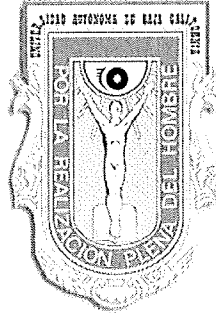


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**



**EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN ESPECTRAL DE LA LUZ EN EL CRECIMIENTO Y EN LA  
COMPOSICIÓN PROXIMAL DE *Scenedesmus obliquus***

**TESIS**

**QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL  
GRADO DE**

**LICENCIADO EN OCEANOLOGÍA**

**PRESENTA**

**ANELY FERNÁNDEZ ROBLEDO**

**ENSENADA, BAJA CALIFORNIA A FEBRERO DEL 2013**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN ESPECTRAL DE LA LUZ EN EL CRECIMIENTO Y EN LA  
COMPOSICIÓN PROXIMAL DE *Scenedesmus obliquus*

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO  
DE

LICENCIADO EN OCEANOLOGÍA

PRESENTA

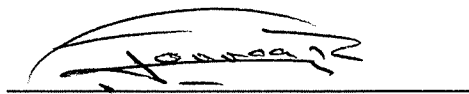
ANELY FERNÁNDEZ ROBLEDO

Aprobada por:



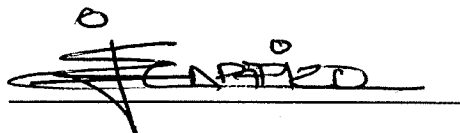
Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra

Director de tesis



Dr. Juan Gabriel Correa Reyes

Sinodal



Dr. Eugenio Carpizo Ituarte

Sinodal

## Resumen

En cultivos estáticos de *Scenedesmus obliquus* se evaluó el efecto de la composición espectral de la luz (blanca, roja, azul y verde), respecto al crecimiento, la composición proximal, la composición de pigmentos y los parámetros fotosintéticos.

Se encontró que la tasa de crecimiento ( $0.19 \text{ div. día}^{-1}$ ) y la concentración de células ( $1.19 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$ ) de *Scenedesmus obliquus* disminuyen al mantener los cultivos con luz roja. No se modificó la tasa de crecimiento y la concentración de células por efecto de la exposición de los cultivos a luz blanca ( $0.32 \text{ div. día}^{-1}$  y  $2.08 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$ ), luz azul ( $0.35 \text{ div. día}^{-1}$  y  $2.55 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$ ) y luz verde ( $0.34 \text{ div. día}^{-1}$  y  $2.15 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$ ).

Se encontraron importantes cambios en el contenido de proteínas y carbohidratos por efecto de la composición espectral de la luz y por efecto de la fase de crecimiento. Durante la fase de crecimiento exponencial los cultivos expuestos con luz roja tuvieron el menor porcentaje de proteínas (6.11%), mientras que el resto de los tratamientos presentaron valores mayores y no mostraron diferencias significativas por efecto del tipo de luz utilizada (luz blanca 24.49%, luz azul 24.43% y luz verde 26.47). El mayor contenido de carbohidratos se obtuvo al mantener los cultivos con luz roja en la fase de crecimiento exponencial (48.84%). No se presentó diferencia significativa en el contenido de lípidos por efecto de la composición espectral de la luz y tampoco por efecto de la fase de crecimiento de *Scenedesmus obliquus*.

Los mayores valores de clorofila "a" y "b" se tuvieron al mantener los cultivos con luz azul ( $31.47 \text{ mg m}^{-3}$  y  $9.10 \text{ mg m}^{-3}$  respectivamente) durante la fase exponencial y en luz verde ( $30.46 \text{ mg m}^{-3}$  y  $9.26 \text{ mg m}^{-3}$ ) durante la fase estacionaria. Los menores valores de clorofila "a" y "b" se obtuvieron en los cultivos expuestos con luz roja en ambas fases de crecimiento. El contenido de clorofila "c" no mostró cambios por efecto de la composición espectral de la luz utilizada y tampoco por efecto de la fase de crecimiento. El contenido de carotenoides presentó una tendencia similar a la descrita para el contenido de clorofila "a" y "b", y mostró mayores valores al exponer los cultivos con luz azul ( $16.48 \text{ mg m}^{-3}$ ) en la fase exponencial y para la luz verde ( $12.91 \text{ mg m}^{-3}$ ) en la fase estacionaria. El menor contenido de carotenos fue con el tratamiento de luz roja en ambas fases de crecimiento ( $1.97 \text{ mg m}^{-3}$  y  $3.57 \text{ mg m}^{-3}$  para la fase exponencial y estacionaria respectivamente).

La fotosíntesis máxima ( $P_{\text{máx}}$ ) y el índice de saturación lumínica ( $I_k$ ) para *Scenedesmus obliquus* mostraron una tendencia similar y no tuvieron cambio por efecto de la distinta composición espectral de la luz y tampoco por efecto de la fases de crecimiento. Los valores de la eficiencia fotosintética ( $\alpha$ ) fueron similares durante la fase exponencial y mayores para la luz azul en la fase estacionaria.

Se concluye que la composición espectral de la luz modifica las rutas metabólicas en las células de *Scenedesmus obliquus* y causa importantes cambios en la tasa de crecimiento, en la composición proximal, en la síntesis de pigmentos y en la tasa de fotosíntesis.

**Palabras clave:** *Scenedesmus obliquus*, composición espectral de la luz, crecimiento, composición proximal y tasa de fotosíntesis.

## **Dedicatoria**

Primeramente a Dios por brindarme valor, sabiduría y paciencia para realizar mi tesis que fue de gran utilidad para mi formación académica.

A mis padres por darme su apoyo y su amor incondicional para realizar mis estudios.

A mis hermanos porque sé que en cualquier momento difícil de mi vida podré contar con ellos.

A mis amigos que hicieron que estos cuatro años de carrera fueran menos difíciles y más divertidos y llenos de risa.

## **Agradecimientos**

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) por brindarme sus instalaciones y darme la oportunidad de realizar mi tesis.

A mi Directora de tesis, la Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra porque sin ella este trabajo no hubiera sido posible, gracias por creer en mí, por sus enseñanzas, atenciones, paciencia y sobre todo su tiempo.

A los miembros del comité de tesis, el Dr. Eugenio Carpizo Ituarte y el Dr. Juan Gabriel Correa Reyes, por aceptar ser parte de este trabajo que será de gran utilidad para mi formación académica, por su tiempo y sus valiosas observaciones.

Al apoyo económico para la realización de esta tesis a través del proyecto del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SEP-CONACyT proyecto 130074).

A la Dirección de Estudios de Posgrado del CICESE y al Departamento de Acuicultura, por otorgarme un mes de beca de entrenamiento técnico.

A mis padres, hermanos y amigos por su apoyo y cariño que hacen que mi vida sea grandiosa.

A mis compañeros de laboratorio, Estrella Núñez, Socorro Jiménez, Flor Sánchez, Jannette Martínez, Luis Márquez, Diana Cuesta, Carlos López, Ernesto Ponce de León, Fernando Márquez y Cecilia Loera, por su amistad, apoyo y enseñanzas que me ayudaron a realizar mi tesis.

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
I. Introducción	1
I. 1. Hipótesis	6
1. 2. Objetivos	6
1. 2. 1. Objetivos particulares	6
II. Materiales y Métodos	7
II. 1. Cultivo de <i>Scendesmus obliquus</i>	7
II. 2. Crecimiento	8
II. 3. Análisis proximal	9
II. 4. Peso seco y contenido de cenizas	9
II. 5. Pigmentos y fotosíntesis	10
II. 6. Análisis estadístico	11
III. Resultados	12
III. 2. Crecimiento	12
III. 3. Análisis proximal	13
III. 4. Peso seco y contenido de cenizas	16
III. 5. Pigmentos y fotosíntesis	20
IV. Discusión	25
V. Conclusiones	31
VI. Recomendaciones	32
VII. Literatura citada	33

## Índice de figuras

Figura		Página
1	Concentración celular de <i>Scenedesmus obliquus</i> (Cél. ml <sup>-1</sup> ) mantenidas por 9 días en cultivos estáticos; con distinta composición espectral de luz: Luz blanca (●), luz roja (○), luz azul (▼) y luz verde (△). Para cada tratamiento n=3 y las barras indican el error estándar.	12
2	Porcentaje de proteínas (■), lípidos (□) y carbohidratos (▣) de <i>Scenedesmus obliquus</i> durante la fase de crecimiento exponencial en cultivos estáticos y bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBX), luz roja (LRX), luz azul (LAX) y luz verde (LVX). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba <i>a posteriori</i> en donde $a < b < c$ con $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.	14
3	Porcentaje de proteínas (■), lípidos (□) y carbohidratos (▣) de <i>Scenedesmus obliquus</i> durante la fase de crecimiento estacionaria, en cultivos estáticos y bajo distinta composición espectral de la luz: luz blanca (LBE), luz roja (LRE), luz azul (LAE) y luz verde (LVE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba <i>a posteriori</i> con $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.	14
4	Contenido de peso seco total (PST: ■), peso seco orgánico (PSO: □) y peso de cenizas (PC: ▣), de <i>Scenedesmus obliquus</i> durante la fase de crecimiento exponencial en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBX), luz roja (LRX), luz azul (LAX) y luz verde (LVX). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba <i>a posteriori</i> en donde $a < b < c$ con $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.	17
5	Contenido de peso seco total (PST: ■), peso seco orgánico (PSO: □) y peso de cenizas (PC: ▣), de <i>Scenedesmus obliquus</i> durante la fase de crecimiento estacionaria en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBE), luz roja (LRE), luz azul (LAE) y luz verde (LVE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba <i>a posteriori</i> en donde $a < b$ con $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.	17

Figura	Índice de figuras (continuación)	Páginas
6	<p>Contenido de clorofila a (■), b (□), c (▣) y carotenoides (□) de <i>Scenedesmus obliquus</i> durante la fase de crecimiento exponencial en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBX), luz roja (LRX), luz azul (LAX) y luz verde (LVX). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba <i>a posteriori</i> en donde <math>a &lt; b &lt; c</math>. Las barras indican el error estándar.</p>	19
7	<p>Contenido de clorofila a (■), b (□), c (▣) y carotenoides (□) de <i>Scenedesmus obliquus</i> durante la fase de crecimiento estacionaria en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBE), luz roja (LRE), luz azul (LAE) y luz verde (LVE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba <i>a posteriori</i> en donde <math>a &lt; b</math> con <math>\alpha = 0.05</math>. Las barras indican el error estándar.</p>	19

## Índice de Tablas

Tabla		Página
I	Valores promedio y desviación estándar de la tasa de crecimiento ( $\mu$ ), concentración celular y días en fase exponencial de cultivos estáticos de <i>Scenedesmus obliquus</i> mantenidos en distinta composición espectral de la luz.	13
II	Valores promedio y desviación estándar de los parámetros fotosintéticos durante la fase exponencial y estacionaria en cultivos estáticos de <i>Scenedesmus obliquus</i> mantenidos con distinta composición espectral de luz.	23

## I. Introducción

Las microalgas son organismos acuáticos, ecológicamente importantes ya que son el primer eslabón de la cadena trófica debido a su capacidad de realizar la fotosíntesis, es decir, utilizan como fuente de energía la luz del sol y los nutrientes disponibles del medio para su crecimiento y desarrollo. En los últimos años se han incrementado los estudios de las microalgas (marinas o de agua dulce) referentes a sus aspectos fisiológicos, bioquímicos y tecnología de cultivo (Rosenberg *et al.*, 2008). El interés por mejorar los sistemas de cultivo de microalgas se debe a sus importantes aplicaciones en el área de la acuicultura, la biotecnología marina y en la farmacéutica, ya que las microalgas pueden llegar a ser utilizadas como alimento, en la depuración de aguas residuales, en la extracción de productos químicos, así como otras diversas aplicaciones en la industria.

