



**Evaluación del efecto estimulante de ácido indol-3 acético sobre la productividad de
espirulina (*Arthrospira platensis*)**

Benalcázar Tipantuña, Andrea Lisseth

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal, PhD.

14 de febrero del 2022



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: "**Evaluación del efecto estimulante de ácido indol-3 acético sobre la productividad de espirulina (*Arthrospira Platensis*)**" fue realizado por la señorita **Benalcázar Tipantuña, Andrea Lisseth**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 5 de febrero del 2021

Firma:



JUAN
CRISTOBAL
ORTIZ TIRADO

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal, PhD
C.C. 1709998163



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo **Benalcázar Tipantuña, Andrea Lisseth**, con cédula 1725496580, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **"Evaluación del efecto estimulante de ácido Indol-3 acético sobre la productividad de espirulina (*Arthrospira Platensis*)"** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 9 de febrero 2022

Benalcázar Tipantuña, Andrea Lisseth
C.C.: 1725496580



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo **Benalcázar Tipantuña, Andrea Lisseth**, con cédula ciudadanía 1725496580 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "**Evaluación del efecto estimulante de ácido indol-3 acético sobre la productividad de espirulina (*Arthrospira Platensis*)**" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 9 de febrero del 2022

Benalcázar Tipantuña, Andrea Lisseth

C.C. : 1725496580

Reporte de verificación de similitud de contenidos



Informe Copyleaks Andrea Benalcazar.docx

Scanned on: 12:23 February 5, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	18
Words with Minor Changes	25
Paraphrased Words	142
Granted Words	0

Firma:



JUAN
CRISTOBAL
ORTIZ JURADO

Ing. Ortiz Jurado, Juan Cristóbal, PhD.

Director



Website | Education | Businesses

DEDICATORIA

A Dios, por ser la fuente principal de fortaleza en este camino de arduo trabajo

A mis padres por su amor, sabiduría y paciencia con la que me guiaron durante todo este tiempo y, sobre todo, la inspiración que tuve al mirarlos cada día a mi lado

A mis abuelitos, tíos, tías y primos que han sido el soporte para cumplir mis sueños

A mis hermanos por estar conmigo en todo momento

A mis amigas por ser incondicionales

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas y a la carrera de Ingeniería de Ciencias Agropecuarias IASA I, por ofrecerme todo el apoyo, servicio y el conocimiento académico brindado durante toda a carrera.

Al Dr. Ortiz Juan por toda la dedicación, paciencia, amistad y conocimiento aportado que fueron de gran ayuda para culminar con mi trabajo de titulación y mi formación profesional, a la Ing. Muñoz Daysi por sus enseñanzas, sus palabras de ánimo y sus sabios consejos.

A mis padres y hermanos por estar conmigo incondicionalmente, por enseñarme valores, por guiarme por las sendas correctas de la vida, por darme el cariño suficiente y fomentar en mi la lucha por cumplir mis sueños.

A toda mi familia Benalcázar Tipantuña por el inmenso amor, cuidado, cariño, atención que me brindan día a día, por todas las enseñanzas que me han dado, por todo el apoyo emocional y económico que me han brindado.

A mis amigas Robetsy, Kelin, Yhoana, Milena y Celena, por acompañarme durante este largo viaje y hacerlo más llevadero, por ser incondicionales, darme su amor, confianza, cariño y miles de momentos de alegría.

Benalcázar Andrea

Índice de Contenido

Carátula.....	1
Responsabilidad de Autoría.....	2
Autorización de Publicación.....	3
Reporte de verificación de similitud de contenidos	4
Dedicatoria.....	5
Agradecimiento	6
Resumen.....	11
Abstract.....	15
CAPÍTULO I.....	16
Introducción.....	16
Antecedentes	16
Justificación.....	16
Objetivo General	17
Objetivos Específicos	17
Planteamiento de hipótesis	18
CAPÍTULO II.....	19
Marco Teórico.....	19
Fotosíntesis (fotosistema I / fotosistema II).....	19
Rutas metabólicas y producción de lípidos en organismos fotosintéticos	20

Características de las cianobacterias y microalgas como organismos fotosintéticos	21
Auxinas	22
Características de espirulina	24
Usos e importancia de espirulina.....	31
CAPÍTULO III.....	33
Metodología.....	33
Ubicación del lugar de la investigación.....	33
Ubicación Proyecto Piscícola (Pailones).....	34
Materiales y Equipos	34
Fase de laboratorio	36
Diseño de la fase de laboratorio	38
Fase de campo.....	45
Diseño experimental (fase laboratorio)	46
Análisis Estadístico	48
CAPÍTULO IV.....	49
Resultados.....	49
Parámetros productivos (primera fase de investigación en el crecimiento de espirulina (<i>Arthrospira platensis</i>)	49
Parámetros productivos (segunda y tercera fase de investigación en el crecimiento de espirulina (<i>Arthrospira platensis</i>).....	53
Parámetros ambientales.....	58
Producción de Biomasa.....	61
CAPÍTULO V.....	65

Discusión.....	65
Evaluación de parámetros productivos en el crecimiento de espirulina (<i>Arthrospira platensis</i>) en la Densidad Celular y Peso seco	65
Parámetros ambientales.....	67
Calidad de Biomasa de espirulina (<i>Arthrospira platensis</i>).....	69
CAPÍTULO VI.....	72
Conclusiones y Recomendaciones.....	72
Conclusiones.....	72
Recomendaciones.....	73
Bibliografía.....	74

Índice de Tablas

Tabla 1 <i>Composición por cada 10 g de espirulina (Arthrospira platensis)</i>	25
Tabla 2 <i>Composición por cada 10 g de espirulina (Arthrospira platensis)</i>	26
Tabla 3 <i>Medio de mantenimiento para el cultivo de espirulina</i>	29
Tabla 4 <i>Recetario para el crecimiento de espirulina para un volumen de 10 litros ...</i>	30
Tabla 5 <i>Distribución de los tratamientos en laboratorio</i>	47
Tabla 6 <i>Ganancia de filamentos de espirulina tratados con diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ durante los 39 días de cultivo (Promedio ± desviación estándar)</i>	50
Tabla 7 <i>Promedio ± desviación estándar del crecimiento celular y la absorbancia de tratamientos 10 mg L durante los 39 días</i>	50
Tabla 8 <i>Promedio ± desviación estándar de la velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación de las diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ sobre el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).....</i>	53
Tabla 9 <i>Promedio ± desviación estándar de la densidad celular y absorbancia de las diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ sobre el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).....</i>	54
Tabla 10 <i>Promedio ± desviación estándar de la velocidad de crecimiento y el tiempo de duplicación de las diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ sobre el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis)</i>	58
Tabla 11 <i>Promedio de la temperatura con respecto al lugar</i>	59
Tabla 12 <i>Análisis bromatológico sobre la calidad de espirulina (Arthrospira platensis) en el peso seco</i>	64

Índice de Figuras

Figura 1 <i>Ciclo de Calvin</i>	20
Figura 2 <i>Variedades de espirulina</i>	25
Figura 3 <i>Espirulina (Arthrospira platensis) cosechada</i>	32
Figura 4 <i>Instalaciones de la carrera de Ingeniería Agropecuaria</i>	33
Figura 5 <i>Ubicación del experimento en el Proyecto Piscícola (Pailones)</i>	34
Figura 6 <i>Flujo de procesos de la investigación</i>	36
Figura 7 <i>Medición de parámetros ambientales, Mantenimiento de inóculos de espirulina, Preparación de medios de masificación fase de Laboratorio</i> ...	37
Figura 8 <i>Elaboración de la solución madre AIA, Preparación de dosis de AIA, Aplicación de AIA según el diseño experimental</i>	38
Figura 9 <i>Preparación de tres placas para cada tratamiento, Medición de la absorbancia, Conteo Celular, Observación de espirulina (10x) mediante el empleo del microscopio</i>	40
Figura 10 <i>Muestras de biomasa seca, Cosecha de espirulina en el área de Pailones, Cosecha en el área de invernadero, Cosecha en el área de laboratorio</i>	41
Figura 11 <i>Digestión, Filtración, Titulación</i>	43
Figura 12 <i>Determinación de lípidos mediante el método de Soxhlet</i>	44
Figura 13 <i>Implementación de la segunda fase, Implementación de la tercera fase de experimentación y Cultivo de espirulina con un volumen de 600 lt</i>	45
Figura 14 <i>Preparación de medio de masificación, Aclimatación de cultivo, Siembra e implementación del cultivo de espirulina</i>	46
Figura 15 <i>Croquis diseño experimental de laboratorio, Implementación del experimento fase de Laboratorio</i>	48

Figura 16 <i>Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).....</i>	51
Figura 17 <i>Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).</i>	52
Figura 18 <i>Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis), Invernadero, Pailones.....</i>	55
Figura 19 <i>Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis), Invernadero, Pailones.</i>	56
Figura 20 <i>Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis) bajo invernadero y área de Pailones.</i>	57
Figura 21 <i>Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis) bajo invernadero y área de Pailones.....</i>	57
Figura 22 <i>Promedio de crecimiento \pm desviación estándar de la temperatura con respecto al lugar área de Invernadero y Pailones</i>	59
Figura 23 <i>Correlación positiva entre el Ph y densidad celular, Correlación positiva entre el Ph y absorbancia bajo invernadero</i>	60
Figura 24 <i>Correlación positiva entre el Ph y densidad celular, Correlación positiva entre el Ph y absorbancia en el área de Pailones</i>	60
Figura 25 <i>Correlación positiva entre el Ph y el tiempo bajo invernadero.....</i>	61
Figura 26 <i>Correlaciones entre las variables tiempo, biomasa, densidad celular y absorbancia en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis) dentro del invernadero.....</i>	62

Figura 27 *Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis) dentro del invernadero..... 63*

Resumen

El cultivo de cianobacterias y microalgas han ido evolucionando a lo largo del tiempo a nivel mundial, debido a las propiedades nutritivas y nutraceuticas para consumo humano y animal. Sin embargo, una de las principales problemáticas es el costo de producción, por lo tanto, mejorar su eficiencia productiva es un rol fundamental. El uso de fitohormonas, estimulan el crecimiento de microalgas y cianobacterias, mejorando su productividad, por esta razón, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del ácido indol-3 acético (AIA) sobre la productividad de espirulina (*Arthrospira platensis*) en condiciones de laboratorio y campo. En laboratorio se implementaron 18 unidades experimentales en botellones de cuatro litros y se aplicó seis dosis (0,5,10,20,40 y 80 mg L⁻¹ de AIA). El rango óptimo con los mejores resultados, fue la dosis de 10 mg L⁻¹ de AIA ($p < 0,0001$), con una densidad celular de $6,9 \times 10^5$ filamentos mL⁻¹ (Ab 1,413 nm) durante 39 días. En el invernadero de vidrio (zona administrativa) y de polietileno a una altitud de 3000 msnm (Pailones), se encontraron diferencias significativas con respecto al lugar y el parámetro ambiental temperatura ($p < 0,0001$), y una correlación positiva con respecto al pH. Las variables densidad celular, absorbancia y biomasa del tratamiento de AIA, fueron superiores con respecto al testigo (0,91 g L⁻¹ vs 0,75 g L⁻¹). Además, el efecto AIA sobre la espirulina mejoró el porcentaje lipídico alcanzando en un 6,02 %, al igual que en proteína (30,61 %), clorofila (18,42 mg g⁻¹) y carotenoides (10,6 mg g⁻¹). Este estudio contribuye con el conocimiento del manejo de estimuladores vegetales, mismos que generan un incremento en el crecimiento celular, incrementa la producción de biomasa y mejora en términos generales la productividad.

Palabras claves: *Microalgas, Cianobacteria, Arthrospira platensis, Ácido indol-3 acético (AIA), espirulina-productividad.*

Abstract

The cultivation of cyanobacteria and microalgae has been evolving over time worldwide, due to their nutritional and nutraceutical properties for human and animal consumption. However, one of the main problems is the cost of production, therefore, improving their productive efficiency is a fundamental role. The use of phytohormones stimulates the growth of microalgae and cyanobacteria, improving their productivity. For this reason, the present study aimed to evaluate the effect of indole-3-acetic acid (IAA) on the productivity of spirulina (*Arthrospira platensis*) under laboratory and field conditions. In the laboratory, 18 experimental units were implemented in four-liter bottles and six doses (0,5,10,20,40 and 80 mg L⁻¹ of AIA) were applied. The optimum range with the best results was the dose of 10 mg L⁻¹ of AIA ($p < 0.0001$), with a cell density of $6,9 \times 10^5$ filaments ml⁻¹ (Ab 1,413 nm) for 39 days. In a glass greenhouse and field at an altitude of 3000 masl (Pailones), significant differences were found with respect to location and the environmental parameter temperature ($p < 0.0001$), and a positive correlation with respect to pH. The cell density, absorbance and biomass variables of the AIA treatment were higher than those of the control (0,91 g L⁻¹ vs. 0,75 g L⁻¹). In addition, the AIA effect on spirulina improved the lipid percentage by 6.02 %, as well as protein (30.61 %), chlorophyll (18,42 mg g⁻¹) and carotenoids (10,6 mg g⁻¹). This study contributes to the knowledge of the management of plant stimulators, which generate an increase in cell growth, increase biomass production and improve productivity in general terms.

Keywords: *Microalgae, Cyanobacteria, Arthrospira platensis, Indole-3-acetic acid (IAA), Spirulina-productivity*

CAPÍTULO I

Introducción

Antecedentes

A nivel mundial la espirulina representa el 30 % de biomasa de las especies de microalgas, poseen diferentes beneficios en diversas producciones juntamente con aplicaciones biotecnológicas (Lim *et al.*, 2021). Por lo tanto, los productos de espirulina han incrementado su demanda a corto plazo a más de 197,000 millones de dólares dentro del mercado (Soni *et al.*, 2017). Debido a que la producción de espirulina (*Arthrospira platensis*) es un suplemento importante en la industria alimenticia, lograr una buena eficiencia en la productividad, es una de las problemáticas que presenta cultivar esta cianobacteria, por el alto costo de producción que requiere el medio en el que se desarrolla, pues los insumos químicos empleados son de grado reactivo, una gran desventaja desde el punto de vista económico. Además, a nivel nacional las técnicas poco desarrolladas en los procesos de mantenimiento del cultivo, hace que limita su disponibilidad y usos para la producción en la alimentación humana y animal, debido al buen contenido proteico, lipídico y principios bioactivos como elementos nutraceuticos incluso en volúmenes pequeños (Freire *et al.*, 2020). Por lo tanto, una alternativa es el efecto de auxinas ácido indol 3-acético sobre el crecimiento de la espirulina (*Arthrospira platensis*) con el fin identificar el incremento del contenido lipídico y su productividad.

Justificación

La espirulina es una cianobacteria multicelular que ha alcanzado gran éxito en diferentes sectores como la salud, industria alimentaria y acuicultura considerada el alimento del futuro, por sus características nutricionales, fuentes de proteínas, vitaminas, minerales y medicamentos contra el cáncer, diabetes, daño renal entre

otras enfermedades (Soni *et al.*, 2017). Más del 95 % de microalgas se producen en la acuicultura principalmente China con el 53 %, seguido por Indonesia con el 27 % (Marfaing, 2017). Por lo tanto, mejorar la productividad de espirulina es una alternativa muy buscada, por lo que, según Singh *et al.*, (2020) evidencia que el empleo de auxinas en microalgas mejora su rendimiento productivo, pues la inclusión del ácido indol-3 butírico a una dosis de 50 mg L⁻¹ estimuló un incremento de biomasa y contenido lipídico hasta el 1,96 ± 0,11 g/L y 3,87 % respectivamente en la especie *Desmodesmus sp.* Resultados similares concluyeron que la aplicación del ácido indol-3 acético en *Chlorella* incrementó la división celular, biomasa y una estimulación positiva en el contenido lipídico (Auz, 2019). Por tal motivo, en este estudio se evaluará el uso de espirulina (*Arthrospira platensis*) tratadas con ácido indol acético, con el fin de identificar el rendimiento metabólico y lipídico de la misma, como una alternativa desde el punto de vista económico como ambiental.

