN1 en diferentes condiciones de cultivo.	35
VII	Densidad celular ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) de la cepa DUN2 en tres condiciones de cultivo dentro del laboratorio.	38
VIII	Comparación estadística ($\text{Wilks}_{6,\alpha=0.05}$) de los pigmentos de la cepa DUN2 en diferentes condiciones de cultivo.	41
IX	Densidad celular ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) de la cepa DUN3 en tres condiciones de cultivo dentro del laboratorio.	44
X	Comparación estadística ($\text{Wilks}_{6,\alpha=0.05}$) de los pigmentos de la cepa DUN3 en condiciones de cultivo diferentes.	47
XI	Densidad celular ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) de la cepa DUN4 en tres condiciones de cultivo dentro del laboratorio.	50
XII	Comparación estadística ($\text{Wilks}_{6,\alpha=0.05}$) de los pigmentos de la cepa DUN4 en diferentes condiciones de cultivo.	52
XIII	Comparación estadística ($\text{Wilks}_{2,\alpha=0.05}$) del crecimiento poblacional en diferentes condiciones de cultivo para cuatro cepas del género <i>Dunaliella</i> .	54
XIV	Proporción final de la relación caroteno/clorofila "a" para cuatro cepas del género <i>Dunaliella</i> , bajo diferentes condiciones de cultivo.	55