Las altas concentraciones de proteínas, carbohidratos, lípidos y vitaminas que contienen los cultivos de microalgas las hacen fundamentales para la alimentación de zooplancton, durante todo el ciclo de vida de moluscos, y en etapas larvarias de crustáceos y peces (Brown *et al.*, 1997; D'Souza y Kelly, 2000; Renaud *et al.*, 2002). Por esta razón, el estudio de las rutas metabólicas de las microalgas se ha convertido en un tema de investigación muy importante ya que la manipulación de estas rutas por factores ambientales, pueden modificar el funcionamiento celular y obtener la síntesis de productos finales deseados (carbohidratos, proteínas, lípidos y pigmentos) con importantes aplicaciones en la industria alimenticia (Rosenberg *et al.*, 2008).

El crecimiento de las microalgas depende de varios factores como son el tipo de especie, el tipo de sistema de cultivo y la capacidad de respuesta fisiológica de las microalgas al ser mantenidas en distintas condiciones de cultivo. Las principales variables medioambientales que influyen en el crecimiento y en la composición proximal de microalgas son los relacionados con la concentración de nutrientes, la intensidad y la composición espectral de la luz, la temperatura, la salinidad y el pH, entre otros (Wikfors, 1986; Richmond, 1986; Fabregas *et al.*, 1989; López-Muñoz *et al.*, 1992; Sánchez-Saavedra, 1994).

La composición espectral de la luz es una variable medioambiental que puede originar variaciones importantes en la tasa de crecimiento, el metabolismo, la composición bioquímica y en el tipo y la cantidad de los pigmentos fotosintéticos del fitoplancton en ecosistemas acuáticos en el medio natural y también en sistemas de cultivo en laboratorio (Lafarga-de la Cruz, 2000). La absorción de la luz en el medio acuático comienza con la captura de fotones por medio de células que contienen pigmentos fotosintéticos como la clorofila y/o pigmentos accesorios. Estos pigmentos tienen dos bandas principales de absorción, uno en la región azul (425-490 nm) y otro en la región roja (640-740) del espectro de luz (Kirk, 1983). La luz visible abarca una longitud de onda entre los 400-700 nm. Mientras menor sea la longitud de onda de la luz, es mayor la energía transmitida por un fotón, es decir la energía de un fotón es inversamente proporcional a su longitud de onda. Es por esto que Kirk (1983), describe que inmediatamente después de la absorción de un fotón con luz azul, se presenta más rápidamente la transición de energía electrónica que cuando ocurre la absorción de un fotón con luz roja.

En el medio natural, la luz penetra en mayor profundidad en aguas oceánicas que en aguas costeras, debido principalmente a la baja concentración de Material Orgánico Disuelto (MOD) y de partículas (orgánicas e inorgánicas), mientras que en zonas costeras se favorece la productividad primaria debido a que se produce una gran dispersión y absorción de luz, y por tanto, las aguas son más turbias y de color verdoso, característico de aguas productivas (Kirk, 1983). El efecto de la intensidad de la luz y su composición espectral (calidad de luz) en el ambiente marino se ha investigado ampliamente, ya que ambas variables cambian con la profundidad durante el día. Al penetrar la luz en el océano la luz roja es la longitud de onda que es absorbida en los primeros metros de la columna de agua, mientras que la luz azul penetra en los ambientes bentónicos y habitualmente esta disponible para la actividad fotosintética de los organismos (Kirk, 1983; Correa-Reyes *et al.*, 2001). La luz es un factor limitante en la fisiología de las microalgas debido a su efecto en la fotosíntesis como fuente de energía, por lo que esta variable influye en el metabolismo celular (Darley, 1987). Particularmente la luz azul induce cambios en la tasa de crecimiento y en el contenido de pigmentos fotosintéticos o fotoprotectores, y puede llegar a estimular o inhibir el proceso de

la fotosíntesis (Senger, 1987). Los cambios en la eficiencia fotosintética inducidos por la calidad de luz pueden ser debido a un inbalance en los fotosistemas, alteraciones en el flujo de electrones entre el FSII (Fotosistema II) y el FSI (Fotosistema I) y en la tasa de fijación del carbono (Mercado *et al.*, 2001). También, por el efecto de la calidad de luz se producen cambios cualitativos y cuantitativos en la composición bioquímica de las microalgas, es decir hay variaciones en el contenido de carbohidratos, proteínas y lípidos producidos durante la actividad metabólica. Se ha demostrado que de forma general en vegetales la luz azul estimula la producción de aminoácidos y proteínas mientras que la luz roja y blanca favorece el contenido de carbohidratos. Al parecer los lípidos no se ven fuertemente modificados por efecto de la composición espectral de la luz (Wallen y Geen, 1971 a, b). Sin embargo, estudios con un enfoque fisiológico de las algas han demostrado que el efecto de la luz azul varía entre los diferentes grupos taxonómicos de plantas.

Por otra parte se han realizado diversos estudios sobre el efecto de la calidad de luz en la tasa de crecimiento, la morfología de las células y el contenido de pigmentos en microalgas, tal es el caso de Sánchez-Saavedra y Voltolina (1994) que trabajaron con la diatomea *Chaetoceros* sp. y compararon la influencia de la luz azul, luz blanca y la mezcla de ambos tipos de luz respecto a la composición bioquímica y la tasa de crecimiento. Los resultados indicaron que el contenido de proteínas no mostró diferencias significativas, mientras que en la mezcla de luz azul con luz blanca ambiental causó una importante disminución en el contenido de carbohidratos y un incremento en la cantidad de lípidos. También demostraron que al incrementar la intensidad de la luz se aumenta la producción de biomasa, y se encontró que la fotoinhibición se presentó más rápido en luz blanca que en luz azul (>498 y 565  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente). Marchetti *et al.* (2012), mantuvieron cultivos de *Isochrysis* sp. expuestos a luz azul y también observaron bajas concentraciones de carbohidratos y altas concentraciones en proteínas y clorofila "a". Sánchez-Saavedra y Voltolina (2002), evaluaron la eficiencia del crecimiento relativo en tres distintas especies de microalgas y encontraron que la respuesta del crecimiento estuvo relacionada con la composición espectral de la luz y de la irradiancia. Con la diatomea *Chaetoceros* sp. y *Skeletonema costatum* el crecimiento relativo fue significativamente mayor a 210  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

con la mezcla de luz azul-verde, mientras que en *Thalassiosira pseudonana* fue mayor con luz blanca. Wallen y Geen (1971 a,b) trabajaron con las microalgas *Cyclotella nana* y *Dunaliella tertiolecta* y demostraron que la calidad de luz afecta directamente la tasa de crecimiento. Estos autores obtuvieron una tasa de crecimiento en *C. nana* de 0.37, 0.29 y  $0.25 \times 10^{-4}$  cél. ml<sup>-1</sup> en luz azul, blanca y verde respectivamente y para *D. tertiolecta* se observaron valores de 0.41, 0.31 y  $0.29 \times 10^{-4}$  cél. ml<sup>-1</sup> en luz azul, blanca y verde respectivamente. La tasa fotosintética en ambas especies fue mayor en luz azul y menor en luz verde en comparación con la luz blanca. Cepak *et al.* (2006) compararon la eficiencia de la reproducción y el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* en cuatro diferentes tipos de luz: blanca, roja, azul y verde. En este trabajo se comprobó que la luz roja fue más eficiente para el crecimiento de las células y la duración del ciclo de reproducción celular fue menor con respecto al obtenido con la luz azul y luz verde.

También se ha estudiado el cambio fisiológico en algunas especies de macroalgas al ser mantenidas en distinta composición espectral de la luz, tal es el caso del alga roja *Porphyra umbilicalis* que fue cultivada durante 4 semanas con luz azul y roja a una irradiancia de  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  con 12 horas de luz. Se encontró que la mayor tasa de crecimiento fue en luz roja, mientras que la concentración de proteínas y pigmentos fotosintéticos fueron mayores en el tratamiento con luz azul (Figueroa *et al.*, 1995). En la macroalga *Halymenia floresii* se evaluó el contenido de pigmentos al mantenerla con luz blanca, luz azul, luz roja y luz verde durante 3 semanas. En el tratamiento con luz verde se encontró la mayor tasa de crecimiento, y en los tratamientos con luz blanca y luz verde se evaluaron las mayores concentraciones de clorofila "a" y carotenoides (Godínez-Ortega *et al.*, 2008).

La microalga de agua dulce del género *Scenedesmus* pertenece al Orden Chlorococcales y Chlorophyceae y pueden encontrarse como células individuales o en colonias de 2, 4 o hasta 12 células (Borowitzka y Borowitzka, 1988). Actualmente *Scenedesmus* se utiliza en el área de la acuicultura para el tratamiento de aguas residuales por su capacidad de remover nutrientes y metales pesados con gran eficiencia (Martínez *et al.*, 2005). Se ha evaluado que *Scenedesmus* tiene un alto contenido de proteína, una alta tasa de crecimiento y alta producción de biomasa, por lo que se considera una especie con características favorables

para ser utilizada en la nutrición de diversos organismos en condiciones de cultivo, o bien en la obtención de compuestos para utilizarse en el área de la nutraceutica (Borowitzka y Borowitzka, 1988).

En este trabajo se utilizó la microalga de agua dulce *Scenedesmus obliquus* ya que tiene alta tasa de crecimiento, tolerancia a crecer en altas concentraciones de nutrientes y alto valor nutricional para ser utilizada en la acuicultura.

## **I. 1. Hipótesis**

La calidad de luz modifica la tasa de crecimiento y la composición proximal de *Scenedesmus obliquus*.

## **I. 2. Objetivos**

### **Objetivo general**

Evaluar el efecto de la composición espectral de la luz sobre el crecimiento y la composición proximal de *Scenedesmus obliquus* mantenido en cultivos estáticos.

### **1. 2. 1. Objetivos particulares**

Evaluar la tasa de crecimiento en cultivos de *Scenedesmus obliquus* mantenidos en distinta composición espectral de la luz.

Medir la composición de pigmentos y las curvas de fotosíntesis de *Scenedesmus obliquus* mantenidos en distinta composición espectral de la luz.

Evaluar la composición proximal de cultivos de *Scenedesmus obliquus* mantenidos en distinta composición espectral de la luz.