Objetivo General

Evaluar el efecto estimulante del ácido indol-3 acético sobre la productividad de la espirulina (*Arthrospira platensis*).

Objetivos Específicos

Estimar los parámetros productivos del cultivo de la cianobacteria espirulina bajo las diferentes dosis de ácido indol-3 acético.

Determinar la dosis óptima del ácido indol-3 acético sobre el crecimiento tanto en laboratorio como en campo

Evaluar el efecto del ácido indol-3 acético sobre el rendimiento lipídico en el cultivo de espirulina.

Planteamiento de hipótesis***Hipótesis Nula***

“La acción de las auxinas naturales (ácido indol-3 acético) en el metabolismo de *Arthrospira platensis*, no afecta el contenido lipídico de la biomasa y la productividad “

Hipótesis Alternativa

“La acción de las auxinas naturales (ácido indol-3 acético) en el metabolismo de *Arthrospira platensis*, afecta el contenido lipídico de la biomasa y la productividad”

CAPÍTULO II

Marco Teórico

Fotosíntesis (fotosistema I / fotosistema II)

Alrededor de mundo hay una infinidad de seres vivos fotosintéticos como las microalgas y plantas, las cuáles poseen la capacidad de transformar la energía luminosa en energía química, este proceso es una de los más importantes para la estructura trófica de los ecosistemas específicamente los acuáticos marinos, por lo tanto, este proceso conlleva las siguientes fases (Lissarrague *et al.*, 2017):

Fase Luminosa

Este proceso se inicia en los cloroplastos ya que estos poseen moléculas de clorofila dándoles la capacidad de absorber los fotones de luz, con el fin de poder llevarlos hacia los fotosistemas I y II, dando como resultado la formación de ATP y NADPH, lo cual es ideal para una correcta absorción del CO₂, además los electrones del fotosistema II forman el oxígeno molecular a través de la separación de la molécula de agua (Lissarrague & Baeza, 2017).

Respiración (Ciclo de Calvin)

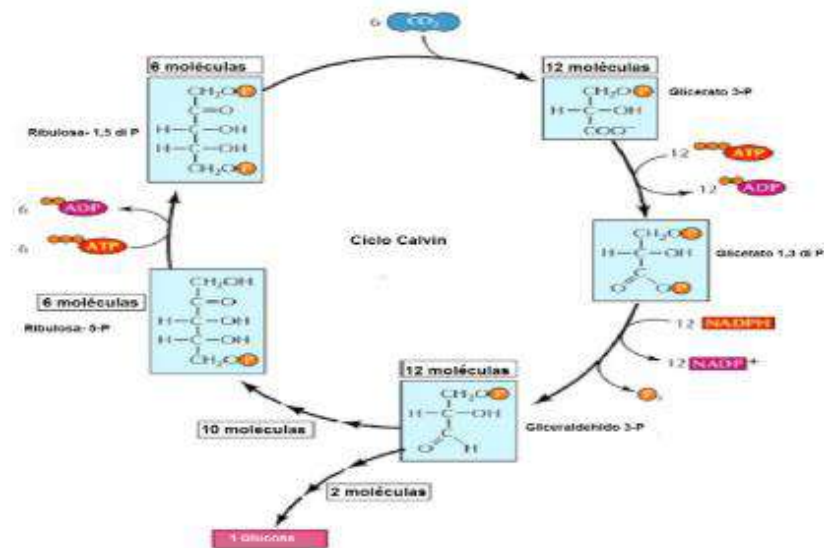
Es la etapa en la cual se desdobra el CO₂ y H₂O la fórmula general es:

$C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \rightarrow 6 CO_2 + 6H_2O$ y se liberan 38 moléculas de ATP

Durante la Fase Oscura o ciclo de Calvin se toman los productos que requieren luz, es decir, ATP y NAPH con el fin de producir carbohidratos mediante la reducción del CO₂, para ellos los elementos producidos en la fase luminosa pasan a formar 12 gliceraldehído 3- fosfato (en base al ácido fosfoglicérico), 10 de ellos pasan a sumarse a la ribulosa 5 fosfato (el azúcar de las plantas) más un ATP se forma 6 – ribulosa- 1,5 difosfato. Los 2 gliceraldehído 3- fosfato restantes forman una hexosa fosfato hasta llegar a la producción de almidón (Sharkey, 2021).

Figura 1

Ciclo de Calvin



Nota: Macías, et al., (2018) *Introducción al estudio de la bioquímica*, (p.86) Editorial Área de Innovación y Desarrollo, S.L Científica 3 Ciencias

Rutas metabólicas y producción de lípidos en organismos fotosintéticos

Para los organismos fotosintéticos al igual que los otros seres vivos dentro de las funciones fisiológicas, intervienen en las rutas metabólicas la respiración y la síntesis de proteínas, pues las plantas son las encargadas de sintetizar una gran cantidad de metabolitos secundarios. Una de las principales rutas metabólicas es la conocida como la glucólisis lo que se identifica como la primera parte de la respiración, la cual se realiza en el citosol, en donde la glucosa se separa en ácido pirúvico, cuando se encuentra en condiciones anaeróbicas, se forma el acetil-CoA por la oxidación del piruvato para continuar en el ciclo cítrico. Otro de los destinos es cuando se forma en oxalacetato el cual se puede emplear como precursor de glucogénesis. Además, otra ruta metabólica es el ciclo de Krebs, es decir, una ruta anfibólica (participa en anabolismo y catabolismo) en el cual se emplea el oxígeno para la degradación de carbohidratos, grasas, proteínas en CO_2 y H_2O mediante la

formación de energía química en organismos aeróbicos, además se procesa diversos precursores para la formación de aminoácidos (Teijon *et al.*, 2009).

La producción de lípidos en los organismos fotosintéticos cumple un rol fundamental como fuente de energía para el cumplimiento de sus funciones fisiológicas, un claro ejemplo son las plantas, las cuáles realizan tres diferentes etapas: La primera es la obtención de glicerol primer producto en biosintetizarse, la segunda es la obtención de ácidos grasos y en la última etapa se forman los lípidos (Macías *et al.*, 2018)

Características de las cianobacterias y microalgas como organismos fotosintéticos

Los microorganismos fotosintéticos son aquellos que se caracterizan por llevar a cabo el proceso de transformación de la luz en energía química, por lo tanto, se dividen en bacterias fotosintéticas y microalgas, pues el término microalga hace referencia a los individuos que poseen clorofila y pigmentos que le dan la capacidad de realizar fotosíntesis, en este sentido las cianobacterias se encuentra en medio de la gran división ,sin embargo, tradicionalmente hay especies de cianobacterias que se consideran microalgas como es el caso de la espirulina (Abalde *et al.*,1995).

En la actualidad existen alrededor de 15 mil especies de microalgas las mismas que pueden ser bacterias fotosintéticas o cianobacterias, se han clasificado en procariotas y eucariotas, poseen un gran potencial dentro de la industria farmacéutica, alimenticia, biocombustibles, aplicaciones biotecnológicas entre otros (Auz *et al.*, 2019). Son organismos de un tamaño que oscilan de 2 a 200 μm , autótrofos y heterótrofos capaces de sintetizar la luz con el fin de producir, proteínas, lípidos y carbohidratos, importantes a nivel industrial, además contribuyen de manera indispensable en el planeta ya que tiene la capacidad principalmente de la fijación de CO₂, energía solar y producción de oxígeno y dentro de los sistemas acuáticos son

una de las fuentes principales de alimento. Las microalgas se cultivan en diferentes sistemas estos pueden ser abiertos o cerrados, se producen bajo factores influyentes como son la temperatura, pH, requerimientos nutricionales, las especies más rentables a nivel industrial son *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus* (Auz, 2019).

Auxinas

Las fitohormonas son reguladores de crecimiento los cuáles intervienen en la estimulación de los procesos fisiológicos, división celular y desarrollo de las plantas. Los diferentes tipos de hormonas vegetales más empleadas son las auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico entre otros (Singh *et al.*, 2020).

Las auxinas se derivan del griego “auxein” el cual se define como crecer, se origina en las plantas con altas concentraciones en los vástagos y la raíz, específicamente son las encargadas de la elongación, división celular, tropismos, procesos biosintéticos, entre otros, los tipos de auxinas son acetil indol 3-acético (IAA), butírico (IBA), ácido fenilacético (PAA) y ácido indol propiónico (AIP) (Borjas-Ventura *et al.*, 2020).

Acetil indol 3-acético (AIA)

Es uno de los primeros compuestos auxínicos descubiertos en el año 1937, se encuentran en las microalgas principalmente IAA e IBA, incitando su metabolismo, crecimiento y producción de biomasa, también en diferentes investigaciones se ha evidenciado que AIA incrementa el desarrollo de los frutos partenocárpicos, además de la inducción de la tolerancia a la sequía siendo efectos importantes para la comunidad científica (Han *et al.*, 2018).

Ruta metabólica y el principio de acción en plantas

Las IAA se sintetizan generalmente en los cloroplastos mediante las vías triptófano y en algunas moléculas como glucosa, oligosacáridos, ácidos nucleicos y proteínas, otra de las rutas es aquella que pasa por el ácido indol-3- pirúvico (Enders & Strader, 2015).

La respiración y síntesis de proteínas son procesos indispensables en los seres vivos juntamente con las diferentes reacciones químicas que se desarrollan dentro de la célula, sin embargo, la fotosíntesis es la función metabólica, en la cual participan los pigmentos conocidos como la clorofila y carotenoides, características principales de todos los microorganismos fotosintéticos y de las plantas, razón por la cual son diferentes a los otros seres vivos, siendo el fundamento de la vida en la tierra (Stirbet *et al.*, 2019).

Uso de auxinas en microalgas

Dentro la producción acuícola, agrícola y bioenergía las microalgas son una fuente significativa para su industrialización, las auxinas cumplen un papel fundamental aumentando su tasa de crecimiento y metabolismo en las especies *Scenedesmus obliquus*, pues el empleo de AIA llegó a un máximo crecimiento de $17,7 \times 10^6$ células mL^{-1} y un ácido graso total de 97,9 mg/g comparado con el control que fue de $9,5 \times 10^6$ células mL^{-1} , además hubo incrementos en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados hasta un 56%, los carbohidratos con un 34% y un contenido de proteína de 34%, es decir, al mejorarse tales características en las microalgas son ideales para emplearlas como materia prima en la producción de biocombustible (Salama *et al.*, 2014).

Así mismo, la hormona vegetal auxina actúa como un mensajero químico, en la especie *Desmodesmus* estimulando el incremento de clorofila, actividades fotosintéticas, división celular y aumento de lípidos (Sales *et al.*, 2021).

Acetil indol 3-acético ha acumulado gran cantidad de carotenos en *Chlorella* sp., al tercer y quinto día con valores de 50 y 100 $\mu\text{mol/L}$ respectivamente, a diferencia del control (5 $\mu\text{mol/L}$ al día 5) (Alsenania *et al.*, 2019).

Características de espirulina

La espirulina *Arthrospira* pertenece al género *platensis*, a lo largo de la historia es una de las plantas más antiguas, aproximadamente hace 3 600 millones de años, es una cianobacteria organismo fotosintético, con filamentos definidos, multicelular, con una longitud de 0,3 mm y 0,008 mm de ancho, es decir, 300 micrómetros y 8 micrómetros, con una forma espiral de donde se deriva su nombre “espira “espiral y nila “pequeño” (Xarxa, 2021).

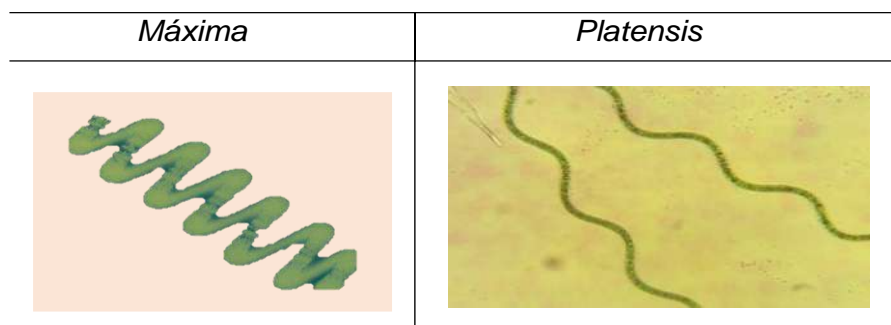
Variedades

La cianobacteria espirulina posee una diversidad de variedades, entre las más conocidas son *Arthrospira máxima* la cual se origina de américa central, posee tricomas no muy anchos sino por el contrario se encuentra formado por células más cortas helicoidales de forma cilíndrica e inmóvil con un diámetro amplio el cual oscila entre 30 y 70 micras (Vonshak, 1997).

Mientras que la variedad *Arthrospira platensis* poseen tricomas cortos como una espiral más suelta, con 5 a 7 espirales, además las dos variedades poseen filamentos flotantes que se encuentran densamente granulados en las paredes transversales debido a la presencia de vacuolas de gas (aerotopos), otras variedades son la Lonar, la cual tiene como característica ser espiralada y Paracas la cual es muy ondulada (Vonshak, 1997).

Figura 2

Variedades de espirulina



Nota: La variedad *Platensis* captada mediante el microscopio (10x).

Adaptado de Vonshak, (1997) *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology, and biotechnology*, (p.3) Taylor & Francis

Tabla 1

Composición por cada 10 g de espirulina (*Arthrospira platensis*)

Ácidos Grasos	mg	Pigmentos y enzimas	mg
Grasas saturadas	100	Clorofila a	79
Grasas insaturadas	210	Carotenoides	37
Ácido linolénico	120	Beta-caroteno	7-20
Ácido linolénico	80	Ficocianina	1500 – 2000
Ácido oleico	11	Superóxido Dismutasa	10 – 35 UI

Nota: Adaptado de Manual práctico de cultivo de Espirulina en casa, (p.5), por Xarxa 2021.

Espirulina ha alcanzado gran éxito por ser una fuente importante de nutracéuticos y productos farmacéuticos con un alto contenido nutricional en macronutrientes y micronutrientes, aminoácidos esenciales, proteínas, lípidos, minerales y antioxidantes entre otros (Soni *et al.*, 2017).

Tabla 2

Composición por cada 10 g de espirulina (Arthrospira platensis)

Aminoácidos esenciales	mg	Aminoácidos no esenciales	mg
Fenilalanina	280	Alanina	470
Histidina	100	Arginina	430
Isoleucina	350	Ácido aspártico	610
Lucina	540	Cisteína	600
Lisina	290	Ácido glutámico	910
Metionina	140	Glicina	320
Treonina	320	Prolina	270
Triptófano	90	Serina	320
Valina	400	Tirosina	300

Nota: Adaptado de Manual práctico de cultivo de Espirulina en casa, (p.5), por Xarxa 2021.

Los parámetros productivos ideales para el crecimiento de la espirulina son una temperatura de 37°C, un pH de 10, iluminación de 40. 000 a 50. 000 lux, una oxigenación de intervalos de 15 a 30 minutos, una salinidad de 13 g L⁻¹ y una alcalinidad de 0,1 molécula-gramo L⁻¹ (Jourdan, 2014).

Fases de crecimiento de espirulina

El desarrollo de la espirulina atraviesa diferentes etapas necesarias para realizar un buen manejo, las que se presentan continuación (Arredondo & Voltamina, 2007):

Adaptación. Corresponde a la fase inicial del crecimiento, es decir, en donde el inóculo se aclimata a los factores del entorno, por lo cual es importante que estén de acuerdo a sus necesidades.

Los cambios abruptos de los mismo en pH, temperatura e iluminación pueden generar diversas complicaciones, además cuando las condiciones metabólicas no son las correctas se hace una fase de retardo del crecimiento.

Aceleramiento. En esta fase inicia el aumento progresivo en las diferentes estructuras de las microalgas o cianobacterias, principalmente en el ARN (ácido ribonucleico), proteínas y peso.

Crecimiento exponencial. Durante la presente etapa se inicia con la división celular, multiplicándose a su nivel máximo con respecto al tiempo, es decir, que la densidad celular aumenta.

Crecimiento Lineal. En esta etapa empieza a descender la división celular debido a la gran cantidad de células presentes, además de la disminución de la disponibilidad de nutrientes y otros factores influyentes en el crecimiento.

Estacionaria. En esta fase no se presentan cambios en la densidad celular, sin embargo, la natalidad es similar a la mortalidad debido al limitante de las condiciones, además de los residuos de los productos catabólicos el medio de cultivo por lo que se procede a cosechar con el fin de evitar el auto sombreado.

Muerte. Esta es la etapa final del crecimiento de microalgas en donde la mortalidad es mayor a la natalidad debido a que hay un incremento en la respiración con respecto a la fotosíntesis y la ausencia de nutrientes se produce el fenómeno de lisis celular, además se evidencia una disminución en la biomasa.

Según Sandoval, (2017) afirma que el desarrollo de *Arthrospira platensis* en los diferentes medios orgánico (Orina de ganado vacuno), inorgánico (Kristalón) y Zarrouk poseen una productividad de biomasa del 1,4 g L⁻¹ de biomasa seca, con una densidad celular de 7,5 x 10⁵ filamentos mL⁻¹ y una absorbancia de 1,45 nm por espectrofotometría durante la fase laboratorio.

Es decir, que los diferentes medios empleados se evidencia la capacidad de adaptación con un crecimiento favorable como respuesta a la investigación por lo que es una alternativa factible dentro de la producción de *Arthrospira platensis* a nivel industrial.

Medios de cultivo

El cultivo de espirulina a nivel nutricional requiere una fuente de nitrógeno, carbono y minerales, generalmente se desarrolla en medios salinos y principalmente alcalinos, para el desarrollo de espirulina es necesaria la presencia de tres principales elementos nitrógeno (N), potasio (K), fósforo (P), sin embargo, requiere de ciertos microelementos estos pueden ser el azufre (S), magnesio (Mn), calcio (Ca), y hierro (Fe) o medios artesanales como bicarbonato natural, ceniza e incluso la orina la cual es considerado como aquel alimento ideal para el cultivo de espirulina, pero un requerimiento indispensable es que debe provenir de personas sanas, sin drogas, alcohol, antibióticos o anticonceptivos entre otros, para poder emplear como medio algunas de la recomendaciones son que se puede añadir vinagre y diluirla en agua por cuestiones higiénicas (Xarxa, 2021).

Existe una diversidad de recetas a dosis distintas, sin embargo, el medio básico son los bicarbonatos, carbonatos, soda cáustica con el fin de obtener alcalinidad, además requiere de macronutrientes a base de urea y nitratos y finalmente micronutrientes en cual hace falta el hierro y otros minerales (Xarxa, 2021).

Medio de mantenimiento. Es un medio específico para la cianofita espirulina, con la capacidad lograr mantener el cultivo en tubos de ensayos por un tiempo prolongado, con el fin de preservar la cepa. Según Schlösser, (1994) el medio posee dos soluciones (A y B) las cuáles se deben autoclavar por separada para evitar cualquier tipo de precipitación. Una vez enfriados las soluciones A y B se las combina asépticamente (Tabla 3).

Tabla 3*Medio de mantenimiento para el cultivo de espirulina*

Solución A		Solución B	
Agua destilada	500 mL	Agua destilada	500 mL
NaHCO ₃	13,61 g	NaNO ₃	2,50 g
Na ₂ CO ₃	4,03 g	K ₂ SO ₄	1,00 g
K ₂ HPO ₄	0,50 g	NaCl	1,00 g
		MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,20 g
		CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,04 g
		Solución metal PIV	6 ml
		Solución de micronutrientes	1 ml
		Vitamina B12 (15 µg/100 ml H ₂ O)	1 ml

Nota: Adaptado de "SAG - Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen Catalogue of Strains 1994 ", por Schlösser, (1994) *Botanica Acta*, 107 (3), p.113-186

Medio de masificación. Según Xarxa, (2021) se basa en las fuentes principales de nutrientes que requiere la espirulina, las dosis de los diferentes productos químicos del medio se los calculará para un volumen de un litro (Table 3). Los macronutrientes se los prepara individualmente para un volumen de 500 ml de agua, proyectado para la elaboración de 25 litros. Del mismo modo los micronutrientes se realizan como una solución individual para un volumen de 50 ml de agua purificada. Una vez diluidos correctamente los productos del recetario, se emplea la autoclave para esterilizar el medio que se va emplear con el fin de evitar la contaminación del cultivo a nivel de laboratorio.

Tabla 4

Recetario para el crecimiento de espirulina para un volumen de 10 litros

Medio de cultivo	Macronutrientes	Micronutrientes
100 gr de bicarbonato	100 gr de Nitrato de potasio	10 gr de Sulfato de Hierro Quelatado
50 gr de sal	10 gr de Fosfato Monoamónico	
200 ml macronutrientes	5 gr de Sulfato de Potasio	
10 ml micronutrientes	5 gr de Sulfato de Magnesio	

Nota: Adaptado de Manual práctico de cultivo de Espirulina en casa, (p.10), por Xarxa 2021

Medio Kristalón modificado. Empleado como un medio industrial, con el fin de reducir el costo de producción al cultivar espirulina en grandes volúmenes. El medio se basa en los productos bicarbonato de sodio y sal (Tabla 4). Sin embargo, las macronutrientes y micronutrientes fueron reemplazados por el fertilizante foliar Kristalón (12-12-36) a una dosis de 1 g L^{-1} (Sandoval, 2017).

Cosecha

Para realizar una correcta cosecha manual de espirulina el momento indicado es durante el día por dos razones, la primera es por el alto contenido proteico que se acumula en período nocturno y la segunda razón es colocar el producto cosechado durante la mañana pues son condiciones ideales para el secado. Por lo tanto, para cosechar se requiere de un filtro de malla este puede ser de 25 o 50 micras (250 o 500 hilos /cm²), para colocarlo sobre un cedazo para poder filtrar el cultivo, con el fin de ir recogiendo la pasta verde conocida como la biomasa, mientras mayor cantidad se cosecha esta se va formando una bola.

La biomasa que no se encuentre en buen estado se la va separando hacia los extremos, una correcta velocidad de filtración es de aproximadamente 300 g espirulina seca/hora/ m² de superficie de filtro, sin embargo, este va depender del

tipo de filtro y concentración del cultivo o el medio en la cual se ha desarrollado (Jourdan, 2014).

Conservación

Tras la cosecha para una correcta conservación el secado es una actividad importante, de este modo a nivel industrial se emplea la técnica de secado por pulverización a temperaturas muy elevadas en una corriente de gases de combustión, mientras que en una producción su tiempo de secado es mucho más prolongado por esta razón no afectan directamente el interior de las células, en el caso de no poder secarlos de manera inmediata es recomendable tenerlo en el refrigerador o en la sala frigorífica hasta 1 °C, pero no por un tiempo prolongado (hasta una semana máximo). El secado más rápido y menos costoso es al ambiente, pese a que una de las desventajas es que se encuentra expuesto a factores externos como el polvo, insectos entre otros. El secado a temperaturas de 40 a 50 °C, tiene como ventaja la conservación nutricional y beneficios desde el punto de vista bacteriológicos, la espirulina seca se almacena en envases de plástico metálicos y termosolares para evitar la penetración de oxígeno, evitando el fácil acceso de roedores (Jourdan, 2014).

Usos e importancia de espirulina

La espirulina a nivel mundial ha alcanzado popularidad, pues la OMS la ha declarado como el alimento ideal para la salud humana, la Nasa lo considera uno de los cultivos importante para misiones espaciales y la UNESCO afirma que es el alimento del futuro, además se la emplea en el área cosmetológica, medicina y tratamiento de aguas residuales (Soni *et al.*, 2017).

La espirulina es considerada el milagro que crece en los océanos en la industria de alimentos, debido a su alto contenido nutricional, se evidencia que, en el mercado mundial principalmente en Japón, Estados Unidos y Europa, los productos

nutracéuticos se estima en valores de 30- 60 mil millones de dólares. Para el caso de la alimentación de los animales en la acuicultura, según Sirakov et al., (2012) evaluó la inclusión de espirulina al 10 % en la dieta de alevines de trucha arco iris quienes reportaron un incremento de la longitud, peso final, tasa específica de crecimiento, consumo de alimento al igual que en las otras especies animales como aves, cerdos y ganado.

Según Stadlander et al., (2019) afirma que *Spirodela polyrhiza* cultivadas en purines diluidos en donde se presentaron un incremento de biomasa de $96 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ de materia fresca y proteína de 306 g kg^{-1} en el medio de estiércol diluido, además fueron empleadas en la dieta alimenticia de alevines a diferentes dosis aun porcentaje de 6,25% y 12,5% durante cuatro semanas, en las cuales presentaron un crecimiento positivo de los diferentes grupos de tratamientos y las crías crecieron entre 4,6 y 5,0 veces su tamaño inicial.

Figura 3

Espirulina (*Arthrospira platensis*) cosechada



CAPÍTULO III

Metodología

Ubicación del lugar de la investigación

Ubicación Política

La investigación presenta dos fases de estudio las que se van a efectuar en las instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, del Departamento Ciencias de la Vida en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA 1, ubicada en la parroquia de San Fernando, Cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha.

Ubicación Geográfica

En el laboratorio de Acuicultura y Recursos Acuáticos establecido según sus coordenadas geográficas a una longitud de $78^{\circ} 24' 44''$ E y una altitud de $0^{\circ} 23' 20''$ S (Arce, 2009).

Figura 4

Instalaciones de la carrera de Ingeniería Agropecuaria



Nota: La figura representa la ubicación del experimento. (Google maps, 2022)

Ubicación Ecológica

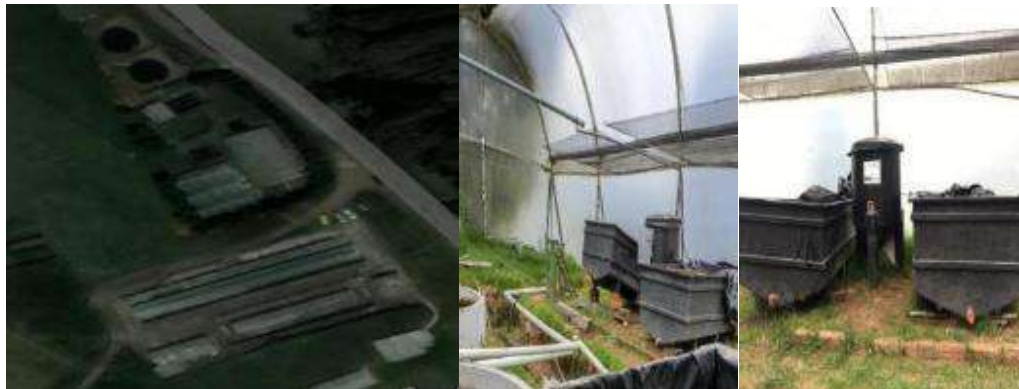
El campus de la carrera Agropecuaria IASA I se encuentran en una zona de vida Bosque Húmedo Montano Bajo a una altura de 2748 msnm, una temperatura promedio de 13,96 °C, una precipitación de 1332,72 mm y una humedad relativa promedio de 67, 91 % (Arce, 2009).

Ubicación Proyecto Piscícola (Pailones)

El proyecto acuícola se encuentra ubicada en la Hacienda “el Prado” en las coordenadas geográficas: longitud de 78°24'44"O, latitud 0°23'20"S y una altitud 2940 m.s.n.m.

Figura 5

Ubicación del experimento en el Proyecto Piscícola (Pailones)



Nota: La figura representa la ubicación y establecimiento del experimento.

(Google maps, 2022)

Materiales y Equipos

Laboratorio

- Tubos de ensayo
- Mangueras de aireación

- Botellones de 6 litros
- Tubos Falcon
- Motores de aireación
- Probetas
- Recipientes Autoclavables
- Pipetas de precisión de 10 μ L a 1000 μ L
- Mechero
- Porta y cubreobjetos
- Pinzas
- Celdas espectrofotométricas
- Luminarias

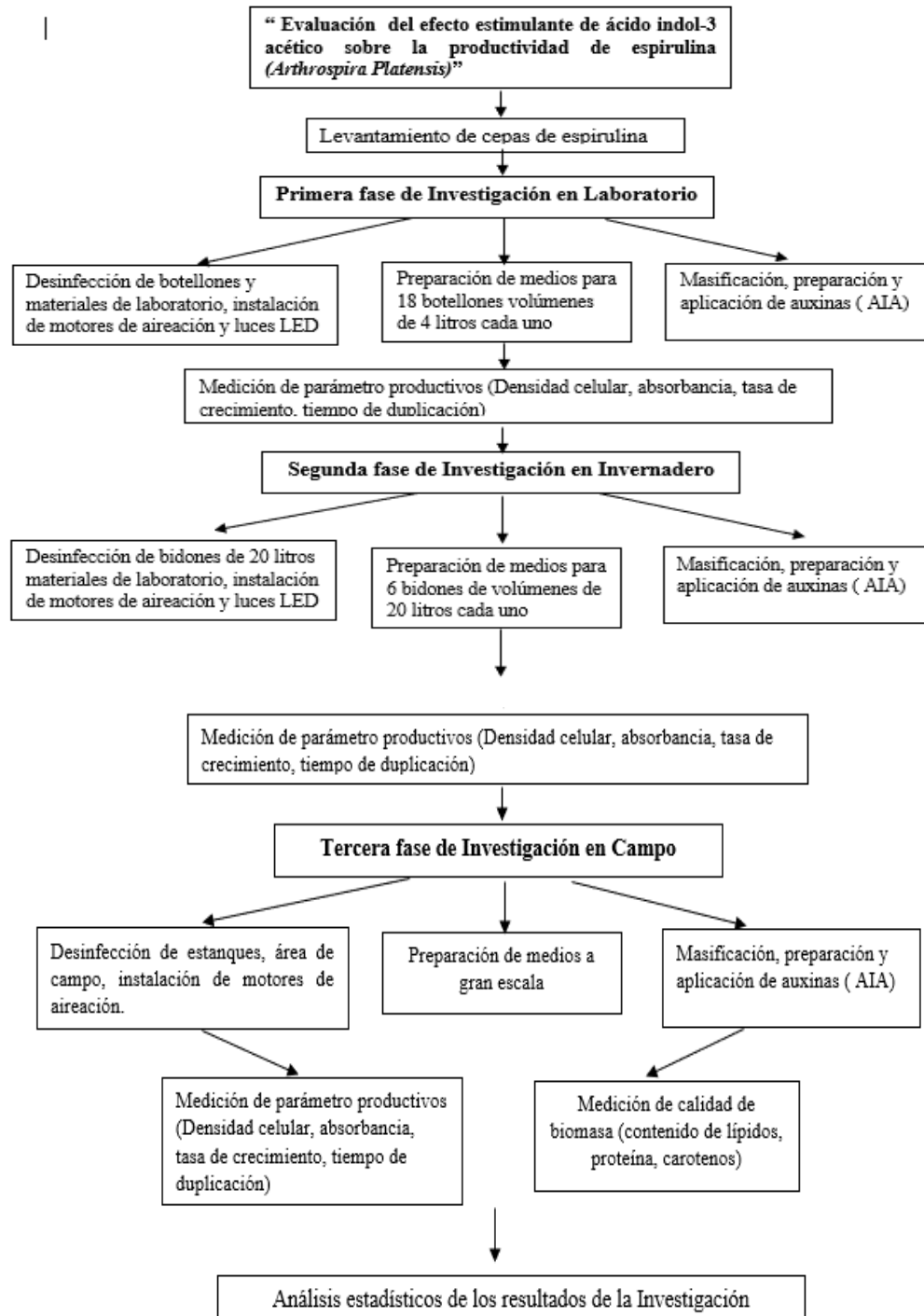
Equipos

- Microscopio óptico
- Espectrofotómetro
- Balanza electrónica
- Estufa
- pH-metro digital
- Incubadora
- Agitador (pendiente)
- Autoclave
- Cámara (pendiente)

Fase de laboratorio

Figura 6

Flujo de procesos de la investigación



Para la presente investigación se recolectó cepas de espirulina, las cuáles fueron sembradas bajo condiciones axénicas, por lo tanto, se colocaron 2 mL de inóculos de la cepa juntamente con 6 mL de medio de mantenimiento Schlosser (Tabla 3), con el fin de preservar la cepa para posteriormente realizar la masificación a gran escala (Figura 6) (Quintero, et al., 2016).