## II. Materiales y Métodos.

### 1. Cultivo de *Scenedesmus obliquus*

#### II. 1. 1. Mantenimiento rutinario de la cepa de *Scenedesmus obliquus*

La microalga utilizada en este trabajo fue *Scenedesmus obliquus* (SCO1), que se obtuvo de la colección de microalgas del Departamento de Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Se mantuvieron cultivos no axénicos en sistemas por lotes o sin recambio de medio en matraz Erlenmeyer de 1 L con 400 ml de medio "f" descrito por Guillard (1975), preparado con agua de uso doméstico y esterilizado a 121 °C y 1.05 kg m<sup>-2</sup>. Las condiciones de mantenimiento de los cultivos fueron a una temperatura de 25 °C que fue controlada por medio de un sistema de aire acondicionado del laboratorio húmedo del Departamento de Acuicultura del CICESE y con una irradiancia continua de 100 μEm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, provistas por lámparas fluorescentes de luz blanca y evaluada con un medidor de cuanta marca "Biospherical Instruments Inc.", modelo QSL-100. Semanalmente se realizó un mantenimiento rutinario de los cultivos utilizados como inóculo.

#### II. 1. 2. Cultivos de *Scenedesmus obliquus* con distinta composición espectral de luz

Se realizaron cultivos estáticos de *Scenedesmus obliquus* utilizando un inóculo proveniente de un cultivo en fase de crecimiento exponencial. Los cultivos se realizaron por triplicado en 12 matraces Erlenmeyer de 1 L con 400 ml de medio "f" como ya fue descrito en la sección de mantenimiento y se mantuvieron a una temperatura de 25 °C por medio de un sistema de aire acondicionado. Para evaluar el efecto de la composición espectral de la luz se utilizaron cuatro tipos de lámparas fluorescentes: luz blanca (marca General Electric catálogo F40D-EX), luz azul (Marca General Electric catálogo F40B), luz verde (marca General Electric catálogo F40G) y luz roja (marca Industrial catálogo F40T/12R). Los cultivos fueron expuestos a una misma irradiancia la cual fue de 100 μEm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. Para evitar el efecto de la luz ambiental, cada tipo de luz fue aislada de la fuente ambiental por medio de paredes de plástico de color negro.

Los cultivos se mantuvieron sin aireación y cada día se colectó un volumen para realizar conteos de la concentración celular. Se evaluó la composición proximal, el peso seco, el contenido de pigmentos y la respuesta fotosintética de las células durante la fase de crecimiento exponencial y en la estacionaria.

## II. 2. Crecimiento

La concentración de células de *Scenedesmus*, se midió diariamente por medio de un contador de partículas "Coulter Counter Multisizer 3M". Las muestras extraídas de los cultivos de cada tratamiento (1 ml) se preservaron en lugol para posteriormente realizar el conteo de células durante 9 días consecutivos.

Con los datos de la concentración de células se calculó la velocidad de crecimiento de las microalgas ( $\mu$ : divisiones día<sup>-1</sup>) con la fórmula descrita por Fogg y Thake (1987).

$$\mu = \frac{\log_2 N_2 - \log_2 N_1}{t_2 - t_1}$$

En donde:

$\log_2$  = Logaritmo base 2

$t_1$  = Tiempo inicial

$t_2$  = Tiempo final

$N_1$  = Concentración de células en el  $t_1$

$N_2$  = Concentración de células en el  $t_2$

### II. 3. Análisis proximal

Para la evaluación de la composición proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) se tomó una alícuota de cultivo de cada condición experimental y se filtró a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 2.4 cm de diámetro con una abertura de poro de 1  $\mu\text{m}$  que previamente se incineraron en una mufla a 470 °C por 4 horas. Los filtros con muestra recolectados para realizar la cuantificación de proteínas, lípidos y carbohidratos se almacenaron en un congelador a una temperatura de - 20 °C hasta el momento de ser analizados.

A continuación se describen los protocolos experimentales utilizados para la cuantificación de la composición proximal:

**Proteínas:** La extracción se obtuvo con hidróxido de sodio 0.1 N utilizando la metodología descrita por Lowry *et al.* (1951). Para la elaboración de la curva de calibración de proteínas, se utilizó como estándar suero de albúmina de bovino (BSA).

**Lípidos:** La extracción se realizó con una mezcla cloroformo-metanol-agua siguiendo la metodología de Blight y Dyer (1959). Para la elaboración de la curva de calibración de lípidos se utilizó tripalmitina como solución estándar.

**Carbohidratos:** La extracción se efectuó con ácido sulfúrico siguiendo la metodología de Whyte (1987) y la determinación con la técnica de Dubois *et al.* (1956). Se utilizó una solución estándar de glucosa para la curva de calibración de carbohidratos.

### II. 4. Peso seco y contenido de cenizas

**Peso seco y contenido de cenizas:** se realizó según la metodología descrita por Sorokin (1973) en donde una alícuota de cultivo de cada condición experimental se filtró a través de filtros de fibra de vidrio GF/C de 4.7 cm de diámetro previamente tratados como ya se describió para el análisis de la composición proximal.

Los filtros utilizados para la cuantificación del peso seco, se cubrieron con papel aluminio y se colocaron en la estufa a una temperatura de 60 °C. El peso constante de las muestras se evaluó al utilizar una balanza de alta sensibilidad en distintos intervalos de tiempo. Para obtener el contenido de cenizas los filtros se incineraron en una mufla a 470 °C. El peso seco orgánico se calculó por la diferencia entre el peso seco y el peso de las cenizas de las muestras.

## II. 5. Pigmentos y fotosíntesis

Para conocer el contenido de clorofila, se utilizó una alícuota de cultivo de cada condición experimental y fue filtrada en filtros de fibra de vidrio de 2.4 cm de diámetro y tratados como ya se describió en la sección de análisis de la composición proximal. Los filtros con muestra fueron colocados en tubos de ensayo y envueltos con papel aluminio para mantenerlos en oscuridad, a cada tubo se le agregaron 5 ml de acetona al 90% y se mantuvieron en un refrigerador a una temperatura de 4 °C por 24 h siguiendo el método descrito por Parsons *et al.* (1984).

La evaluación de la fotosíntesis fue por el método de producción de oxígeno. Se tomaron 7 ml de muestra por cada tratamiento experimental y se coloraron en una cámara de acrílico, la cual estuvo expuesta a una fuente de luz a través de una lámpara de halógeno. Para tener un gradiente de irradiancias se utilizaron 6 filtros con distinto tamaño de luz de malla (106 a 5066  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), y para cada caso se evaluó la producción de oxígeno. La respiración se registró colocando la cámara de acrílico en total oscuridad. La producción de oxígeno se midió con un electrodo de alta sensibilidad YSI (modelo 5331) y se registró en un graficador. Para realizar las curvas fotosintéticas se relacionó la cantidad de oxígeno producido con la concentración de clorofila "a" de cada muestra. Se calculó la tasa fotosintética máxima ( $P_{\text{máx}}$ ), el índice de saturación lumínica ( $I_k$ ) y la eficiencia fotosintética ( $\alpha$ ) al normalizar los valores de la concentración de oxígeno por unidad de clorofila "a" para cada caso (Platt, 1981; Figueroa *et al.*, 1997).

## II. 6. Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de la luz sobre la tasa de crecimiento, cada una de las variables la composición proximal, el peso seco, el contenido de pigmentos y los parámetros de la curva de fotosíntesis de *Scenedesmus* se utilizó un análisis de varianza (ANOVA de una vía) con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . Se verificó que los datos cumplieran con la hipótesis de las pruebas de normalidad y de homoscedasticidad. Las diferencias resultantes entre tratamientos se comprobaron por medio de una prueba estadística *a posteriori* de Tukey.

Para el análisis de los datos se utilizó el programa "STATISTICA" versión 7.

### III. Resultados

#### III. 1. Crecimiento

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en la tasa de crecimiento de *Scenedesmus obliquus* mantenido con la distinta composición espectral de luz (Figura 1). Los valores menores de la tasa de crecimiento fueron para los cultivos mantenidos con luz roja ( $0.19 \text{ div. día}^{-1}$ ) y los valores mayores fueron para los cultivos expuestos con luz azul ( $0.35 \text{ div. día}^{-1}$ ) y éstos últimos no fueron significativamente diferentes a los obtenidos con luz verde ( $0.34 \text{ div. día}^{-1}$ ) y luz blanca ( $0.32 \text{ div. día}^{-1}$ ) (Tabla I).

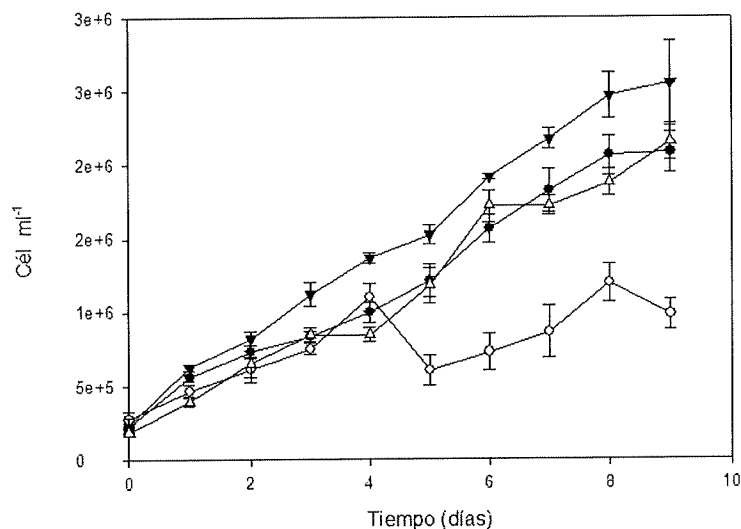


Figura 1. Concentración celular de *Scenedesmus obliquus* (Cél. ml<sup>-1</sup>) mantenidas por 9 días en cultivos estáticos; con distinta composición espectral de luz: Luz blanca (●), luz roja (○), luz azul (▼) y luz verde (△). Para cada tratamiento n= 3 y las barras indican el error estándar.

Tabla I. Valores promedio y desviación estándar de la tasa de crecimiento ( $\mu$ ), concentración celular y días en fase exponencial de cultivos estáticos de *Scenedesmus obliquus* mantenidos en distinta composición espectral de la luz.

Tipo de luz	$\mu$ (div. día <sup>-1</sup> )	Concentración (x 10 <sup>6</sup> Cél. ml <sup>-1</sup> )	Días en fase exponencial
Luz blanca	0.32 (0.009) b	2.08 (0.134) b	8
Luz roja	0.19 (0.012) a	1.19 (0.128) a	4
Luz azul	0.35 (0.043) b	2.55 (0.286) b	8
Luz verde	0.34 (0.009) b	2.15 (0.123) b	9

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde  $a < b$  con  $\alpha = 0.05$ .

### III. 2. Análisis proximal

#### Proteínas

Se encontró que la concentración de proteínas no tuvo un cambio significativo ( $P=0.031$ ) por efecto de la fase de crecimiento (Figura 2 y 3). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas por causa de la composición espectral de la luz ( $P=0.001$ ). No existió interacción significativa entre la fase de crecimiento y la composición espectral de la luz utilizada ( $P=0.459$ ).

La concentración de proteínas fue significativamente diferente ( $P < 0.001$ ) durante la fase exponencial de crecimiento y mostró que el menor porcentaje fue para los cultivos mantenidos con luz roja (6.11%). Sin embargo, no se encontraron diferencias en el porcentaje de proteínas obtenidos en los cultivos con luz blanca (24.49%), luz azul (24.43%) y luz verde (26.47%) (Figura 2).

La concentración de proteínas durante la fase estacionaria de crecimiento no mostró diferencias significativas ( $P=0.194$ ) en el contenido de proteínas por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figura 3).