Masificación

Se lo realizó a través de un cultivo discontinuo, es decir, se inició con un volumen de inóculo de 15 mL, a una densidad de $6,1 \times 10^5$ filamentos mL^{-1} , para lo cual mediante la ecuación universal $C_1V_1= C_2V_2$, se identificó el volumen o la concentración que se requiere, por lo tanto, se estableció un volumen de 200 mL de medio para iniciar con una densidad de $2,1 \times 10^5$ filamentos mL^{-1} , una vez que llegó a una densidad de $6,8 \times 10^5$ filamentos mL^{-1} , se empleó el mismo procedimiento escalando el cultivo a una matraz de 500 mL, mediante espectrofotometría se fue evaluando la densidad celular, con el fin de reconocer el punto de cosecha y masificación, hasta que se alcanzó un volumen en botellones de 4 litros, bidones de 20 litros y finalmente estanques con un volumen de 600 litros (Figura 7).

Figura 7

Medición de parámetros ambientales, Mantenimiento de inóculos de espirulina, Preparación de medios de masificación fase de Laboratorio

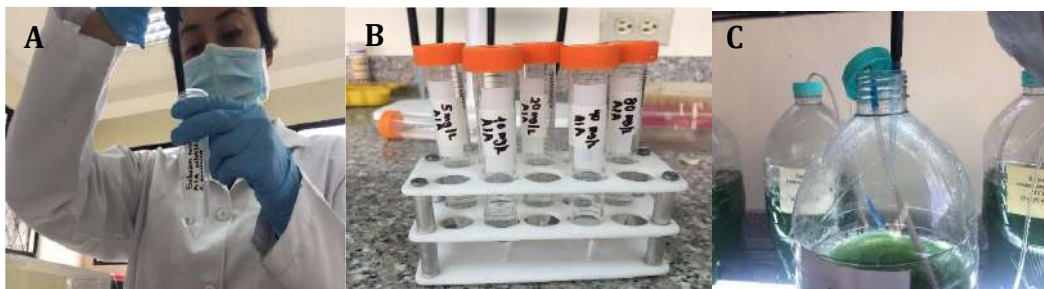


Preparación y aplicación de ácido indol 3- acético

Se inició con la aplicación de 20 mg/L de ácido indol 3-acético (AIA) y 20 mg/L de etanol absoluto, purificado mediante un filtro 0,22 μ M, hasta obtener una solución madre de ácido indol 3-acético 1000 mg/L, a continuación, se procedió a preparar las diferentes dosis requeridas de AIA. Se aplicó en la primera fase del experimento según la disposición del diseño experimental un mL de AIA en un volumen de 4 litros, con el fin de evitar daños en el crecimiento de espirulina. La aplicación de AIA se la realizó a los 15 días de haber implementado el cultivo, con una absorbancia de 0,4. Una vez hallada la dosis óptima se aplicó en la segunda fase 5 ml de AIA y en la tercera fase de investigación 148, 5 mL (Figura 8).

Figura 8

Elaboración de la solución madre AIA, Preparación de dosis de AIA, Aplicación de AIA según el diseño experimental



Diseño de la fase de laboratorio

Para la primera fase de laboratorio las unidades experimentales evaluadas fueron 18, los recipientes de plásticos con una capacidad de 4 litros corresponden a cada unidad experimental. Para la segunda fase se empleó estadística descriptiva en la cual se ocuparon dos bidones de 20 litros y para la tercera fase dos estanques de 600 litros.

Parámetros productivos

La productividad de la espirulina se midió tomando una muestra cada tres días, para evaluar la absorbancia y densidad celular, además durante la segunda y tercera fase se midieron factores como pH y temperatura (Figura 8).

Absorbancia

Para identificar el crecimiento celular se determinó de la densidad óptica, misma que se realizó mediante el empleo del espectrofotómetro GENESYS TM 10S, a una longitud de onda de 540 nm, previamente calibrado con agua pura.

Densidad celular

Para la valoración de la densidad celular se realizó un conteo de filamentos cada tres días, con un promedio en base a tres muestras, mediante el uso del microscopio a una dilución de 1:10.

$$DC \text{ inóculo} = \frac{N \times 10^3}{10} \times FD$$

DC _{inóculo}: Densidad celular

N: Promedio de células presentes

10³: Factor de conversión de 10 µ L a 1 mL

FD: Factor de dilución

Figura 9

Preparación de tres placas para cada tratamiento, Medición de la absorbancia, Conteo Celular, Observación de espirulina (10x) mediante el empleo del microscopio



Velocidad de crecimiento

Una vez finalizada la experimentación se aplicó la fórmula en base a los datos de densidad celular correspondientes a cada ensayo (Arredondo & Voltolina, 2007).

$$u = \frac{\ln x_1 - \ln x_0}{t_1 - t_0}$$

μ : Velocidad de crecimiento

$t_1 - t_0$: tiempo final e inicial

X_1, X_0 : densidad celular final e inicial en fase logarítmica

Tiempo de duplicación

$$T_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

T_d : Tiempo de duplicación

\ln : Logaritmo natural

μ : velocidad de crecimiento (filamentos horas)

Parámetros ambientales

Potencial de Hidrógeno pH y Temperatura

Se midió mediante el empleo de un pH-metro digital cada tres días para ello se colocó el cultivo en vasos de precipitación de un volumen de alrededor de 10 mL con el fin de evitar contaminaciones o una mezcla de cepas. El mismo equipo mide lo que la temperatura en °C segundo parámetro tomado del mismo modo que el pH (Figura 6).

Cosecha de Biomasa

Cuando el cultivo llegó a la última fase, primero se pesaron las cajas Petri vacías, una vez realizada la cosecha se midió el peso húmedo, para posteriormente receptor el peso seco por diferencia. Para el secado se colocó en la estufa durante 24 horas a una temperatura bajo 36 °C (Figura 10)

Figura 10

Muestras de biomasa seca, Cosecha de espirulina en el área de Pailones, Cosecha en el área de invernadero, Cosecha en el área de laboratorio



Calidad de la biomasa producida

Para la evaluación de la calidad de biomasa se tomaron muestras al final del ensayo con el fin de identificar el contenido de proteína, lípidos y clorofila con las siguientes fórmulas (Sandoval, 2017).

Contenido de proteína

Para la correcta determinación de la proteína se empleó el método de Kjeldahl

$$\% N = \frac{14 * N * V * 100}{M * 1000}$$

Donde:

N= Normalidad

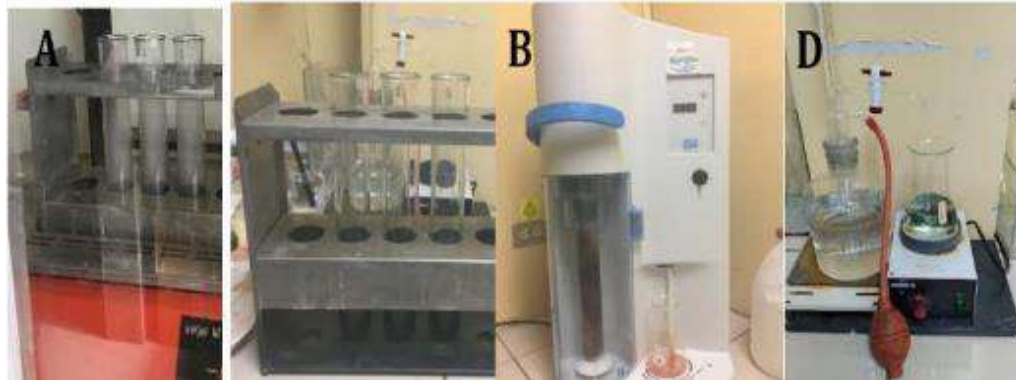
V= Cantidad de titulación empleada (HCl 0,1 N)

m= Volumen de la muestra en gramos

$$\% \text{Proteína} = N * Factor$$

Según INEN (1980) se deberá multiplicar por 6,25 con el fin de obtener el porcentaje de proteína.

- Para lograr determinar el porcentaje de proteína se procedió a tomar 1,5 g de muestra de cada tratamiento de biomasa junto a una tableta catalizadora y 15 mL de ácido sulfúrico en los tubos de Kjeldahl, dando inicio al procedimiento llamado digestión mediante la manta calefactora durante una hora y 30 minutos.
- Posterior a este proceso se prosiguió con la destilación, se la realizó conectando los tubos (anteriormente se colocó 75 mL de agua destilada) al equipo previamente calibrado y al otro extremo un matraz de 250 mL (previamente con 30 mL de ácido bórico y 2 gotas de solución indicadora), una vez encendido el equipo se la empleó durante 5 minutos.
- Finalmente se procede al proceso de titulación midiendo el volumen de ácido clorhídrico empleado hasta el momento exacto que toma una coloración rosada (Figura 10).

Figura 11*Digestión, Filtración, Titulación***Contenido de lípidos**

Para identificar el contenido de lípidos se le realizó una extracción mediante el método gravimétrico con la siguiente ecuación

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{B2 - B1}{m} * 100$$

Donde**B1** = Peso del balón inicial**B2**= Peso del balón con muestra final**m**= Peso de la muestra

- Para determinar el porcentaje de lípidos se inició pesando los balones con las esferas, posteriormente se pesó 3 g de las muestras de biomasa de espirulina en un dedal de papel filtro.
- Una vez armado el sistema de Soxhlet agregando 120 mL de etanol, se esperó hasta que realice 4 sifonadas y se retiró el dedal de la muestra recopilando la grasa de cada balón, posteriormente se dejaron los balones en la estufa durante 24 horas a una temperatura de 80 °C , se tomaron los datos correspondientes y se colocaron en la ecuación correspondiente (Figura 11).

Figura 12

Determinación de lípidos mediante el método de Soxhlet



Contenido de carotenos

Para la medición de clorofila alfa y beta se emplearán las siguientes ecuaciones (Miazek & Ledakowicz, 2013):

$$\text{Clorofila } \alpha \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = 16,72 * A_{665} - 9,16 * A_{652}$$

$$\text{Clorofila } \beta \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = 39,04 * A_{652} - 15,28 * A_{665}$$

Para determinar los carotenos se empleó la siguiente ecuación (Auz, 2019):

$$\text{Caroteno} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{A_{480} * \text{Vol Extracto}}{\text{Volumen de la muestra}}$$

- Se tomó 0,01 g de la muestra de peso seco de espirulina, para colocarlos en tubos de ensayo de 15 mL, añadiendo metanol en cada tubo un volumen de 10 mL, se los cubrió de papel aluminio durante 24 horas a temperatura ambiente con el fin de que se encuentren las muestras en ausencia de luz. Una vez que cumplió con el tiempo determinado se mide en el espectrofotómetro a 665, 652 y 480 nm.

Fase de campo

La segunda fase se realizó con dos bidones de 20 litros bajo un invernadero de vidrio el cual se encuentra a una temperatura de 26,99 °C y finalmente la última fase se realizó en el proyecto Piscícola Pailones con una temperatura media de 13,98 °C. Se emplearon dos estanques con un volumen de 600 litros, Uno estará tratada con la dosis óptima de AIA y el segundo es será el tratamiento testigo (Figura 12).

Figura 13

Implementación de la segunda fase, Implementación de la tercera fase de experimentación y Cultivo de espirulina con un volumen de 600 litros



Para la implementación de la tercera fase experimental se procedió a realizar una purificación del agua con el uso de filtros con el fin de eliminar cuerpos extraños. Luego se procedió a purificar el agua con el empleo de cloro doméstico, para lo cual se aplicó de 4 a 5 gotas en cada estanque en un período de 72 horas cubierto con un plástico negro. Durante la noche se dejó un espacio retirando parte del plástico de cada estanque con el fin de que el cloro se evaporado correctamente. Una vez purificada el agua se realizó medio de masificación en bidones de 20 litros para cada estanque. Para la aclimatación del cultivo se colocaron los recipientes con las cepas de espirulina dentro de cada estanque con el fin de que el inóculo tenga la misma temperatura del medio y finalmente se sembró la espirulina vertiendo el inóculo en cada estanque (Figura 14).

Figura 14

Preparación de medio de masificación, Aclimatación de cultivo, Siembra e implementación del cultivo de espirulina

**Diseño experimental (fase laboratorio)**

El experimento en la fase de laboratorio se va disponer según el diseño completo al azar como se observa en la figura 5 mediante el modelo lineal activo (Condo & Pazmiño, 2015).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde

Y_{ij} = valor estimado de la variable

μ = media general

τ = efecto del tratamiento T1, T2, ..., T_{avo}

ϵ = error experimental

Descripción de tratamientos para la experimentación

Se aplicaron tratamientos en la fase de laboratorio en donde cada tratamiento dispondrá de tres repeticiones siendo un total de 18 unidades experimentales (Tabla 5).

Tabla 5

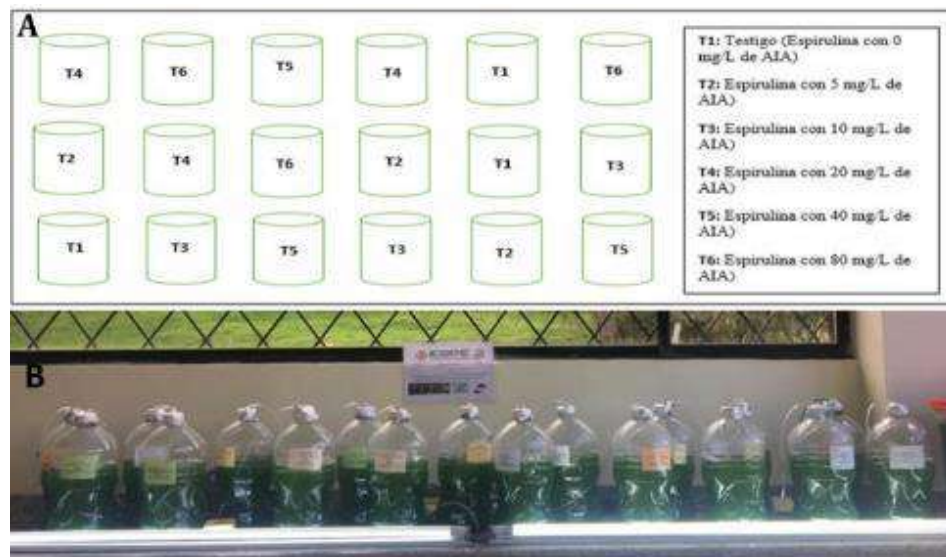
Distribución de los tratamientos en laboratorio

Descripción	Tratamiento
Testigo (0 mg/L de auxinas AIA - Acetil indol 3-acético)	T1
	T1
	T1
Espirulina con 5 mg/L de auxina AIA (Acetil indol 3-acético)	T2
	T2
	T2
Espirulina con 10 mg/L de auxina AIA (Acetil indol 3-acético)	T3
	T3
	T3
Espirulina con 20 mg/L de auxina AIA (Acetil indol 3-acético)	T4
	T4
	T4
Espirulina con 40 mg/L de auxina AIA (Acetil indol 3-acético)	T5
	T5
	T5
Espirulina con 80 mg/L de auxina AIA (Acetil indol 3-acético)	T6
	T6
	T6

Croquis fase experimental de laboratorio

Figura 15

Croquis diseño experimental de laboratorio, Implementación del experimento fase de Laboratorio



Análisis Estadístico

Las variables fueron analizaron con las medidas como media, desviación estándar y error estándar de la media, previo a la validación de datos para normalidad, homocedasticidad, se realizó un análisis de varianza ANOVA para un DCA y pruebas de comparación múltiple de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

Se evaluaron las relaciones entre las variables productivas y las dosis de AIA para lo que se empleó los modelos lineales que mejor se ajusten a los datos para la segunda y tercera fase de la investigación.

CAPÍTULO IV

Resultados

Parámetros productivos (primera fase de investigación en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*))

Densidad de celular y Absorbancia

En la presente investigación el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) a nivel de laboratorio se desarrolló bajo una temperatura de 18 °C, un pH inicial de 9,3 hasta llegar a la etapa de crecimiento exponencial con un pH de 10,2. Por lo tanto, al evaluar las variables densidad celular y absorbancia, presentaron diferencias significativas los tratamientos de 0 y 5 mg L⁻¹ con respecto a las dosis 10, 20,40 y 80 mg L⁻¹ de AIA (F=23,16; p < 0,0001).

Al tener un efecto similar estadísticamente entre las cuatro dosis de AIA sobre la productividad de espirulina, la dosis óptima es de 10 mg L⁻¹ con una densidad celular promedio de 6,95 x 10⁵ filamentos mL⁻¹ a una absorbancia de 1,413 nm a diferencia del testigo (0 mg L⁻¹) que se obtuvo una densidad celular de 6,28 x 10⁵ filamentos mL⁻¹ a una absorbancia de 1,14 nm al día 39 (Tabla 6).

Tabla 6

Ganancia de filamentos de espirulina tratados con diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ durante los 39 días de cultivo (Promedio \pm desviación estándar)

Dosis AIA (mg L⁻¹)	Absorbancias (nm)	
0	0,94 \pm 0,19	d
5	0,98 \pm 0,18	c
10	1,09 \pm 0,22	ab
20	1,06 \pm 0,21	ab
40	1,09 \pm 0,23	a
80	0,78 \pm 0,21	b

Nota: Medias en las mismas columnas con una letra en común no difieren estadísticamente (Tukey; $p > 0,05$)

Tabla 7

Promedio \pm desviación estándar del crecimiento celular y la absorbancia de tratamientos 10 mg L durante los 39 días

Días	Densidad Celular (filamentos mL⁻¹)	Absorbancia (nm)
0	20333,33 \pm 577,35	0,14 \pm 0,02
3	30000,00 \pm 2000,00	0,20 \pm 0,00
6	49333,33 \pm 1527,53	0,29 \pm 0,03
9	59333,33 \pm 2309,40	0,37 \pm 0,01
12	82333,33 \pm 3511,88	0,42 \pm 0,00
15	96333,33 \pm 4932,88	0,722 \pm 0,01
18	146333,33 \pm 26407,07	0,86 \pm 0,03
21	274333,33 \pm 14433,76	0,95 \pm 0,01
24	411666,67 \pm 13868,43	1,02 \pm 0,04
27	492000,00 \pm 19697,72	1,10 \pm 0,04
30	562000,00 \pm 21166,01	1,16 \pm 0,06
33	601333,33 \pm 6350,85	1,16 \pm 0,06
36	648333,33 \pm 4163,33	1,34 \pm 0,06
39	700666,67 \pm 12423,10	1,41 \pm 0,03

Las variables densidad celular y absorbancia aumentan con respecto al tiempo, se evidencia diferencias significativas a partir del día 21 ($F=1210$ $p < 0,0001$). El comportamiento de la densidad celular pese a no ser estadísticamente diferente, se observa que al día 27 hay mayor crecimiento para la dosis de 40 mg L^{-1} . Durante el día 33, el crecimiento empieza a descender teniendo un desarrollo similar a los otros tratamientos ($5, 10, 20$ y 80 mg L^{-1}), presentando así un comportamiento positivo de las variables evaluadas tras la aplicación de AIA (Figura 16 y 17).

Figura 16

Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).

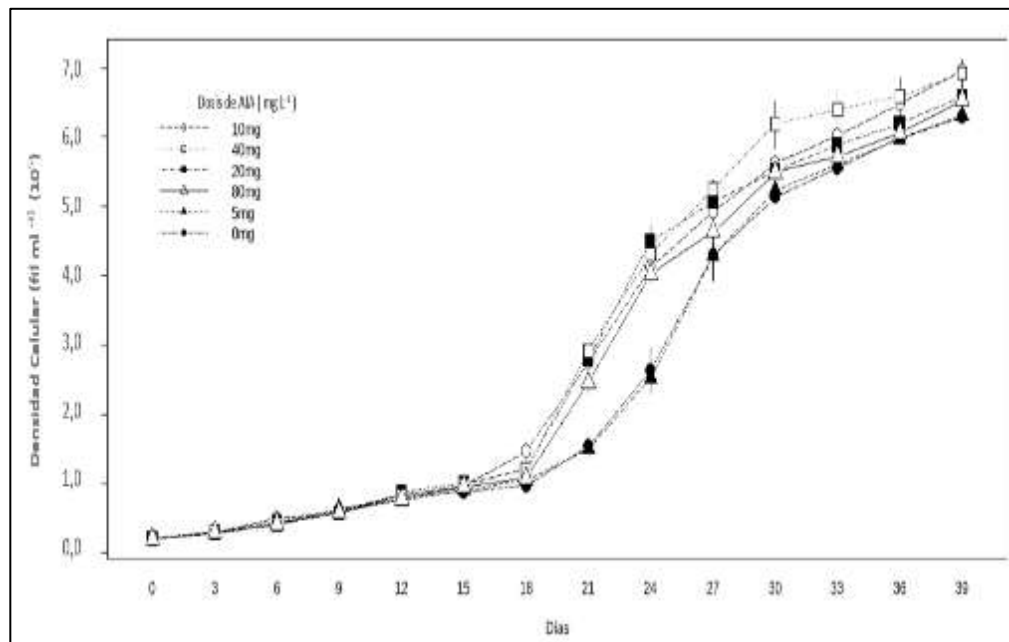
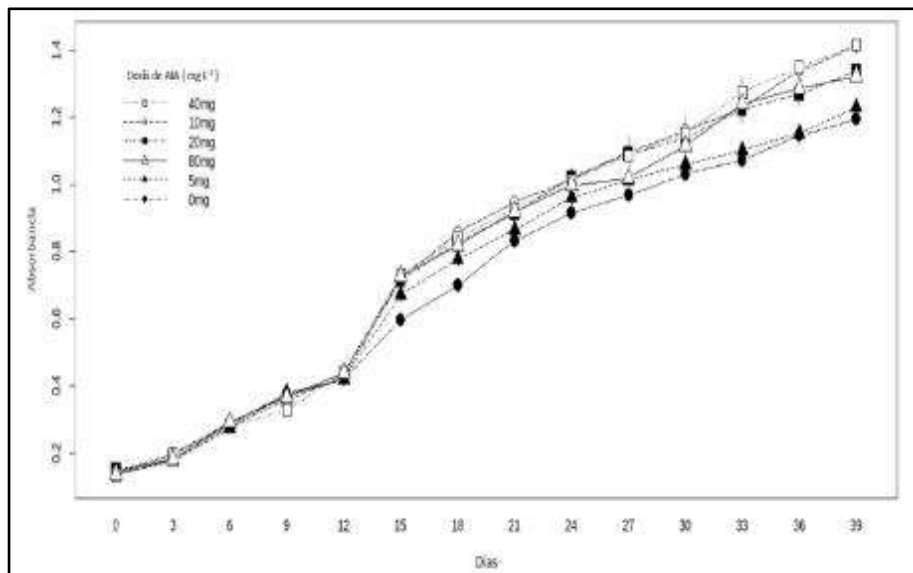


Figura 17

Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).



Cinética de crecimiento de cultivo de espirulina (Arthrospira platensis)

Velocidad de crecimiento y tasa de duplicación

En la cinética de crecimiento del cultivo de espirulina no hay diferencias significativas entre los tratamientos de AIA, pese a existir en las dosis 10 y 40 mg L⁻¹ un incremento en la velocidad de crecimiento (μ). Además, se puede evidenciar que en la fase de laboratorio el tiempo de duplicación (Td) de la espirulina tiene el mismo comportamiento (Tabla 8).

Tabla 8

*Promedio \pm desviación estándar de la velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación de las diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ sobre el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*).*

Dosis AIA (mg L⁻¹)	Velocidad de crecimiento (μ) (filamentos h⁻¹) x 10³	Tiempo de duplicación (Td) (h)
0	0,0903 \pm 0,0012	7,677 \pm 0,071
5	0,0900 \pm 0,0017	7,706 \pm 0,137
10	0,0930 \pm 0,0010	7,457 \pm 0,067
20	0,0907 \pm 0,0012	7,646 \pm 0,114
40	0,0927 \pm 0,0021	7,470 \pm 0,143
80	0,0907 \pm 0,0015	7,662 \pm 0,137
p-valor	0,0903	0,0438

Parámetros productivos (segunda y tercera fase de investigación en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*))

Densidad de celular y Absorbancia

En la fase experimental instalada en el invernadero de vidrio del área administrativa, se determinó un crecimiento positivo de la densidad celular, en donde el tratamiento de auxina AIA de 10 mg L⁻¹ fue mayor comparado con el testigo (0 mg L⁻¹ AIA). El mismo comportamiento se evidenció en el cultivo situado en la fase de campo bajo invernadero de polietileno a una altitud de 3000 msnm (zona de pailones) (Tabla 9)

Tabla 9

Promedio \pm desviación estándar de la densidad celular y absorbancia de las diferentes dosis de AIA mg L⁻¹ sobre el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).

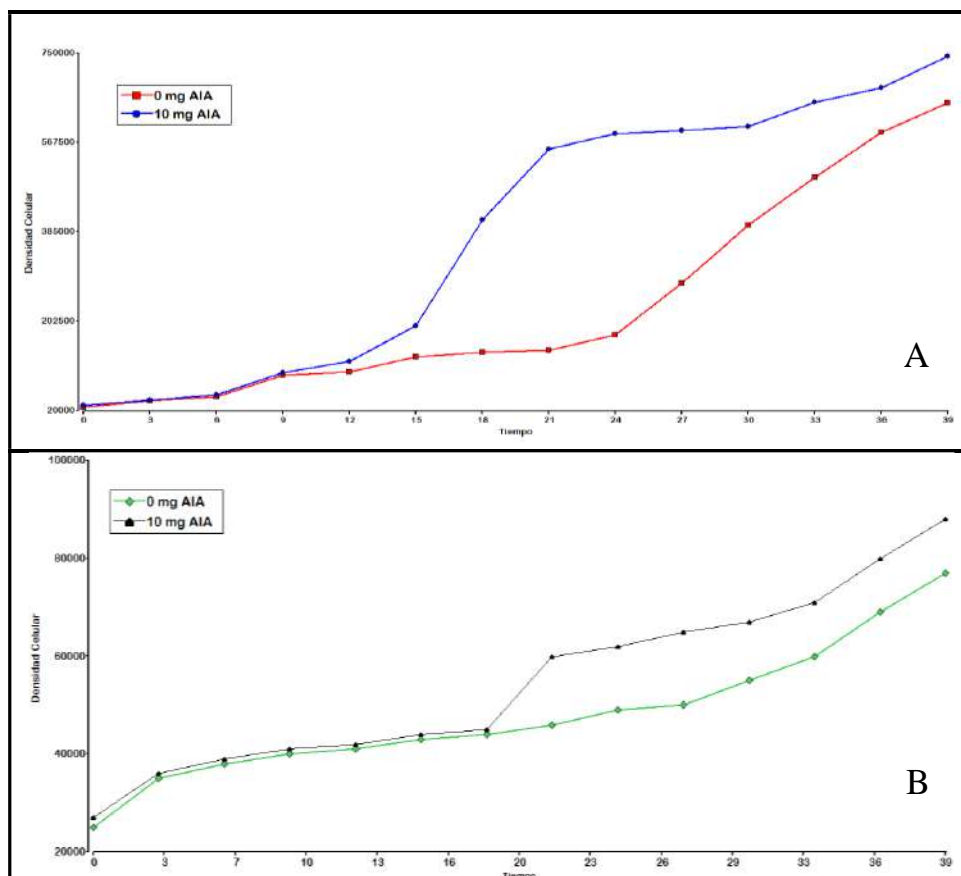
Dosis AIA (mg L ⁻¹)	Lugar	Densidad Celular (filamentos día ⁻¹)	Absorbancia
0	Invernadero	a 309400,00 \pm 207299,14	b 0,85 \pm 0,24
10	Invernadero	a 512500,00 \pm 207262,72	a 1,09 \pm 0,28
0	Pailones	b 53400,00 \pm 11936,87	b 0,33 \pm 0,05
10	Pailones	b 62400,00 \pm 15385,42	a 0,36 \pm 0,05

Nota: Medias en las mismas columnas con una letra en común no difieren estadísticamente (Tukey; $p > 0,05$)

El tratamiento de 10 mg L⁻¹ de AIA inició con una densidad celular de $3,1 \times 10^4$ filamentos día⁻¹, hasta finalmente llegar a $7,43 \times 10^5$ filamentos día⁻¹, mientras que el tratamiento testigo inició con una densidad celular de $2,9 \times 10^4$ filamentos día⁻¹, hasta llegar a $6,48 \times 10^5$ filamentos día⁻¹ al día 39 en que se finalizó el ensayo en el invernadero de polietileno. Con respecto al tiempo a partir del día 15, mediante el análisis de varianza se evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($F=13,10$; $p < 0,003$) (Figura 18). Para el caso de la experimentación en el área de Pailones durante los 39 días de evaluación se identificó un crecimiento lento, la densidad celular para el tratamiento de 10 mg L⁻¹ de AIA, inició con $2,7 \times 10^4$ filamentos día⁻¹ hasta alcanzar los $8,8 \times 10^4$ filamentos día⁻¹ mientras que el testigo inició $2,5 \times 10^4$ filamentos día⁻¹ finalizando con $7,7 \times 10^4$ filamentos día⁻¹. Se determinaron diferencias significativas en el comportamiento de los tratamientos a partir del día 20 ($F=18,13$; $p < 0,0009$) (Figura 18).