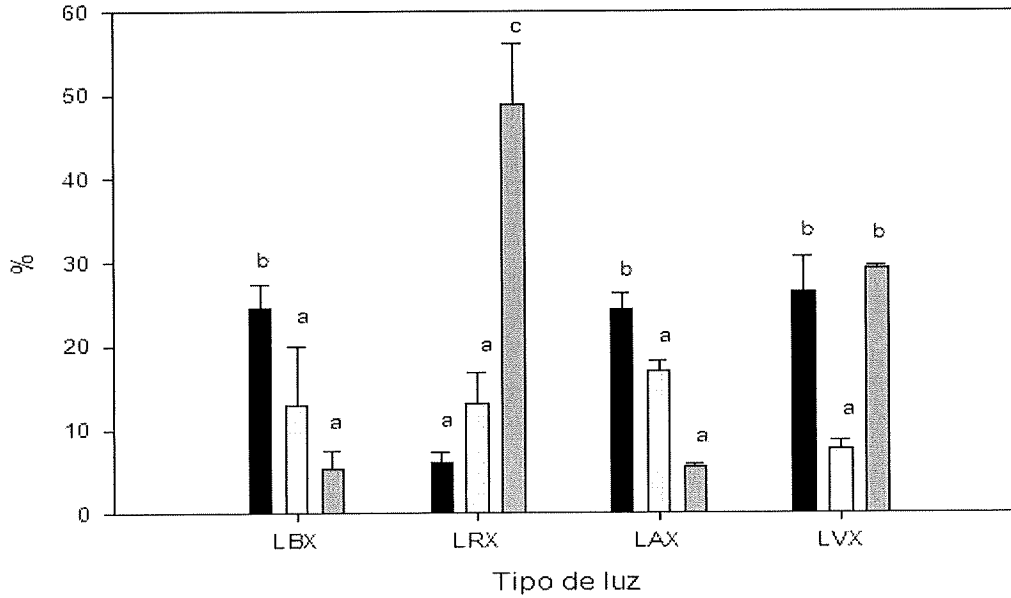


Figura 2. Porcentaje de proteínas (■), lípidos (□) y carbohidratos (▨) de *Scenedesmus obliquus* durante la fase de crecimiento exponencial en cultivos estáticos y bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBX), luz roja (LRX), luz azul (LAX) y luz verde (LVX). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde  $a < b < c$  con  $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.

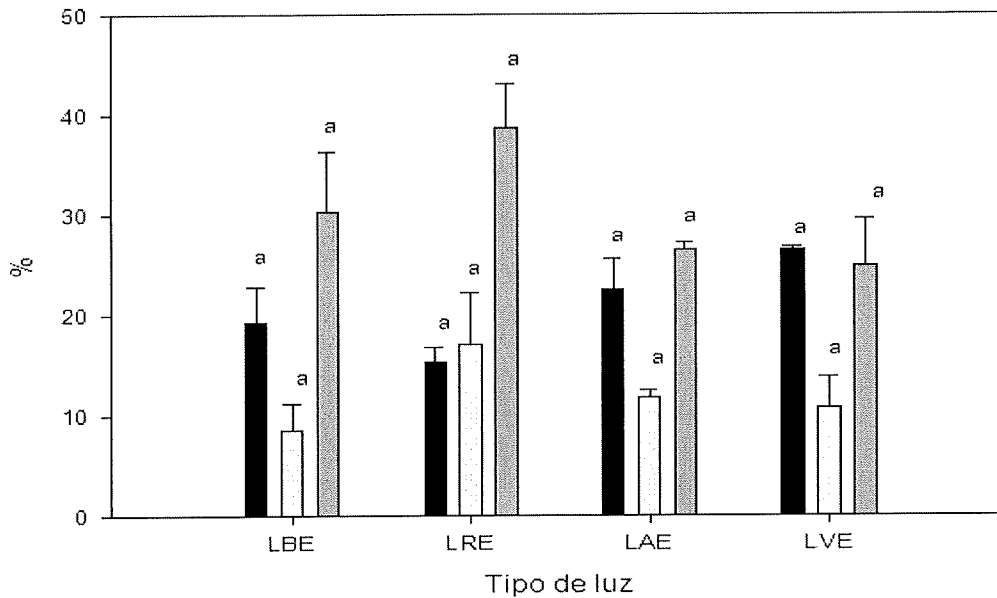


Figura 3. Porcentaje de proteínas (■), lípidos (□) y carbohidratos (▨) de *Scenedesmus obliquus* durante la fase de crecimiento estacionaria, en cultivos estáticos y bajo distinta composición espectral de la luz: luz blanca (LBE), luz roja (LRE), luz azul (LAE) y luz verde (LVE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* con  $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.

## Lípidos

En la concentración de lípidos no se encontró diferencias significativas ( $P=0.715$ ) por efecto de la fase de crecimiento y tampoco por el efecto de la composición espectral de la luz ( $P=0.455$ ) (Figura 3 y 4). Por lo tanto no existió interacción significativa ( $P=0.287$ ) entre la fase de crecimiento y la composición espectral de la luz utilizada.

La concentración de lípidos durante la fase exponencial de crecimiento no mostró diferencias significativas ( $P=0.298$ ) en el contenido de lípidos por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figura 2).

Al igual que en la fase exponencial, la concentración de lípidos en la fase estacionaria de crecimiento tampoco mostró diferencias significativas por efecto de la composición espectral de la luz utilizada ( $P=0.651$ ) (Figura 3).

## Carbohidratos

Se observaron diferencias significativas en la concentración de carbohidratos por efecto de la fase de crecimiento ( $P=0.033$ ) y también por el efecto de la composición espectral de la luz ( $P < 0.001$ ) (Figuras 2 y 3).

Durante la fase exponencial de crecimiento se encontraron cambios significativos ( $P=0.001$ ) con respecto al contenido de carbohidratos. Los cultivos mantenidos con luz roja (48.84%) y luz verde (29.33%) mostraron los porcentajes mayores, mientras que los porcentajes menores fueron para los cultivos mantenidos con luz blanca (5.29%) y luz azul (5.47%) (Figura 2).

La concentración de carbohidratos durante la fase estacionaria de crecimiento no mostró diferencias significativas ( $P=0.081$ ), por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figura 3).

### III. 3. Peso seco y contenido de cenizas

#### Peso seco total

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en el contenido del peso seco total (PST) por efecto de la fase de crecimiento y por la composición espectral de la luz ( $P < 0.001$ ). Se evaluó una interacción significativa ( $P = 0.017$ ) entre la fase de crecimiento y la composición espectral de la luz utilizada (Figuras 4 y 5).

El contenido de PST mostró diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) durante la fase exponencial de crecimiento. El mayor contenido de PST fue para los cultivos mantenidos con luz azul ( $177 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y el menor contenido fue para los cultivos mantenidos con luz verde ( $74.78 \mu\text{g ml}^{-1}$ ). No hubo diferencias significativas en el contenido de PST en los cultivos mantenidos con luz roja ( $92.33 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y luz verde ( $74.7 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) (Figura 4).

Se encontró diferencia significativas ( $P < 0.01$ ) en el contenido de PST durante la fase estacionaria. Los mayores contenidos de PST fueron para los cultivos con luz blanca ( $268.3 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y luz azul ( $246.22 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), y el menor contenido de PST fue para los cultivos expuestos con luz roja ( $136.67 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) (Figura 5).

#### Peso seco orgánico

El contenido de peso seco orgánico (PSO) mostró diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) por el efecto de la fase de crecimiento y por la distinta composición espectral de la luz ( $P = 0.080$ ). No existió interacción significativa ( $P = 0.269$ ) entre la fase de crecimiento y la composición espectral de la luz utilizada (Figuras 4 y 5).

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de PSO durante la fase exponencial. El mayor contenido de PSO se obtuvo en los cultivos mantenidos con luz

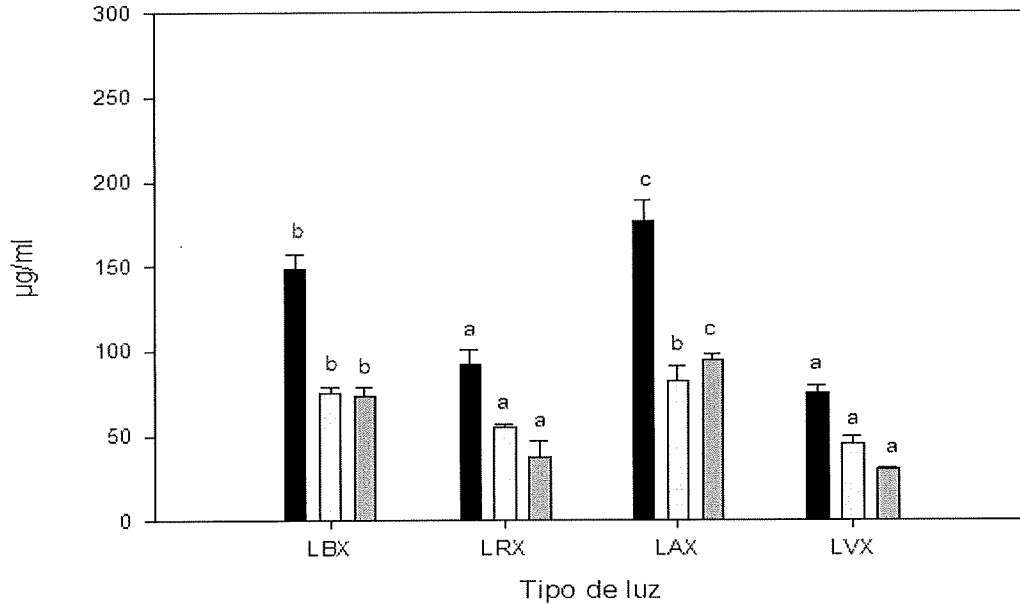


Figura 4. Contenido de peso seco total (PST: ■), peso seco orgánico (PSO: □) y peso de cenizas (PC: ▨), de *Scenedesmus obliquus* durante la fase de crecimiento exponencial en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBX), luz roja (LRX), luz azul (LAX) y luz verde (LVX). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde  $a < b < c$  con  $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.