Figura 18

Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*), Invernadero, Pailones.



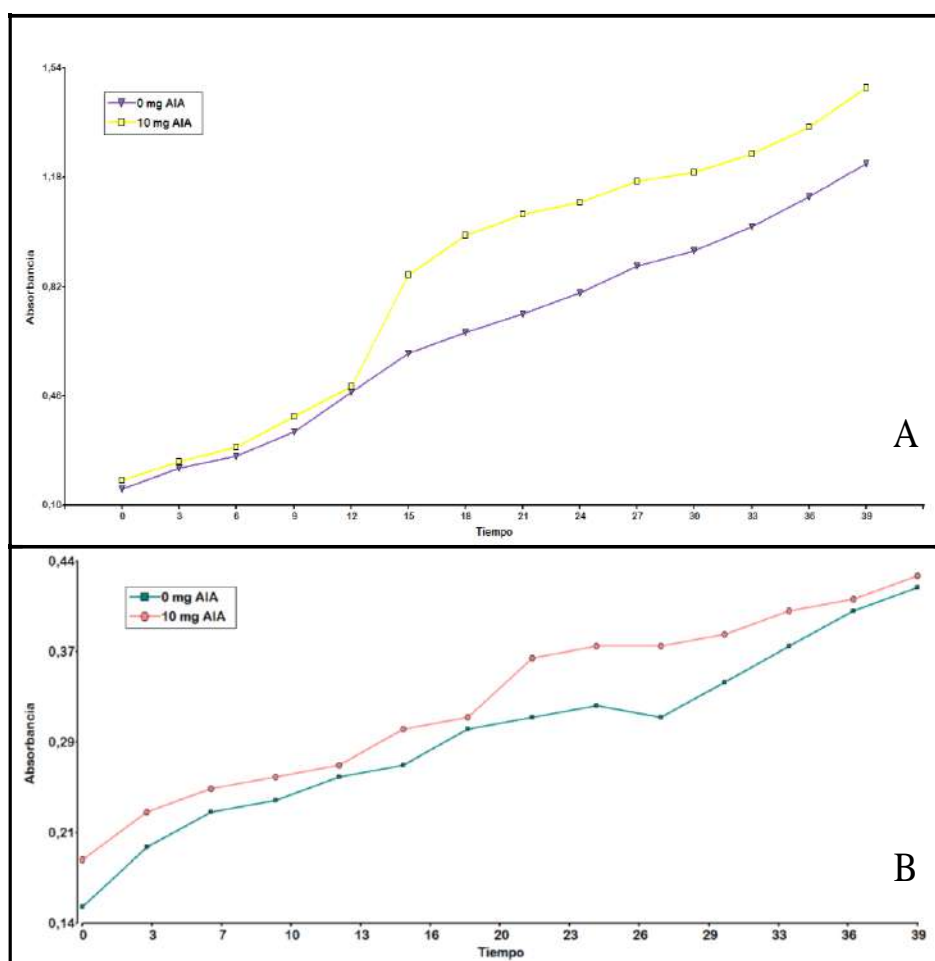
Del mismo modo la absorbancia inició con 0,150 nm para el testigo y 0,180 nm para el tratamiento de AIA de 10 mg L⁻¹, hasta finalizar a los 39 días con 1,230 y 1,480 nm respectivamente bajo el invernadero de polietileno. La absorbancia presentó diferencias entre tratamientos a partir del día 15 (F=31,63; p < 0,0001).

En el área de Pailones se sembró el inóculo de espirulina a una absorbancia de 0,150 nm para el testigo y 0,185 nm el tratamiento de 10 mg L⁻¹ de AIA, hasta alcanzar 0,419 y 0,431 nm. Presentan diferencias

significativas a partir del día 23 y desciende su crecimiento al día 36 entre los dos tratamientos ($F=37,84$; $p < 0,0001$) (Figura 18).

Figura 19

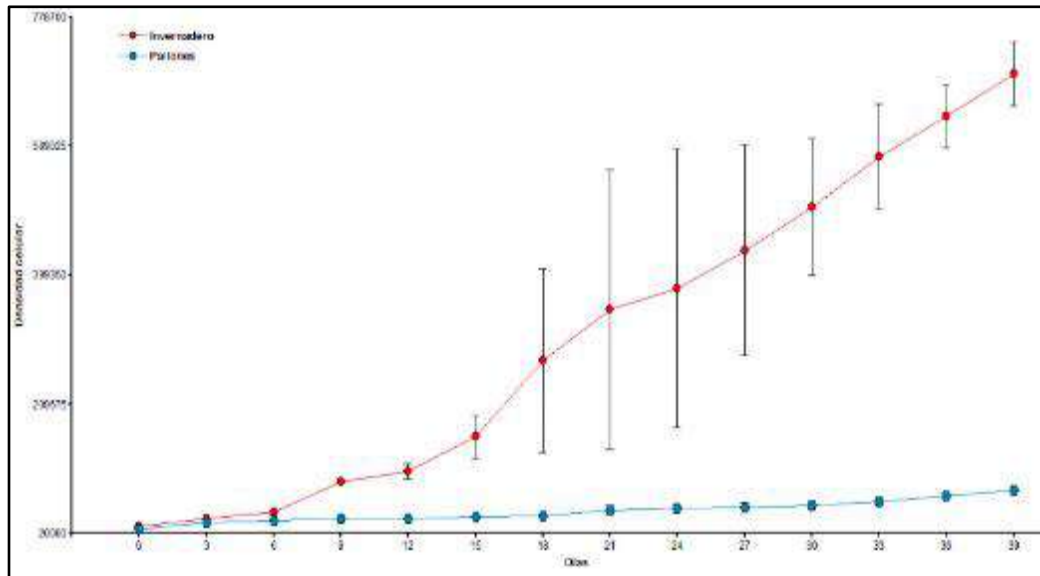
Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo y el efecto de AIA en el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis), Invernadero, Pailones.



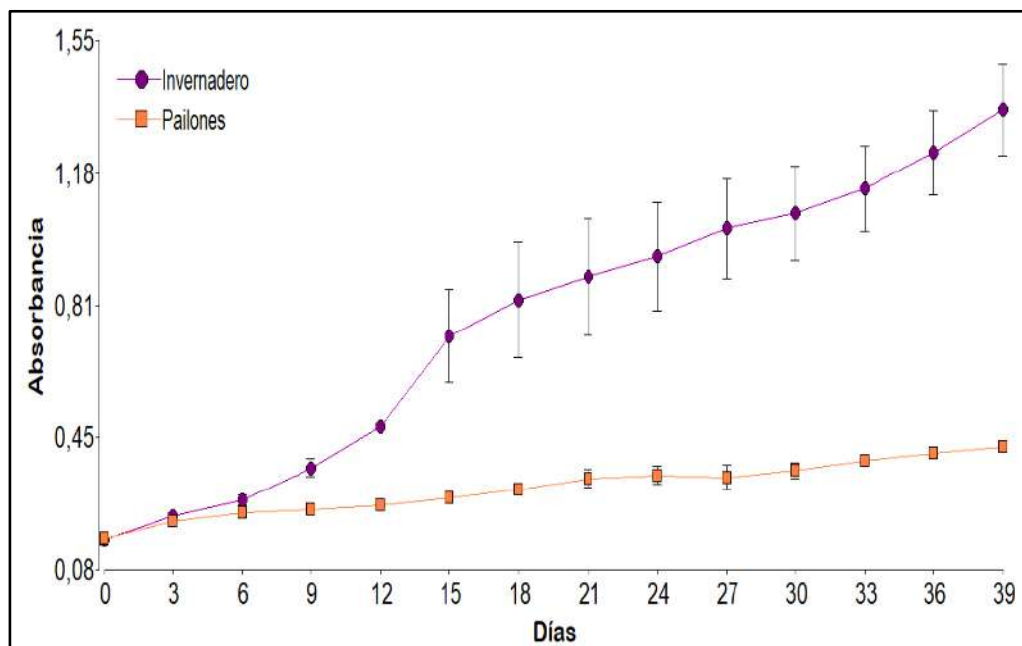
Evidentemente existen diferencias significativas con respecto a la variable lugar ($F=44,55$, $76,18$ $p < 0,0001$). En este sentido se determinó que el desarrollo de espirulina bajo invernadero de vidrio fue mayor con respecto al invernadero de polietileno en el área de Pailones para la variable densidad celular como absorbancia (Figuras 20 y 21)

Figura 20

Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) bajo invernadero y área de Pailones.

**Figura 21**

Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) bajo invernadero y área de Pailones



Cinética de crecimiento de cultivo de espirulina (Arthrospira platensis)

Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación

En cuanto a la velocidad de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (T_d) se identificó mediante un análisis de varianza que los tratamientos testigo (0 mg L^{-1}) y la dosis 10 mg L^{-1} de AIA son similares ($F=20,25$, $p < 0,139$; $F=0,99$, $p < 0,507$). Sin embargo, con respecto al lugar se identificó diferencias significativas, en el cuál mediante una prueba de Tukey, se determinó que hubo mayor crecimiento de espirulina bajo el invernadero de vidrio con respecto al invernadero del área de Pailones ($F=1729,3$, $p < 0,005$; $F=672,4$, $p < 0,025$) (Tabla 10).

Tabla 10

Promedio \pm desviación estándar de la velocidad de crecimiento y el tiempo de duplicación de las diferentes dosis de AIA mg L^{-1} sobre el crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis).

Dosis AIA (mg L^{-1})	Lugar		Velocidad de crecimiento (μ) (filamentos h^{-1}) x 10^3	Tiempo de duplicación (T_d) (h)
0	Invernadero	a	0,0818	8,479
10	Invernadero	a	0,0840	8,291
0	Pailones	b	0,0296	23,41
10	Pailones	b	0,0310	22,29

Parámetros ambientales

Temperatura

Dentro de los principales factores ambientales el comportamiento de la temperatura máxima bajo invernadero de vidrio en la zona administrativa fue de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, con una mínima de $16 \text{ }^\circ\text{C}$, y una media de $26,99 \text{ }^\circ\text{C}$, en este sentido, en el área de Pailones la temperatura mínima fue de $5,8 \text{ }^\circ\text{C}$ y una máxima de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ con una media de $13,78 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 22).

La variable lugar presentó diferencias significativas ($F=58,16$, $p < 0,0001$). En donde la temperatura en el invernadero de vidrio fue mayor a la del invernadero de polietileno en la zona de Pailones. Del mismo modo la temperatura del tratamiento de 10 mg L^{-1} de AIA fue mayor a diferencia del testigo ($F=5,79$; $p < 0,0196$).

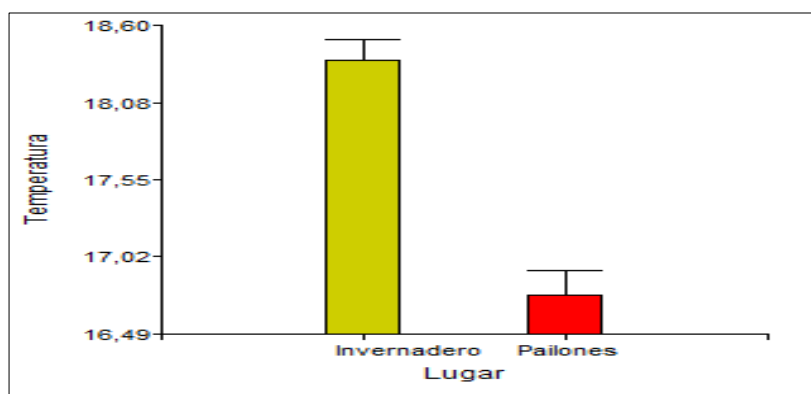
Tabla 11

Promedio de la temperatura con respecto al lugar

Lugar	Media	Mínima	Máxima
Pailones	13,78	5,8	30
Invernadero	26,99	16	40

Figura 22

Promedio de crecimiento \pm desviación estándar de la temperatura con respecto al lugar área de Invernadero y Pailones



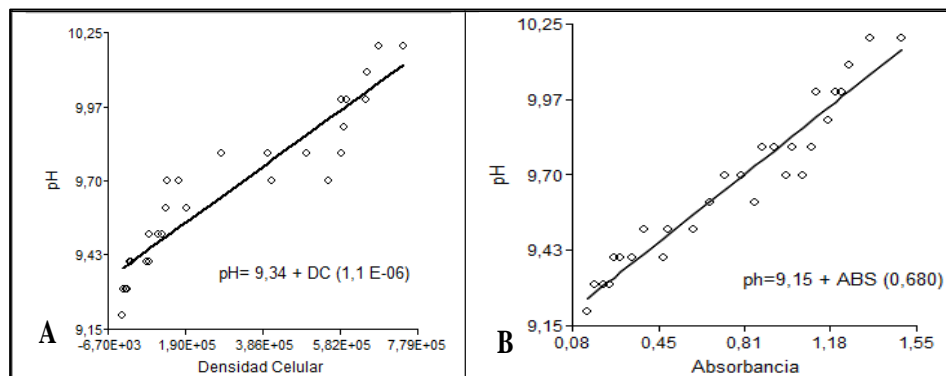
Potencial de hidrógeno pH

El comportamiento del pH bajo el invernadero de vidrio presentó una correlación positiva ($R=0,87$; $p > 0,001$, $T=12,93$) entre el pH y la densidad celular, por lo que se ajusta a una regresión lineal mediante el siguiente modelo matemático $pH = 9,34 + DC (1,1 e - 06)$ ($F=0,87$; $p > 0,001$), es decir, por cada densidad celular, va ganando $1,1 \times 10^{-6}$ de pH.

De igual manera se identificó que el pH y absorbancia tuvieron una correlación positiva ($R=0,93$; $p > 0,001$, $T=19,20$), ajustándose al siguiente modelo matemático $pH = 9,15 + ABS (0,680)$ ($F=0,87$; $p > 0,001$).

Figura 23

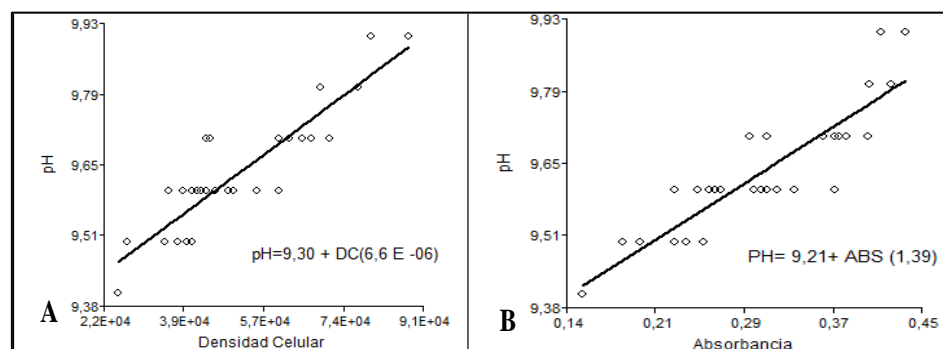
Correlación positiva entre el Ph y densidad celular, Correlación positiva entre el Ph y absorbancia bajo invernadero



En el área de pailones del mismo modo se presentó una correlación positiva entre el pH y la densidad celular ($T= 10,21$, $R=0,80$ $p > 0,001$), ajustándose al modelo matemático $pH = 9,30 + DC (6,6 e - 06)$. Existe también una correlación positiva entre el pH y la absorbancia ($T=9,57$, $R=0,78$, $p > 0001$), con el siguiente modelo matemático $pH = 9,21 + ABS (1,39)$ ($F= 9,57$, $p > 0,001$) .

Figura 24

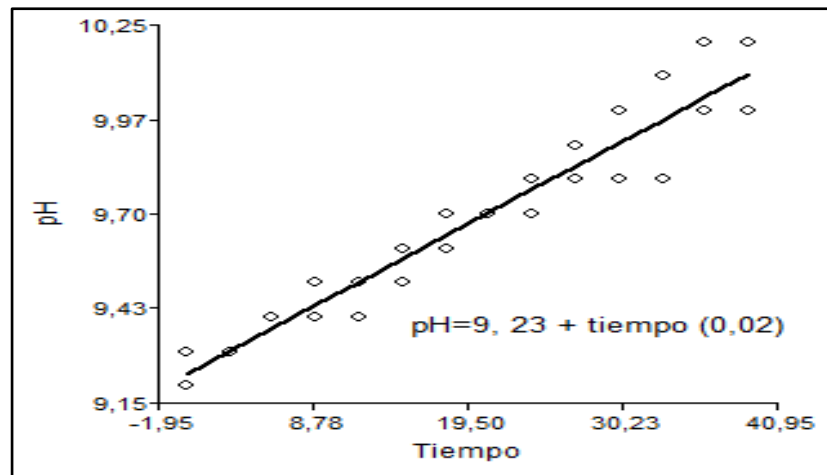
Correlación positiva entre el Ph y densidad celular, Correlación positiva entre el Ph y absorbancia en el área de Pailones



Con respecto al tiempo y pH existe una correlación positiva en el área de invernadero de vidrio ($T=18,33$, $R=0,93$, $p > 0,001$), con el modelo matemático $pH = 9,23 + Tiempo (0,02)$ (Figura 25).

Figura 25

Correlación positiva entre el Ph y el tiempo bajo invernadero

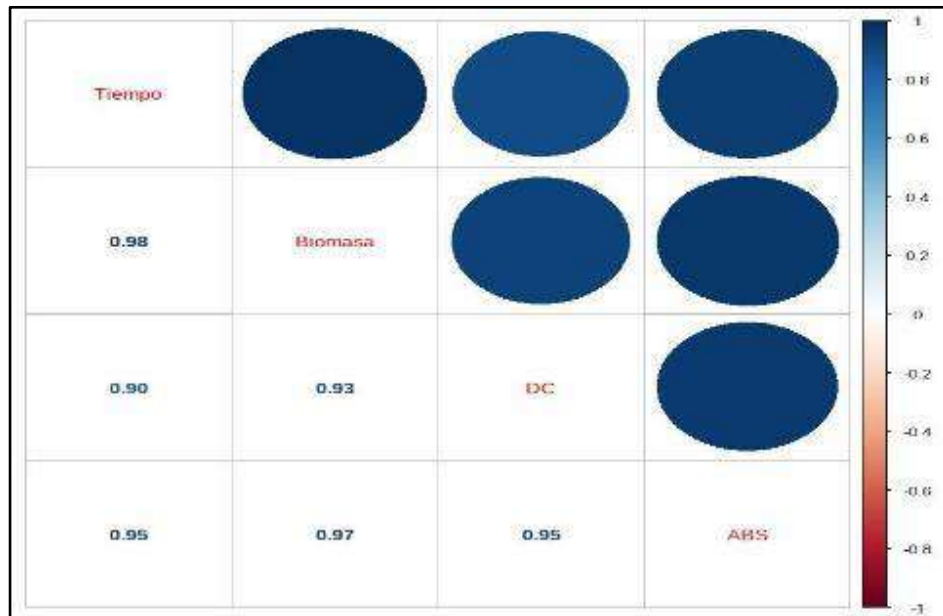


Producción de Biomasa

Otro aspecto importante es la producción de biomasa presenta correlaciones positivas con respecto al tiempo, densidad celular y absorbancia (figura 26). Las correlaciones positiva más altas fueron para la biomasa con respecto al tiempo y absorbancia. Se ajustaron a los siguientes modelos matemáticos $Biomasa = 0,06 + Tiempo (0,02)$ ($T= 26,82$; $p > 0,0001$) y $Biomasa = -0,01 + ABS (0,61)$ ($T= 19,66$; $p > 0,0001$).

Figura 26

Correlaciones entre las variables tiempo, biomasa, densidad celular (DC) y absorbancia (ABS) en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) dentro del invernadero.

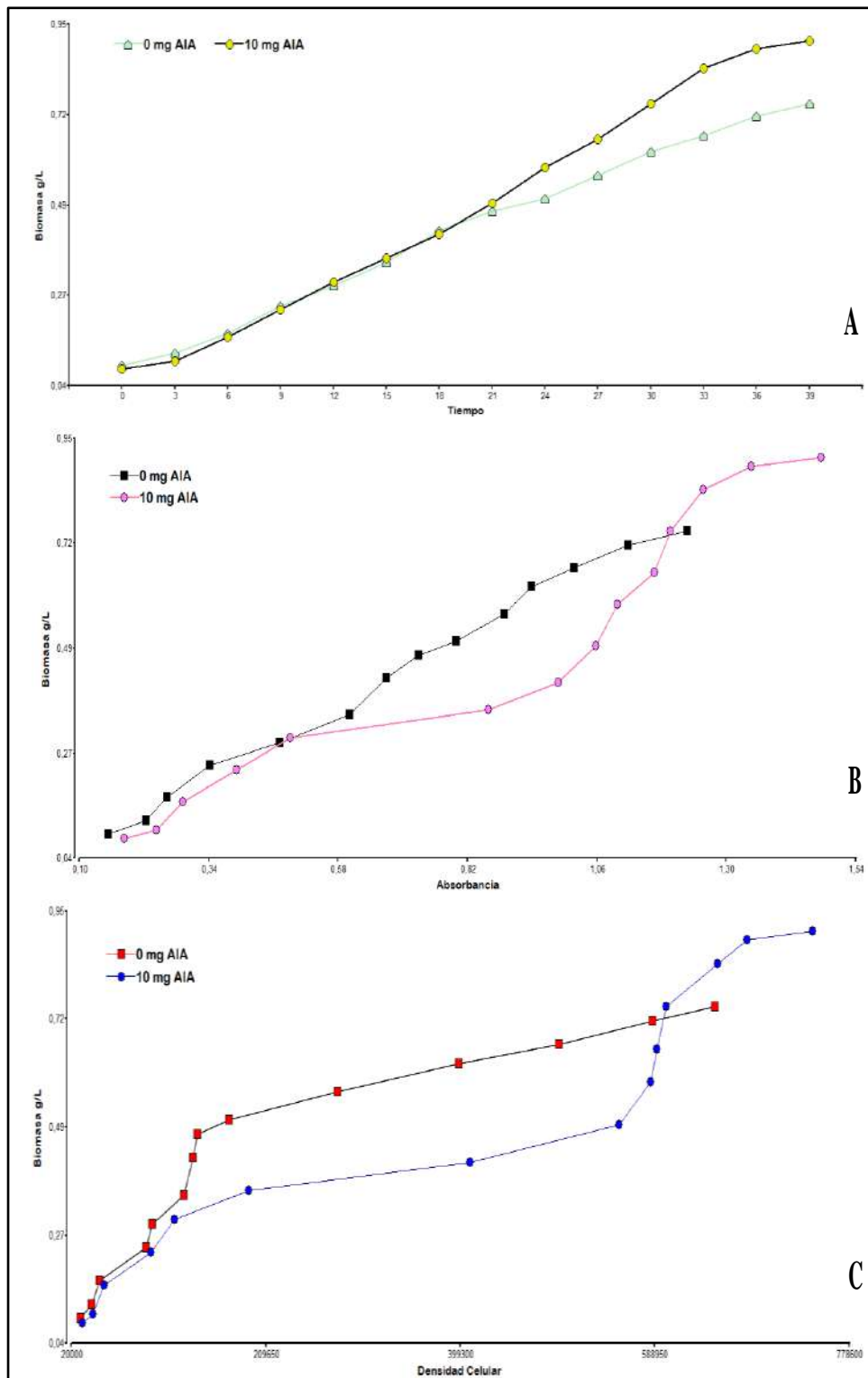


La biomasa con respecto a los tratamientos 0 y 10 mg L⁻¹ de AIA presentaron diferencias significativas en el área de invernadero de vidrio (F=7,72, p < 0,0157). El tratamiento de 10 mg L⁻¹ fue mayor con una absorbancia de 1,48 nm a una densidad celular de 7,43 x 10⁵ filamentos mL⁻¹ de, se obtuvo 0,91 g L⁻¹, a diferencia del testigo (0 mg L⁻¹) que presentó una absorbancia de 1,23 nm a una densidad celular de 6,48 x 10⁵, con 0,71 g L⁻¹ durante los 39 días de investigación.

La biomasa tratada con auxinas a una dosis de 10 mg L⁻¹ de AIA a partir del día 21, presentó un incremento del peso seco, a partir de un valor promedio de 0,580 nm de absorbancia y 2,0 x 10⁴ filamentos mL⁻¹ de la densidad celular comparado con el tratamiento control hasta finalizar el estudio. Por lo tanto, se puede afirmar que con el incremento de tiempo el crecimiento de biomasa, densidad celular y absorbancia van aumentando (figura 27).

Figura 27

Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) dentro del invernadero.



Calidad de Biomasa de espirulina (*Arthrospira platensis*)

Dentro del aspecto nutricional la calidad de biomasa es muy importante a nivel industrial, por lo tanto, una vez finalizada la investigación, se evaluó el peso seco alcanzado de espirulina, el cual fue tratado con auxinas a una dosis de 10 mg L⁻¹ de AIA. En este sentido se obtuvo como resultado un mayor porcentaje de proteína con un valor de 30,61%, la misma que fue obtenida mediante el método de Kjendahl. El porcentaje de grasas se evaluó bajo la prueba de Soxhlet, lo cual dio como resultado que la espirulina tratada (10 mg L⁻¹ de AIA) tiene 6,02 % de grasa. Finalmente posee altos niveles de clorofila de tipo a con un valor de 18,425 mg g⁻¹ y 10,6 mg g⁻¹ de carotenos los cuáles se obtuvieron a través de la técnica de Miazek y Ledakowicz. Por lo tanto, se observa una mejor calidad de biomasa bajo la aplicación de auxinas en comparación tratamiento testigo (0 mg L⁻¹ de AIA) (tabla 12).

Tabla 12

*Análisis bromatológico sobre la calidad de espirulina (*Arthrospira platensis*) en el peso seco*

Dosis (mg L⁻¹)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Clorofila α	Clorofila β	Carotenos
0	25,073	4,063	16,510	3,372	9,8
10	30,610	6,02	18,425	3,991	10,6

CAPÍTULO V

Discusión

Evaluación de parámetros productivos en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) en la Densidad Celular y Peso seco

En la presente investigación se evidenció un efecto estimulante positivo de la aplicación de ácido indol-3 acético (AIA), sobre la productividad de espirulina (*Arthrospira platensis*). Se determinó el mejor rango óptimo específico para la cianobacteria estudiada, lo cual corresponde a la dosis de 10 mg L^{-1} de AIA, así pues, se identificó un incremento en el crecimiento de la densidad celular con $6,9 \times 10^5$ filamentos ml^{-1} a una absorbancia de 1,413 al día 39.

No se han reportado estudios del efecto de auxinas sobre la cianobacteria espirulina, sin embargo, en diferentes variedades de microalgas si se ha logrado evidenciar el impacto de estas hormonas vegetales. En otros estudios con respecto a los efectos de AIA, coinciden con los resultados de la investigación, afirmando un incremento en el crecimiento celular bajo el efecto de 10 mg L^{-1} de AIA, para el caso de la microalga *Nannochloropsis oceánica* con un valor promedio de $579,5 \times 10^6$ células mL^{-1} con respecto al control ($215,5 \times 10^6$ células mL^{-1}), del mismo modo se evidenció una mayor producción de biomasa de $543,75 \text{ mg L}^{-1}$ ($391, \text{ mg L}^{-1}$ tratamiento control) (Udyan & Arumugam, 2017).

Las fitohormonas contribuyen en la estimulación del crecimiento celular e incluso aportan en la biosíntesis final de las diferentes microalgas. Las dosis al igual que los tipos de hormonas vegetales irán difiriendo según le beneficie a cada especie. La microalga *Scenedesmus quadricauda* sometido a una dosis de 100 nM , determinó un aumento en la densidad celular de $293,40 \times 10^4$ células mL^{-1} , es decir, el incremento fue 2,3 veces mayor que el testigo, en el caso de la producción de biomasa la más alta fue a una dosis de 50 nM con una producción de $0,75 \text{ g/L}$, por

lo tanto, el efecto de ácido indol-3 acético es positivo en las microalgas aun con dosis mínimas siendo datos que apoyan los resultados de la presente investigación (Kozlova *et al.*, 2017)

Cinética de crecimiento de cultivo de espirulina (Arthrospira platensis)

Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación

En este sentido indudablemente las auxinas contribuyen de manera efectiva en el desarrollo de espirulina, pues, en el presente estudio se ha demostrado un incremento de la velocidad de crecimiento, pese a no presentar diferencias estadísticamente significativas. Tras la aplicación de 10 mg L⁻¹ de AIA, se obtuvo una velocidad de crecimiento de 0,0930 filamentos día⁻¹ y un tiempo de duplicación más rápido de 7,47 horas día⁻¹ con respecto al testigo.

Según Liu *et al.*, (2016) ha determinado que para *Chlorella pyrenoidosa* (CP) y *Scenedesmus quadricauda* (SP), presentaron un efecto estimulante sobre el desarrollo de las microalgas bajo el empleo de diferentes auxinas, de los cuáles, ácido indol-3 propiónico (IPA) presentó el mayor impacto sobre la tasa de crecimiento de ambas especies, sin embargo, del mismo modo el resultado de ácido indol-3 acético (AIA), presentó un buen desarrollo en las microalgas, en donde la dosis de 40 mg L⁻¹ se identificó una tasa de crecimiento alta con un valor de 1,80 x 10⁻² células día⁻¹ para CP, mientras que para SP la mejor dosis fue de 60 mg L⁻¹ con 0,64 x 10⁻² células día⁻¹, siendo superiores con respecto al tratamiento control.