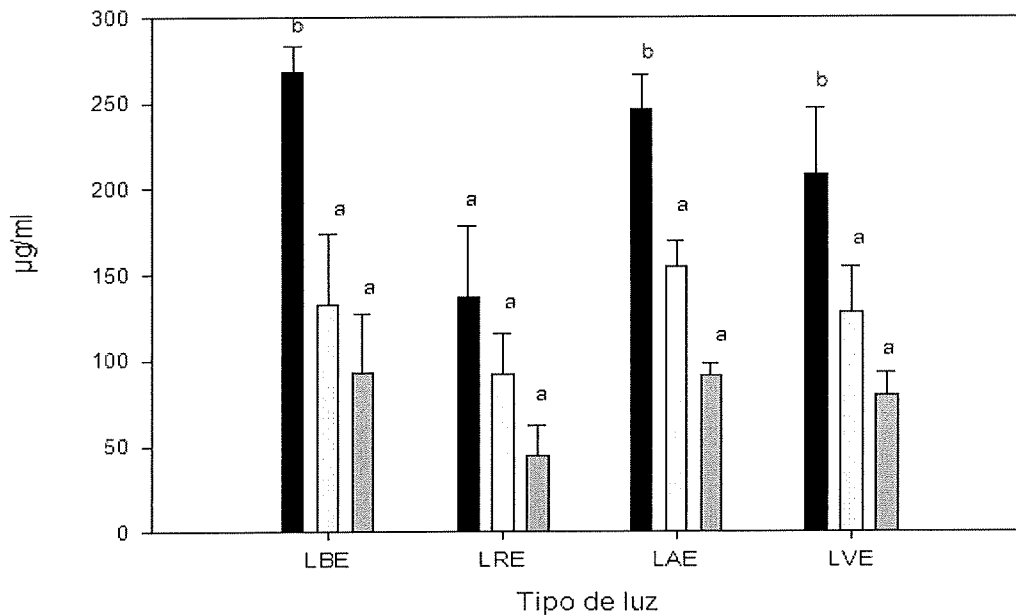


Figura 5. Contenido de peso seco total (PST: ■), peso seco orgánico (PSO: □) y peso de cenizas (PC: ▨), de *Scenedesmus obliquus* durante la fase de crecimiento estacionaria en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBE), luz roja (LRE), luz azul (LAE) y luz verde (LVE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde  $a < b$  con  $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.

azul ( $82.39 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y no mostró diferencia significativa con los valores obtenidos en los cultivos mantenidos en luz blanca ( $74.78 \mu\text{g ml}^{-1}$ ). Los menores valores de PSO fueron para los cultivos en luz verde y luz roja ( $44.80 \mu\text{g ml}^{-1}$  y  $55.11 \mu\text{g ml}^{-1}$  respectivamente) (Figura 4).

El contenido de PSO durante de los cultivos en fase estacionaria no mostró diferencias significativas ( $P=0.133$ ) por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figura 5).

#### Peso de cenizas

El contenido de cenizas de los cultivos mostró diferencia significativa ( $P=0.009$ ) por efecto de la fase de crecimiento. También se encontró diferencia significativa ( $P<0.001$ ) por efecto de la composición espectral de la luz. Se evaluó interacción significativa ( $P=0.459$ ) entre la fase de crecimiento y la composición espectral de la luz utilizada (Figuras 4 y 5).

En el contenido de cenizas se encontró cambio significativo ( $P<0.001$ ) en el peso de las cenizas durante la fase exponencial de crecimiento. El mayor contenido de cenizas fue en los cultivos expuestos con luz azul ( $94.61 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), mientras que los menores contenidos de cenizas fueron para los cultivos tratados con luz roja ( $37.22 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y luz verde ( $29.97 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) (Figura 4).

No se encontró diferencia significativa ( $P=0.668$ ) en el contenido de cenizas durante la fase estacionaria por efecto de la composición espectral de la luz (Figura 5).

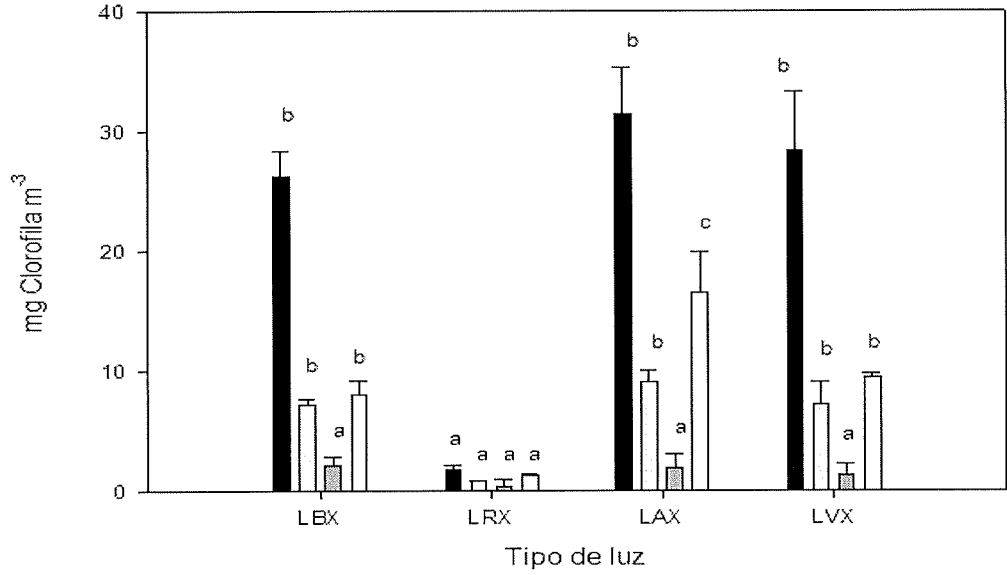


Figura 6. Contenido de clorofila a (■), b (□), c (▨) y carotenoides (□) de *Scenedesmus obliquus* durante la fase de crecimiento exponencial en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBX), luz roja (LRX), luz azul (LAX) y luz verde (LVX). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde  $a < b < c$  con  $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.

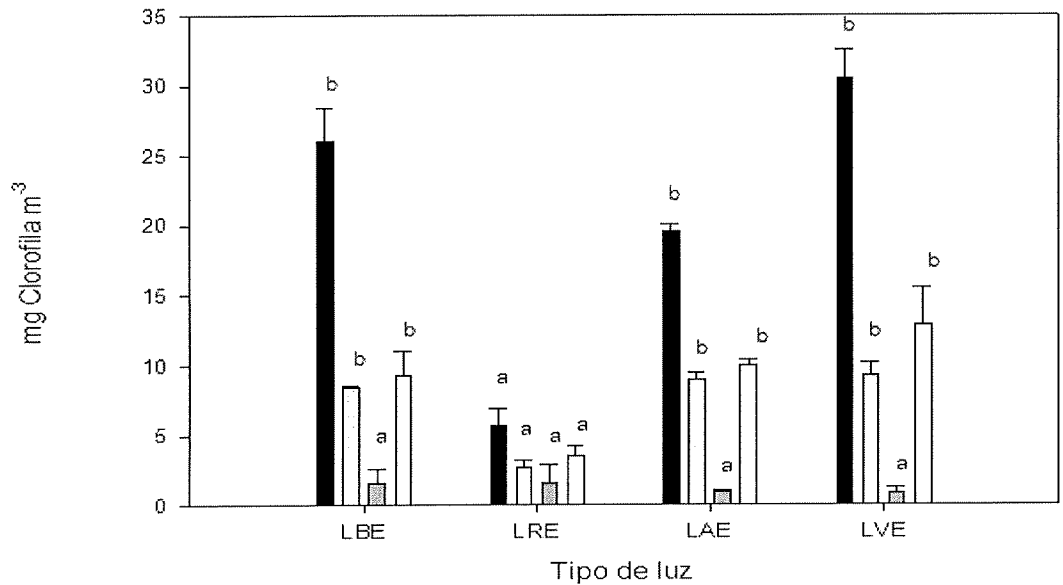


Figura 7. Contenido de clorofila a (■), b (□), c (▨) y carotenoides (□) de *Scenedesmus obliquus* durante la fase de crecimiento estacionaria en cultivos estáticos mantenidos bajo distinta composición espectral de luz: luz blanca (LBE), luz roja (LRE), luz azul (LAE) y luz verde (LVE). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde  $a < b$  con  $\alpha = 0.05$ . Las barras indican el error estándar.

### III. 4. Pigmentos y fotosíntesis

#### Clorofila "a"

Para la concentración de clorofila "a" se encontró diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) por el efecto del espectro de la luz utilizada. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.995$ ) por efecto de la fase de crecimiento (Figuras 6 y 7).

No hubo interacción ( $P > 0.325$ ) entre la fase de crecimiento y la distinta composición espectral de la luz utilizada.

En la fase exponencial, la concentración de clorofila "a" mostró diferencias significativas ( $P < 0.001$ ). En los cultivos mantenidos con luz roja se obtuvo la menor cantidad de clorofila "a" ( $2.75 \text{ mg m}^{-3}$ ), mientras que la mayor cantidad fue para los cultivos con luz azul ( $31.47 \text{ mg m}^{-3}$ ), seguida por los de luz blanca ( $28.33 \text{ mg m}^{-3}$ ) y luz verde ( $26.29 \text{ mg m}^{-3}$ ) (Figura 6).

En la fase estacionaria se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en la concentración de clorofila "a". En los cultivos mantenidos con luz roja se evaluó la menor cantidad de clorofila "a" ( $5.72 \text{ mg m}^{-3}$ ), mientras que los cultivos mantenidos con luz verde obtuvieron la mayor cantidad ( $30.46 \text{ mg m}^{-3}$ ) seguido por los valores evaluados para luz azul ( $26.55 \text{ mg m}^{-3}$ ) y luz blanca ( $26.0 \text{ mg m}^{-3}$ ) (Figura 7).

#### Clorofila "b"

Se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.090$ ) en la concentración de clorofila "b" por efecto de la fase de crecimiento y por la distinta composición espectral de la luz ( $P < 0.001$ ) (Figuras 6 y 7). Sin embargo, no hubo interacción significativa ( $P > 0.251$ ) entre la fase de crecimiento y la distinta composición espectral de la luz utilizada.

Durante la fase exponencial la concentración de clorofila "b" presentó cambios significativos ( $P < 0.001$ ). La menor concentración fue para los cultivos mantenidos con luz roja ( $1.22 \text{ mg m}^{-3}$ ). La mayor concentración de clorofila "b" fue con luz azul ( $9.10 \text{ mg m}^{-3}$ ), seguida por los valores obtenidos para luz blanca ( $7.19 \text{ mg m}^{-3}$ ) y verde ( $7.19 \text{ mg m}^{-3}$ ) (Figura 6).

En la fase estacionaria la concentración de clorofila "b" presentó cambios significativos ( $P < 0.001$ ). La menor cantidad de clorofila "b" fue para los cultivos tratados con luz roja ( $2.73 \text{ mg m}^{-3}$ ). La mayor cantidad de clorofila "b" fue para los cultivos expuestos con luz verde ( $9.26 \text{ mg m}^{-3}$ ) y no mostró diferencias significativas con los valores obtenidos para los cultivos mantenidos con luz blanca ( $8.45 \text{ mg m}^{-3}$ ) y luz azul ( $8.94 \text{ mg m}^{-3}$ ) (Figura 7).

#### Clorofila "c"

No se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.713$ ) en la concentración de clorofila "c" por efecto de la fase de crecimiento y tampoco se observaron diferencias significativas ( $P = 0.410$ ) por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figura 6).

Durante la fase exponencial no se encontraron cambios significativos ( $P = 0.330$ ) en la concentración de clorofila "c".

La cantidad de clorofila "c" encontrada en los cultivos con distintos tratamientos de luz, fue menor en comparación con la concentración de clorofila "a" y "b" (Figura 6).

Durante la fase estacionaria la concentración de clorofila "c" no tuvo cambios significativos ( $P = 0.770$ ) por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figura 7).

#### Carotenoides

No se encontró diferencia significativa ( $P = 0.965$ ) en la concentración de carotenoides por efecto de la fase de crecimiento, sin embargo se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (Figuras 6 y 7). Entre la fase de crecimiento y la distinta composición espectral de la luz utilizada hubo interacciones significativas ( $P = 0.001$ ).

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en la concentración de carotenoides durante la fase exponencial. La mayor cantidad de carotenoides se encontró en los cultivos mantenidos con luz azul ( $16.48 \text{ mg m}^{-3}$ ), mientras que la menor cantidad de carotenoides fue

para los cultivos mantenidos con luz roja ( $1.97 \text{ mg m}^{-3}$ ). Sin embargo, los tratamientos de luz blanca ( $8.06 \text{ mg m}^{-3}$ ) y de luz verde ( $9.40 \text{ mg m}^{-3}$ ) no presentaron diferencias significativas (Figura 6).

Se encontraron cambios significativos ( $P < 0.001$ ) en la concentración de carotenoides durante la fase estacionaria. La menor concentración fue para los cultivos con luz roja ( $3.57 \text{ mg m}^{-3}$ ) y las mayores concentraciones de carotenoides fueron para los cultivos con luz verde ( $12.91 \text{ mg m}^{-3}$ ), luz blanca ( $9.31 \text{ mg m}^{-3}$ ) y luz azul ( $10 \text{ mg m}^{-3}$ ) (Figura 7).

#### Fotosíntesis máxima ( $P_{\text{máx}}$ )

No se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.213$ ) en los valores de  $P_{\text{máx}}$  por efecto de la fase de crecimiento, tampoco por efecto de la composición espectral de la luz utilizada ( $P = 0.181$ ), y estas variables no mostraron una interacción significativa entre sí.

No se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.001$ ) en los valores de  $P_{\text{máx}}$  durante la fase exponencial. Los cultivos tratados con luz roja mostraron los valores mayores de  $P_{\text{máx}}$  ( $2.75 \times 10^{-9} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ), sin embargo no mostraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) con los valores de  $P_{\text{máx}}$  evaluados en los cultivos tratados con luz blanca ( $4.33 \times 10^{-10} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ), luz azul ( $4.90 \times 10^{-10} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ) y luz verde ( $4.88 \times 10^{-10} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ) (Tabla II).

Durante la fase estacionaria no se encontraron diferencias significativas en los valores de  $P_{\text{máx}}$  ( $P < 0.001$ ). El valor de  $P_{\text{máx}}$  fue mayor para los cultivos mantenidos con luz blanca ( $1.11 \times 10^{-6} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ) y no mostró diferencias significativas con los cultivos expuestos con luz roja ( $1.59 \times 10^{-9} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ), luz azul ( $1.27 \times 10^{-9} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ) y luz verde ( $7.90 \times 10^{-10} \text{ moles O}_2 \text{ m}^3 \text{ mg}^{-1} \text{ clorofila "a" min}^{-1}$ ) (Tabla II).

Tabla II. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros fotosintéticos durante la fase exponencial y estacionaria en cultivos de *Scenedesmus obliquus* mantenidos con distinta composición espectral de luz.

Fase de crecimiento y tipo de luz	P <sub>máx</sub> (moles O <sub>2</sub> m <sup>3</sup> mg <sup>-1</sup> clorofila "a" min <sup>-1</sup> )		I <sub>k</sub> (moles O <sub>2</sub> m <sup>3</sup> mg <sup>-1</sup> clorofila "a" min <sup>-1</sup> )		α (moles O <sub>2</sub> m <sup>3</sup> mg <sup>-1</sup> clorofila "a" min <sup>-1</sup> )	
<b>Exponencial</b>						
Luz blanca	4.33x10 <sup>-10</sup> a	(3.93 x10 <sup>-10</sup> )	4.51x10 <sup>3</sup> a	(5.98 x10 <sup>3</sup> )	1.35x10 <sup>-13</sup> a	(9.19 x10 <sup>-14</sup> )
Luz roja	2.75 x10 <sup>-9</sup> a	(2.81 x10 <sup>-10</sup> )	2.30 x10 <sup>3</sup> a	(1.21 x10 <sup>3</sup> )	8.00 x10 <sup>-13</sup> a	(1.41 x10 <sup>-13</sup> )
Luz azul	4.90 x10 <sup>-10</sup> a	(3.26 x10 <sup>-10</sup> )	6.69 x10 <sup>3</sup> a	(5.72 x10 <sup>3</sup> )	1.23 x10 <sup>-13</sup> a	(1.54 x10 <sup>-13</sup> )
Luz verde	4.88 x10 <sup>-10</sup> a	(2.15 x10 <sup>-10</sup> )	1.76 x10 <sup>3</sup> a	(7.92 x10 <sup>2</sup> )	2.50 x10 <sup>-13</sup> a	(7.07 x10 <sup>-14</sup> )
<b>Estacionaria</b>						
Luz blanca	1.11 x10 <sup>-6</sup> a	(4.64 x10 <sup>-7</sup> )	1.31 x10 <sup>4</sup> a	(1.35 x10 <sup>4</sup> )	1.45 x10 <sup>-10</sup> a	(7.77 x10 <sup>-11</sup> )
Luz roja	1.59 x10 <sup>-9</sup> a	(4.92 x10 <sup>-10</sup> )	6.92 x10 <sup>2</sup> a	(1.28 x10 <sup>3</sup> )	9.33 x10 <sup>-13</sup> a	(5.77 x10 <sup>-14</sup> )
Luz azul	1.27 x10 <sup>-9</sup> a	(3.90 x10 <sup>-10</sup> )	1.19 x10 <sup>3</sup> a	(4.27 x10 <sup>2</sup> )	1.00 x10 <sup>-12</sup> b	(0.00)
Luz verde	7.90 x10 <sup>-10</sup> a	(3.43 x10 <sup>-10</sup> )	2.70 x10 <sup>3</sup> a	(3.00 x10 <sup>3</sup> )	3.66 x10 <sup>-13</sup> a	(2.88 x10 <sup>-13</sup> )

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. Anova de una vía y prueba *a posteriori* en donde a<b con α=0.05.

### Índice de saturación lumínica (I<sub>k</sub>)

No se encontraron diferencias significativas (P=0.987) en los valores de I<sub>k</sub> por efecto de la fase de crecimiento, tampoco por efecto de la composición espectral de la luz utilizada (P=0.553), y estas variables no mostraron una interacción significativa entre sí.

No se encontraron diferencias significativas en los valores de I<sub>k</sub> durante la fase de crecimiento exponencial (P=0.631) y en la estacionaria (P= 0.141) por el efecto de la composición espectral de la luz (Tabla II).

### Eficiencia fotosintética ( $\alpha$ )

No se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\alpha$  ( $P=0.213$ ) por efecto de la fase de crecimiento y tampoco por efecto de la composición espectral de la luz utilizada ( $P=0.224$ ), y estas variables no mostraron una interacción significativa entre si.

No se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\alpha$  durante la fase exponencial ( $P=0.007$ ). Los cultivos mantenidos con luz roja mostraron los valores mayores de  $\alpha$  ( $8.0 \times 10^{-13}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) y no tuvieron diferencias significativas con los cultivos tratados con luz blanca ( $1.35 \times 10^{-13}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) luz azul ( $1.23 \times 10^{-13}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) y luz verde ( $2.50 \times 10^{-13}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) ( $P>0.05$ ).

Durante la fase de crecimiento estacionaria se encontraron diferencias significativas ( $P=0.003$ ) en los valores de  $\alpha$ . En los cultivos tratados con luz blanca se obtuvo el mayor valor de  $\alpha$  ( $1.45 \times 10^{-10}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) y no mostró diferencias significativas con los cultivos tratados con luz roja ( $9.33 \times 10^{-13}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) y luz verde ( $3.66 \times 10^{-13}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ) ( $P>0.05$ ), mientras que los valores menores de  $\alpha$  fueron en los cultivos mantenidos con luz azul ( $1.00 \times 10^{-12}$  moles  $O_2$   $m^3$   $mg^{-1}$  clorofila "a"  $min^{-1}$ ).

## IV. Discusión

### Crecimiento

Por efecto de la composición espectral de la luz utilizada no se encontró limitación en el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* al compararlo con los cultivos de luz blanca. Flores-Páez (2012) observó la fase de crecimiento estacionaria de *Scenedesmus* sp. a partir del día 2 de cultivo, mientras que para los cultivos realizados en este ensayo con luz blanca la fase estacionaria de crecimiento en *Scenedesmus obliquus* se observó el día 8 de cultivo. La tasa de crecimiento en los cultivos mantenidos en luz blanca fue de  $0.32 \text{ div. d}^{-1}$ , estos resultados fueron similares a los valores mencionados por Fierro-Reséndiz (2004), que obtuvo una tasa de crecimiento de  $0.34 \text{ div d}^{-1}$  de *Scenedesmus obliquus*. Ruíz-Marín *et al.* (2011) utilizó la misma especie inmovilizada en cápsulas de alginato de sodio y obtuvo tasas de crecimiento inferiores ( $0.15$  y  $0.17 \text{ div. d}^{-1}$ ) con irradiancias de  $135$  y  $200 \mu\text{E m}^{-2}$  respectivamente. La concentración de células evaluada en los tratamientos con luz blanca fue mayor ( $2.08 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$ ) a la obtenida por Jiménez-Valera (2008) quién obtuvo una concentración final de  $1.93 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$  en medio "f", sin embargo Fierro *et al.* (2008) reportó valores superiores de  $3.5 \times 10^6 \text{ Cél. ml}^{-1}$ .

Al evaluar el efecto de la composición espectral de la luz en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* se obtuvo que la mayor tasa de crecimiento fue en los cultivos mantenidos con luz azul ( $0.35 \text{ div d}^{-1}$ ) seguida de los expuestos en luz verde ( $0.34 \text{ div. d}^{-1}$ ). Se considera que la luz azul tiende a favorecer una mayor eficiencia en el transporte de energía electrónica durante la actividad fotosintética y también un incremento en la síntesis de ADN y ARN que están directamente relacionados con la formación de células hijas (Wallen y Geen, 1971 a,b). En trabajos previos se ha descrito que las microalgas *Chaetoceros* sp. y *Skeletonema costatum* incrementan la tasa de crecimiento con la mezcla de luz azul-verde (Sánchez-Saavedra y Voltolina, 2002) y luz azul (Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1996). Wallen y Geen (1971 a,b) encontraron que la calidad de luz afecta directamente la tasa de crecimiento en las microalgas *Cyclotella nana* y *Dunaliella tertiolecta* en donde la eficiencia de crecimiento es mayor en el tratamiento con luz azul comparada con los tratamientos de luz blanca y luz

verde. Sin embargo, en diatomeas bentónicas como *Amphiprora paludosa* var. *hyalina*, *Nitzschia thermalis* var. *minor*, *Nitzschia laevis* (Cepa A, B y C), *Navicula incerta*, *Nitzschia* cf. *fonticola* var. *pelagica* y *Nitzschia frutulum* var. *perminuta* encontraron que por efecto de la luz azul no se encontró cambio en la tasa de crecimiento para ninguna de las especies estudiadas. Esta respuesta fisiológica distinta a la descrita para la luz azul y encontrada para las diatomeas bentónicas, se atribuye a que la biopelícula de las diatomeas influye en la disponibilidad de la luz (Correa-Reyes *et al.*, 2001).

La menor tasa de crecimiento en *Scenedesmus obliquus* se presentó en los cultivos mantenidos con luz roja. Estos resultados no concuerdan a los reportados por Cepák *et al.* (2006). Estos autores mencionan que el volumen de células de *Scenedesmus obliquus* incrementó en un menor tiempo en luz roja que en los tratamientos de luz azul y luz verde. Resultados similares a los descritos por Cepák *et al.* (2006) fueron obtenidos para *Dunaliella salina* (Zachleder *et al.*, 1989) y para la macroalga roja *Porphyra umbilicalis* (Figueroa *et al.*, 1995) que fueron cultivadas bajo luz azul y luz roja; mientras que la macroalga roja *Halymenia floresii* obtuvo una mayor tasa de crecimiento en condiciones de luz verde (Godínez-Ortega *et al.*, 2008). Estas diferencias en la tasa de crecimiento por efecto a la distinta composición espectral de la luz pueden ser atribuidas a las características específicas y la capacidad de respuesta fisiológica así como al tipo y la cantidad de pigmentos fotosintéticos y otros foto-receptores (fitocromo y criptocromo) los cuales influyen directamente en la eficiencia de absorción de luz azul y luz roja (Dring, 1988).

### Análisis proximal

El metabolismo celular de las microalgas es modificado por la calidad espectral de la luz (Rivkin, 1989). El contenido de proteínas obtenido en los cultivos expuestos con luz blanca (24 y 19% durante la fase de crecimiento exponencial y estacionaria respectivamente) fueron menores a los mencionados por Flores-Páez (2012) que obtuvo un porcentaje de 50% en condiciones similares de cultivo. Ruíz-Marín *et al.* (2010) obtienen en cultivos de *Scenedesmus obliquus* valores inferiores (15-16%) a los reportados en este trabajo.

Se mostró que la concentración de proteínas en *Scenedesmus obliquus* fue menor en los cultivos mantenidos con luz roja durante la fase exponencial, mientras que los cultivos mantenidos con luz blanca, luz azul y luz verde no presentaron cambios significativos. Sin embargo, durante la fase estacionaria no se evidenciaron diferencias significativas en la concentración de proteínas. Rivkin (1989) obtuvo que por efecto de la composición espectral de la luz para *Dunaliella tertiolecta* y *Thalassiosira rotula* la tasa de síntesis de proteínas fue mayor en condiciones de luz azul y luz roja comparadas con la obtenida en luz blanca. Esta tendencia resulta diferente a la obtenida en éste estudio con *Scenedesmus obliquus*. Wallen y Geen (1971 a,b) mencionan que la concentración de proteínas en *Cyclotella nana* y *Dunaliella tertiolecta* fue mayor en luz azul y menor en luz verde comparada con la evaluada en luz blanca. Sánchez-Saavedra y Voltolina (1996) describen un incremento en el contenido de proteínas en tres especies (*Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*) expuestas con luz azul-verde y destacan que el contenido de proteínas fue mayor con una mezcla de luz azul-verde y luz blanca. Se ha comprobado que la luz azul estimula la fijación de átomos de carbono en aminoácidos y proteínas mientras que la luz roja en carbohidratos y azúcares (Pirson y Kowallik, 1964). López-Figueroa *et al.* (1995) menciona que también la luz azul activa la concentración de compuestos orgánicos nitrogenados a partir de los cuales se forman proteínas solubles y ficobiliproteínas.

La mayor concentración de carbohidratos en los cultivos expuestos bajo luz blanca se mostró durante la fase estacionaria con un valor de 30%, este resultado es mayor en comparación con los obtenidos por Flores-Páez (2012) quien sólo obtuvo el 12% de carbohidratos durante el quinto día de cultivo, utilizando la misma especie de microalga y similares condiciones de cultivo. Sin embargo, en el presente trabajo la concentración de carbohidratos en *Scenedesmus obliquus* fue mayor en los cultivos mantenidos con luz roja tanto en la fase de crecimiento exponencial como estacionaria. Como menciona Senger (1987), las microalgas expuestas bajo luz roja tienden a acumular mayores concentraciones de carbohidratos. Esto ha sido comprobado con diferentes tipos de microalgas tales como *Chlorella*, *Euglena*, *Chlorogonium*, *Cyclotella*, *Scenedesmus* y *Spirulina* entre otras (Senger, 1987). La microalga *Scenedesmus obliquus* expuesta a la luz roja pasó más rápido de la etapa exponencial a la

etapa estacionaria comparado con los otros tratamientos. Esto podría indicar un agotamiento de nitrógeno del medio que utilizan para la síntesis de proteínas, lo cual provoca que las microalgas tiendan a acumular carbohidratos.

En algunas algas la alta concentración y actividad de enzimas respiratorias de algas expuestas con luz azul puede incrementar la tasa de catabolismo de carbohidratos y consecuentemente puede haber una mayor producción de proteínas (Senger, 1987).

La concentración de lípidos en *Scenedesmus obliquus* no presentó diferencias significativas tanto en la fase exponencial como en la estacionaria. Al parecer el espectro de la luz utilizada en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* no afectó a la producción de lípidos. Sin embargo, cabe mencionar que valores obtenidos de lípidos en los cultivos expuestos en luz blanca (12 y 9% durante la fase de crecimiento exponencial y estacionaria respectivamente) fueron similares a los obtenidos por Flores-Páez (2012) (13%) el día inicial de cultivos mantenidos en luz blanca.

#### Pigmentos y fotosíntesis

La composición de los pigmentos fotosintéticos varió directamente por efecto de la composición espectral de la luz. La concentración de clorofila "a" en los tratamientos de luz blanca ( $26 \text{ mg m}^{-3}$ ) fue inferior a la evaluada por Flores-Páez (2012) que obtuvo  $931 \text{ mg m}^{-3}$  en células libres de *Scenedesmus* sp. durante el quinto día de cultivo.

Senger (1987) menciona que la luz azul induce cambios en el contenido fotosintético de las células y llega a estimular o inhibir la fotosíntesis. En este trabajo se obtuvo una mayor concentración de clorofila "a" y "b" en los cultivos mantenidos con luz azul durante la fase exponencial, mientras que en la fase estacionaria fue en los cultivos mantenidos con luz verde. Sin embargo, las concentraciones menores de clorofila "a" y "b" se encontraron en los cultivos mantenidos con luz roja en ambas fases de crecimiento. Se sabe que las plantas marinas utilizan mecanismos de control para la síntesis de pigmentos fotosintéticos por efecto de la composición espectral de la luz (López-Figueroa y Niell, 1990). Trabajos previos

han demostrado que la mezcla de luz azul-verde incrementa el contenido de clorofila "a" en las células de la diatomea *Cyclotella nana* (Wallen y Geen, 1971 a,b) y *Haslea ostrearia* (Tremblin *et al.*, 2000). El alga verde *Ulva rigida* y las algas rojas *Corallina elongata* y *Plocamium cartilagineum* incrementan el contenido de clorofila por efecto de la exposición a la luz azul (López-Figueroa y Niell, 1990) y en algas rojas como *Halymenia floressi* la luz verde es más efectiva en la síntesis de clorofila "a" comparada con la luz azul y luz roja dando lugar a una mayor tasa de crecimiento (Godínez-Ortega *et al.*, 2008).

Los cultivos de *Scenedesmus* adaptados a luz azul en comparación a los adaptados con luz roja, presentan un alto contenido de clorofila "a" y "b". También se ha observado un incremento de clorofila "b" en células de *Chorella vulgaris* (Kowallik y Schurmann, 1984). Parece ser que la luz azul es elemental para la síntesis de clorofila "b" y/o la recolección de luz a partir de los pigmentos fotosintéticos, esto indica que brinda un efecto morfogenético, es decir, que las células desarrollan un mecanismo de adaptación para captar la luz más eficientemente (Humbeck *et al.*, 1988). Esto puede explicarse por la adaptación de las células a ambientes con diferente composición espectral de la luz a lo largo de la columna de agua (Wallen y Geen, 1971 a,b). Al incrementar la profundidad en el agua la banda roja del espectro se desvanece en los primeros metros de profundidad mientras que la luz azul-verde del espectro permanece, ya que penetra a mayores profundidades (Wallen y Geen, 1971 a,b; Correa-Reyes *et al.*, 2001) . Es por esto que la longitud de onda azul-verde es considerada una de las más importantes para las microalgas (Kirk, 1983).

Los carotenoides de *Scenedesmus obliquus* durante la fase exponencial presentaron una mayor concentración en los cultivos mantenidos con luz azul y durante la fase estacionaria fue mayor en los mantenidos con luz verde, mientras que en ambas fases de crecimiento en las condiciones con luz roja se mantuvo una baja concentración de carotenoides. Los carotenoides absorben mejor longitudes de onda de 495 a 579 nm, por esta razón las células tienden acumular estos pigmentos durante la fase estacionaria ya que absorben con mayor facilidad la luz verde (Wallen y Geen, 1971 a,b).

En este trabajo los pigmentos fotosintéticos específicamente del FSII incluyendo a los carotenoides son favorecidos por el espectro de luz azul y verde. Esta estimulación es debida a una aclimatación en las células de las microalgas verdes, ya que, pueden absorber mejor las longitudes de onda entre 450-570 nm. También se ha descrito que la luz azul posee un alto contenido energético lo cual favorece a los pigmentos fotosintéticos a transmitir más rápidamente la energía electrónica a los centros de reacción y así consecutivamente seguir con el efectivo proceso de la fotosíntesis (Kirk, 1983).

La luz roja tiende a causar los mismos efectos que una radiación de alta intensidad, ya que las algas expuestas a altas intensidades de luz presentan una mayor tasa fotosintética máxima y una menor concentración de clorofila (Wallen y Geen, 1971 a,b).

Los valores de  $P_{\text{máx}}$ ,  $I_k$  y  $\alpha$  obtenidos para *Scenedesmus obliquus* en los tratamientos con luz blanca durante la fase exponencial y estacionaria respectivamente, fueron superiores a los obtenidos para *Scenedesmus* sp. el día 5 y el día 10 de cultivo por Flores-Páez (2012).

Los valores de  $P_{\text{máx}}$  y  $\alpha$  presentaron una tendencia similar en los distintos tratamientos experimentales realizados con *Scenedesmus obliquus*. En la fase de crecimiento exponencial tanto  $P_{\text{máx}}$ ,  $I_k$  como  $\alpha$  no mostraron diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Esta tendencia similar entre  $P_{\text{máx}}$  y  $\alpha$  indica una estrategia de fotoaclimatación en la microalga *Scenedesmus obliquus*. Resultados similares fueron obtenidos para cinco especies de diatomeas bentónicas al ocurrir la fotoaclimatación y se encontró que se encontraron importantes modificaciones en la eficiencia fotosintética por efecto de la composición espectral de la luz (Mercado *et al.*, 2004).

## V. Conclusiones

La distinta composición espectral de la luz utilizada en este trabajo influyó en la tasa de crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus*. Los cultivos de *Scenedesmus obliquus* mantenidos con luz azul presentaron una mayor tasa de crecimiento, mientras que los mantenidos con luz roja tuvieron la menor tasa de crecimiento.

En cultivos de *Scenedesmus obliquus* la luz roja promovió una mayor concentración de carbohidratos y una menor cantidad de proteínas. No se encontraron diferencias en el contenido de proteínas de *Scenedesmus obliquus* en los tratamientos de luz blanca, luz azul y luz verde.

El contenido de lípidos en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* no fue modificado por efecto de la distinta composición espectral de la luz y tampoco por efecto de la fases de crecimiento.

Las concentraciones de clorofila "a", "b" y carotenoides en *Scenedesmus obliquus* fueron mayores en los cultivos mantenidos con luz azul durante la fase exponencial, mientras que durante la fase estacionaria fueron mayores en los cultivos mantenidos con luz verde.

La fotosíntesis máxima ( $P_{m\acute{a}x}$ ) y el índice de saturación lumínica ( $I_k$ ) para *Scenedesmus obliquus* mostraron una tendencia similar y no tuvieron cambio por efecto de la distinta composición espectral de la luz y tampoco por efecto de la fases de crecimiento. Los valores de la eficiencia fotosintética ( $\alpha$ ) fueron similares durante la fase exponencial y mayores para la luz azul en la fase estacionaria.

## VI. Recomendaciones

Utilizar otras especies de microalgas al ser cultivadas con distinta composición espectral de la luz y comparar su respuesta fisiológica respecto a la obtenida con *Scenedesmus obliquus*.

Evaluar el efecto de la distinta composición espectral de la luz respecto al tamaño de las células *Scenedesmus obliquus*.

Evaluar el efecto de ciclos de luz y oscuridad respecto a la tasa de crecimiento, composición proximal y eficiencia fotosintética de cultivos de *Scenedesmus obliquus* mantenidos con distinta composición espectral de luz.

Realizar cultivos masivos de *Scenedesmus obliquus* expuestos con distinta composición espectral de luz para ser utilizados en el área de la acuicultura y evaluar su perfil de aminoácidos y de ácidos grasos.

Realizar cultivos de células de *Scenedesmus obliquus* inmovilizadas en distintos tipos de polímeros, evaluar su crecimiento, composición proximal y capacidad de remoción de nutrientes al ser expuestos en distinta composición espectral de luz.

Evaluar la capacidad de remoción de metales al utilizar células de *Scenedesmus obliquus* expuestas a distinta composición espectral de luz.

Evaluar la capacidad de ser preservadas las células de *Scenedesmus obliquus*.

## VII. Literatura citada

- Bligh, E.G., W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. Journal of Biochemistry and Physiology* 37:911-917.
- Borowitzka, M.A., L.J. Borowitzka. 1988. *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press. Cambridge. 477 pp.
- Brown, M. R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.
- Cepak, V., P. Pribyl, M. Vitova. 2006. The effect of light color on the nucleocytoplasmic and chloroplast cycle of the green Chlorococcal alga *Scenedesmus obliquus*. *Folia Microbiologica* 51(4): 342-348.
- Correa-Reyes, J.G., M.P. Sánchez-Saavedra, D.A. Siqueiros-Beltrones, N. Flores-Acevedo. 2001. Isolation and growth of eight strains of benthic diatoms, cultured under two light conditions. *Journal of Shellfish Research* 20(2): 603-610.
- Darley, W.M. 1987. *Biología de las algas: Enfoque fisiológico*. Editorial LIMUSA, México, D.F. 236 pp.
- Dring M.J. 1988. Photocontrol of development in algae. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39: 157-174.
- D'Souza, F., G. Kelly. 2000. Effects of a diet of a nitrogen-limited alga (*Tretaselmis suecica*) on growth, survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus monodon*) larva. *Aquaculture* 181: 311-329.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28:350-356.
- Fabregas, J., L. Toribio, J. Albalde, B. Cabezas, C. Herrero. 1989. Biochemical composition and growth of the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different

ammonium nitrogen concentration as chloride, sulfate, nitrate and carbonate. *Aquaculture* 83: 289-304.

Fierro-Reséndiz, S. 2004. Utilización de microalgas inmovilizadas para la remoción de nutrientes de efluentes de cultivos acuícolas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California, México. 103 pp.

Fierro S., M.P. Sánchez-Saavedra, C. Copalcúa. 2008. Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized *Scenedesmus*. *Bioresource Technology* 99: 1274-1279.

Figueroa, F.L., J. Aguilera, F.J. Niell. 1995. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 30: 11-18.

Figueroa, L.F., J. Mercado, C. Jiménez, S. Salles, J. Aguilera, M.P. Sánchez-Saavedra, M.P., Lebert, D.P. Håder, O. Montero, L. Lubián. 1997. Relationship between bio-optical characteristics and photoinhibition of phytoplankton. *Aquatic Botany* 59:237-251.

Flores-Páez, L.M. 2012. Microalgas inmovilizadas con distintos tipos de recubrimiento para su potencial uso en la remoción de nutrientes de efluentes de cultivos acuícolas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California, México. 91 pp.

Fogg, G.E., B. Thake. 1987. *Algae Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press. 259 pp.

Godínez-Ortega J.L., P. Snoeijs, D. Robledo, Y. Freile-Pelegrín, M. Pedersén. 2008. Growth and pigment composition in the red alga *Halymenia floressi* cultured under different light qualities. *Journal of Applied Phycology* 20: 253-260.

Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: Carl, J.B. (Ed.). *Culture of Marine Invertebrates, selected readings*. Ross Publishing. London 233 pp.

- Humbeck K., B. Hoffmann, H. Senger. 1988. Influence of energy flux and quality of light on the molecular organization of the photosynthetic apparatus in *Scenedesmus*. *Planta* 173: 205-212.
- Jiménez-Valera, S. 2008. Remoción de nutrientes inorgánicos con microalgas inmovilizadas en quitosano. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California México. 112 pp.
- Kirk, J.T.O. 1983. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. *Marine Ecology*, Cambridge University. 399 pp.
- Kowallik W., R. Schurmann. 1984. Chlorophyll a / chlorophyll b ratios of *Chlorella vulgaris* in blue or red light. En: *Blue Light Effects in Biological Systems*. En: Senger H. (Ed.). Springer, Berlin Heidelberg, New York. pp. 352-358
- Lafarga-de la Cruz, F. 2000. Interacción entre la luz, consumo de nutrientes, composición celular y producción de *Rhodomonas* sp. en cultivos estáticos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, México. 50 pp.
- López-Figueroa F., F.X. Niell. 1990. Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds. *Marine Biology* 104: 321-327.
- López-Figueroa F., J. Aguilera, X. Niell. 1995. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 30: 11-18.
- López-Figueroa, F., F.X. Niell. 1990. Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds. *Marine Biology* 104: 321-327.
- López-Muñoz, I., J. Abalde, C. Herrero. 1992. Crecimiento y contenido de pigmentos de cuatro especies de microalgas marinas cultivadas con diferentes temperaturas e intensidades de luz. *Aquaculture* 3: 59-65.

- Lowry, O.H., Rosebrought, N.J., Farr, A.L., R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biology Chemistry* 193:265-275.
- Marchetti, J., G. Bougaran, T. Jauffais, S. Lefebvre, C. Rouxel, B. Saint-Jean, E. Lukomska, R. Robert, J.P. Cadoret. 2012. Effects of blue light on the biochemical composition and photosynthetic activity of *Isochysis* sp. *Journal of Applied Phycology* DOI 10.1007-s10811-012-9844-y
- Martínez, V., Pellón, A., Pérez, E., Correa, O., Escobedo, R., Madruga, Y., Oña, A., Arencibia, R. 2005. Producción de Biomasa de *Scenedesmus obliquus* en diferentes medios de cultivo. *Ciencias Biológicas* 36: 1-7.
- Mercado, J.M., F. X. Niell, M.C. Gil-Rodríguez. 2001. Photosynthesis might be limited by light, not inorganic carbon availability, in three intertidal Gelidiales species. *New Phytologist* 149:431-439.
- Mercado J.M., M. P. Sánchez-Saavedra, G. Correa-Reyes, L. Lubián, O. Montero, F.L. Figueroa. 2004. Blue light effect on growth, light absorption characteristics and photosynthesis of five benthic diatom strains. *Aquatic Botany* 78: 265-277.
- Parsons, T.R., Y. Maita, C.M. Lalli. 1984. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press, Oxford. 193 pp.
- Pirson A., W. Kowallik. 1964. Spectral responses to light by unicellular plants. *Photochemistry and Photobiology* 3: 489-497.
- Platt, T. 1981. *Physiological Bases of Phytoplankton Ecology*. Dept. Fish. Oc. Bull. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 210. 145 pp.
- Renaud, S., Luong-Van, T., Lambrinidis, G., Parry, D. 2002. Effects of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211: 195-214.

- Richmond, A. 1986. Cell response to environmental factors. 69-99. En: Richmond, A. (Ed.). Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press, Florida. 528 pp.
- Rivkin R.B. 1989. Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton I. photosynthesis, chemical composition and growth. Marine Ecology Progress Series 55: 291-304.
- Rosenberg J.N., G.A. Oyler, L. Wilkinson, M.J. Betenbaugh. 2008. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. Current Opinion in Biotechnology 19: 430-436.
- Ruíz-Marín, A., L.G. Mendoza-Espinoza, T. Stephenson. 2010. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. Bioresource Technology 101:58-64.
- Ruíz-Marín A., L.G. Mendoza-Espinoza, M.P. Sánchez-Saavedra. 2011. Características fotosintéticas y crecimiento de *Scenedesmus obliquus* inmovilizada en alginato. Agrociencia 45: 303-313.
- Sánchez-Saavedra, M.P., D. Voltolina. 1994. The chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions. Ciencias Marinas 107: 39-44.
- Sánchez-Saavedra, M.P., D. Voltolina. 1996. Effect of blue-green light on growth rate and chemical composition of three diatoms. Journal of Applied Phycology 8: 131-137.
- Sánchez-Saavedra, M.P., D. Voltolina. 2002. Efecto de las tasas de flujo de fotones de luz blanca y azul-verde en la eficiencia del crecimiento y contenido de pigmentos de tres especies de diatomeas en cultivos terminales. Ciencias Marinas 28: 273-279.
- Senger H. 1987. Blue light responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms. CRC Press Inc. Boca Raton, Volume I, 160 pp.

- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. 321-344. En: Stein, J. (Ed.). Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, London. 448 pp.
- Tremblin G., R. Cannuel, J.L. Mouget, M. Rech, J.M. Robert. 2000. Change in light quality due to a blue-green pigment, marennine, released in oyster-ponds: effect on growth and photosynthesis in two diatoms, *Haslea ostrearia* and *Skeletonema costatum*. Journal of Applied Phycology 12: 557-566.
- Wallen D.G., G.H. Geen. 1971a. Light quality and concentration of proteins, RNA, DNA and photosynthetic pigments in two species of marine plankton algae. Marine Biology 10: 44-51.
- Wallen D.G., G. H. Geen. 1971b. Light quality in relation to growth, photosynthetic rates and carbon metabolism in two species of marine plankton algae. Marine Biology 10: 34-43.
- Whyte, J.N.C. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. Aquaculture 60: 231-241.
- Wikfors, G.H. 1986. Altering growth and gross chemical composition of two microalgal molluscan food species by varying nitrate and phosphate. Aquaculture 59: 1-14.
- Zachleder V., E.S. Kuptsova, D.A. Los, V. Cepák, S. Kubín, J.M. Shapizogov, V.E. Semenenko. 1989. Division on chloroplast nucleoids and replication of chloroplast DNA during the cycle of *Dunaliella salina* grown under blue and red light. Protoplasma 150: 160-167.