En investigaciones similares se evidencia que para *Chlorella pyrenoidosa* biotipo 1 y 3, el tratamiento de 30 mg L⁻¹ de AIA, presentó un aumento de la velocidad de crecimiento (μ) de 0,22 x 10⁶ y 0,23 x 10⁶ respectivamente. También presentó una disminución en el tiempo de duplicación (Td) con un valor de 3,13 y 2,99 horas correspondientemente, a diferencia de *Chlorella* biotipo 2 tuvo mejores resultados a una dosis de 50 mg L⁻¹, existiendo un aumento de 0,21 x 10⁶ de μ y 3,26 horas en el Td evaluadas en la fase de aceleración durante un período de 14 días (Auz, 2019).

Las auxinas se originan en las plantas superiores al igual que en las microalgas de forma natural en concentraciones mínimas, se sintetizan en los tejidos de las plantas mediante la vía triptófano (Trp) ubicada en los plástidos, mientras que en el cloroplasto mediante la vía Trp se forman el ácido indol 3 acético. Poseen dos transportes: el largo es el que viaja mediante el floema hasta la parte aérea de las plantas. El transporte lento es a nivel celular mediante la difusión entre membranas (Garay-Arroyo *et al.*, 2014). En este sentido según Singh *et al.*, (2020) afirma que las auxinas generán un estímulo sobre la actividad metabólica y mitótica, generando una elongación en el tamaño de las células e incremento en la división celular, debido a que las auxinas generan una mayor permeabilidad en la pared celular acelerando así sus procesos, comparado con el desarrollo de microalgas en condiciones normales. Por lo tanto, el efecto de hormonas artificiales tiene el mismo efecto en microalgas como en plantas superiores.

Parámetros ambientales

Temperatura y Potencial de Hidrógeno pH

Los factores climáticos influyen de manera directa en el crecimiento de espirulina, la cual a temperaturas bajas presenta un menor desarrollo, en este sentido hay un evidente incremento de la tasa de crecimiento en altas temperaturas, pues los 35 °C es la temperatura óptima, coincidiendo con los parámetros ambientales de la segunda fase de la presente investigación (Soni *et al.*, 2017).

A nivel de laboratorio se manejó el cultivo a una temperatura promedio de 18 °C sin mayor alteración, mientras que en la segunda fase de investigación se evidenció una temperatura promedio de 26,99°C en el invernadero de vidrio (zona administrativa), mientras que en la tercera fase la temperatura promedio en el área de Pailones (invernadero de polietileno) es de 13,78 °C , por lo tanto, se observó una relación directa entre el desarrollo de espirulina con respecto al parámetro

ambiental temperatura, mientras más alta es la temperatura se determinó un mejor crecimiento de la espirulina. La temperatura es factor primordial que afecta el desarrollo de las plantas si está aumenta hay un mayor crecimiento vegetal, pues la temperatura óptima para un buen desarrollo de la fotosíntesis es de 20 a 25 °C, mientras que la respiración es de 30 a 35 °C, pues las altas temperaturas aceleran las reacciones enzimáticas de las moléculas (Fernández & Johnston, 2006). El mismo comportamiento se evidencia en las microalgas *I. galbana*, en donde las altas temperaturas produjeron altas densidades celulares debido al incremento de la energía total y fijación del carbón debido a la tasa alta de fotosíntesis (Velasco *et al.*, & Trujillo, 2009).

Otro de los parámetros principales que influyen en el desarrollo de la microalga es el pH, del cual se obtuvo correlaciones positivas con respecto al tiempo, densidad celular y absorbancia. En las tres fases de investigación se inició con pH de 9,3 hasta llegar a 10,2, lo cual fue favorable ya que el presente cultivo se desarrolla mejor en medios alcalinos. En estudios similares según Sandoval, (2017) afirma que el pH va incrementándose de manera paralela con el crecimiento celular en diferentes medios, los cuáles presentaron un pH constante de 9,52 para el medio de Zarrouk, 9,70 para el inorgánico y finalmente 9,60 para el medio orgánico, mientras que el desarrollo de la temperatura presentó una correlación negativa con respecto al crecimiento del cultivo, resultados que difieren con la investigación.

Se ha evidenciado que a mayor pH alcalino hay un aumento en la tasa fotosintética debido a que permite la disponibilidad de nutrientes, pues el pH del medio permite la solubilidad del CO₂ y minerales (Abalde *et al.*, 1995). El incremento del pH contribuye en el consumo de los iones como HCO₃⁻, proporcionando el carbono disociado a CO₂ necesario para el mayor crecimiento en las microalgas (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

Calidad de Biomasa de espirulina (*Arthrospira platensis*)

La productividad de la biomasa en la segunda fase de investigación se observó un efecto favorable tras la aplicación de AIA, pues alcanzó una producción de biomasa llegando a los 0,91 g L⁻¹ durante un período de 39 días a diferencia del tratamiento testigo con 0,71 g L⁻¹. En investigaciones similares el cultivo de *Arthrospira platensis* en un sistema cerrado flotante a escala piloto en lugares subtropicales (29 °C) presento una productividad del 0,94 a 1,61 y g L⁻¹ mientras que en una zona templada (22 °C), 0,65 a 1,55 g L⁻¹ durante un período de 35 a 40 días (Toyoshima *et al.*, 2015). Mientras que en otras indagaciones basadas en la producción de espirulina presentó valores de 2,94 g L⁻¹ mediante el empleo de melaza como un sustrato orgánico (Andrade & Costa, 2007). Finalmente, los valores obtenidos en el presente estudios son favorables pese a las condiciones ambientales y edad del cultivo en comparación a las investigaciones mencionadas .

Evaluación de Proteínas y Lípidos

Espirulina (*Arthrospira platensis*) posee un alto nivel nutricional para el consumo humano y animal, por lo tanto, analizar la calidad de biomasa cumple un papel crucial dentro de una producción, por lo que, en la presente investigación mediante un análisis bromatológico se determinó que la cepa de espirulina posee niveles de proteína del 25,073 % y en el caso de lípidos 4,06 %.

Las auxinas son fitohormonas encargadas de contribuir positivamente en el producto final de la biosíntesis (Han *et al.*, 2018). En este sentido se evidenció que el cultivo sometido a una dosis de 10 mg L⁻¹ de ácido indol 3 acético (AIA), presentó un incremento en los niveles de proteínas alcanzando el 30,61 % , al igual que los niveles de lípidos con un 6,02 % . La adición de AIA produce un mayor porcentaje de lípidos, pues se ha evidenciado que a mayor concentración de auxinas (AIA) mayor es el contenido lipídico, como es el caso de la especie *Nannochloropsis oceánica*, la cual llegó a su máxima productividad de 310 mg L⁻¹ y 319,5 mg L⁻¹ resultados de la

aplicación de 30 y 40 mg L⁻¹ de AIA respectivamente (Udyan & Arumugam, 2017). Los niveles nutricionales de espirulina generalmente son bastante altos específicamente en proteína alrededor del 60 %, por lo que no coinciden los resultados de la investigación, pues los niveles son más bajos, una de las posibles causas es que el cultivo de espirulina empleado ha sido producido de manera intensificada durante 10 años, en el caso del porcentaje de grasa coinciden con la investigación estudiada, los niveles normales en espirulina son del 5 % (Colla *et al.*, 2007). Sin embargo, la aplicación de hormonas vegetales en este caso la auxina ácido indol-3 acético (AIA), pese a la edad del cultivo elevó la calidad de biomasa a nivel de proteína y grasa.

Los porcentajes de proteína y lípidos de las diferentes variedades de espirulina apoyan a los resultados de la investigación, pues según Honores *et al.*, (2019) afirman que la variedad *Arthrospira jenneri* posee el 70 % y 7 % que representan los valores de proteínas y lípidos respectivamente. En estudios similares la composición proximal de espirulina (*Arthrospira platensis*) evidencian niveles del 4 % de lípidos a una temperatura de 30 °C y una proteína bruta del 40 % (Ogbonda *et al.*, 2007).

Por lo tanto el resultado tras la aplicación de auxinas presentó un efecto positivo para las proteínas y lípidos de la cianobacteria estudiada. Los elevados niveles del porcentaje proteico es debido al estímulo en el incremento de la división celular que generará una mayor producción de carbohidratos, por ende un aumento en los niveles de proteínas, del mismo modo el incremento de lípidos posiblemente se debe a la producción de triacilglicerol (TAG) por el estímulo causado por las auxinas en la descomposición de monogalactosilglicerol precursor importante para la formación del TAG y ácido oleico (Singh *et al.*, 2020).

Pigmentos Fotosintéticos

En la presente investigación otro de los parámetros identificados dentro del análisis de calidad de biomasa, son los pigmentos fotosintéticos característicos de todas las microalgas. Entre ellos se encuentran los distintos niveles de clorofila, el tipo a es uno de los principales y más abundantes dentro de un organismo fotosintético, en las microalgas eucariotas la clorofila tipo b se halla de forma accesoria a excepción de las cianobacterias (Abalde, et al., 1995). En tal sentido, coinciden con los resultados de la presente investigación, en el tratamiento testigo se identificó $16,42 \text{ mg g}^{-1}$ de la clorofila a, mientras que la clorofila tipo b se determinó un valor sumamente bajo de $3,37 \text{ mg g}^{-1}$ y $9,8 \text{ mg g}^{-1}$ de carotenos. En estudios similares según Soni et al., (2017) afirman que en *Arthrospira platensis* han reportado la producción de clorofila de tipo a con un valor de $16,6 \text{ mg L}^{-1}$ a una temperatura de $32 \text{ }^\circ\text{C}$, resultados que coinciden con respecto a la segunda fase de investigación. El efecto de AIA es evidente en la microalga *Scenedesmus* sp. a una dosis de 20 L^{-1} incrementaron los contenidos de clorofila a y b con valores de 6.74 mg L^{-1} y $2,88 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente comparadas con el testigo reflejándose el buen desarrollo de la fotosíntesis datos que contribuyen con el estudio (Yu et al., 2017).

Al igual que lo resultados mencionados anteriormente, se determinó un incremento en los pigmentos fotosintéticos sometidos a la hormona vegetal AIA, en donde resulto $18,43 \text{ mg g}^{-1}$ de clorofila a, $3,99 \text{ mg g}^{-1}$ de clorofila b y $10,6 \text{ mg g}^{-1}$ de carotenos. Pues el uso de hormonas vegetales en el caso de *Chorella vulgaris* bajo una dosis mínima de 1 mg L^{-1} presentó un incremento en la clorofila en un 53% con respecto al control (Castro, 2021).

CAPÍTULO VI

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

Las dosis de ácido indol-3 acético (AIA) de 10,20,40 y 80 mg L⁻¹ estimularon crecimiento de la densidad celular y absorbancia, pese a que dentro de la cinética de crecimiento no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos.

La dosis de ácido indol-3 acético (AIA) de 10 mg L⁻¹ mejoró la productividad de espirulina, en donde su crecimiento tuvo un efecto positivo alcanzando una densidad celular de $6,9 \times 10^5$ filamentos mL⁻¹ y una absorbancia de 1,413, durante un período de 39 días, mismo comportamiento en la fase de campo.

La biomasa tratada con la auxina AIA (10 mg L⁻¹) al mejorar la productividad en su crecimiento, incrementó su producción a 0,91 g L⁻¹ con respecto al tratamiento control que fue de 0,71 g L⁻¹, por lo que es uno de los parámetros productivos muy importantes a nivel industrial en una explotación de microalgas.

La calidad de biomasa tratada con AIA incremento el contenido lipídico llegando a un 6,02 %,comparado con el tratamiento control que fue de 4,02%, además de mejorar el contenido nutricional de espirulina con niveles de proteína del 30,61%, clorofila tipo a con 18,425 mg g⁻¹ y 10,6 mg g⁻¹ de carotenos.

Recomendaciones

Es importante hacer un control constante de los parámetros ambientales principalmente del pH y temperatura mediante los cuales se puede conocer el desarrollo del cultivo de espirulina.

Se recomienda aplicar ácido indol 3- acético en espirulina (*Arthrospira platensis*) para estimular el desarrollo de la densidad celular, absorbancia y producción de biomasa.

Analizar el efecto de AIA juntamente con otras hormonas vegetales con el fin de observar su comportamiento sobre los parámetros productivos en espirulina.

Realizar pruebas sobre el perfil de ácidos grasos de la biomasa de espirulina tratada con auxinas con el fin orientarlos a una perspectiva agroindustrial como alimento destinado a los humanos.

Bibliografía

- Abalde, J., Cid, Á., Fidalgo, P., Torres, E., & Herrero, C. (1995). *Microlagas: Cultivo y Aplicaciones*. España: Universidade A. Coruña , Servicio de Publicacións.
doi:<https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>
- Alsenania, F., Wass, T. J., Ma, R., Eltanahy, E., Netzel, M. E., & Schenk, P. M. (2019). Transcriptome-wide analysis of *Chlorella* reveals auxin-induced carotenogenesis pathway in green microalgae.
- Andrade, M. R., & Costa, J. A. (2007). Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture*, 264, 130-134.
doi:10.1016/j.aquaculture.2006.11.021
- Arce, M. (Junio de 2009). Normal climática y distribución de la precipitación de la hacienda El Prado-IASA. *Serie Zoológica* , 8(4-5), 126-1128.
doi:<https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1422>
- Arredondo, B. O., & Voltolina, D. (2007). *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*. La Paz, Baja California, México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste. Obtenido de <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/1403>
- Auz, E. (2019). *Efecto de ácido indol 3 acético (AIA) exógeno en la productividad de tres biotipos de Chlorella endémica del Ecuador*. [Tesis Pregrado]. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/22044>
- Auz, E., Ortiz, J., & Saltos, M. (Noviembre de 2019). *Acuicultura Juan Ortiz* .
Recuperado el 24 de Agosto de 2021, de <https://sites.google.com/site/acuaculturajuanortiz/>
- Beltrán-Rocha, J. C., Guajardo-Barbosa, C., Barceló-Quintal, I. D., & López-Chuken, U. J. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando

microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO₂.

Revista de Biología Marina y Oceanografía, 52(3), 417-427.

doi:10.4067/S0718-19572017000300001

Borjas-Ventura, R., Julca-Otiniano, A., & Alvarado-Huamán, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura The plant hormones, an important component of the agriculture development. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 150-164.

doi:http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v8n2/v8n2_a07.pdf

Castro, J. (1 de Febrero de 2021). Efecto de reguladores de crecimiento en la producción de lípidos, proteína total soluble, clorofila y carotenoides totales en cultivos de *Scenedesmus acutus* UTEX-72 y *Chlorella vulgaris* OW-01.

doi:<https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/7192>

Colla, L. M., Oliveira Reinehr, C., & Reichert, C. (27 de Octubre de 2007). Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, 98(7), 1489–1493.

Condo, L., & Pazmiño, J. (2015). *Diseño experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias* (Tomo II ed., Vol. 17x24). Riobamba-Ecuador : La caracola editores. Obtenido de http://congresos.esPOCH.edu.ec/files/libros/Diseno_experiental_2.pdf?fbclid=IwAR0q4c68nqOhGmrJomcVas2GVzPpdVuE_USeSFCiPoQSKPpyK2jQw6zXjIo

Enders, T. A., & Strader, L. C. (2015). Auxin activity: Past, present, and future.

AMERICAN JOURNAL OF BOTANY, 102(2), 180-196.

doi:10.3732/ajb.1400285

- Fernández, G., & Johnston, M. (2006). Crecimiento y Temperatura. En *Squeo, FA y Cardemil, L. Fisiología Vegetal* (pág. 28). Chile: Universidad de La Serena.
doi:<http://intranet.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Crecimientoytemperatura.pdf>
- Freire, D., Flor, O., & Alvarez, G. (24 de Abril de 2020). Metodología Seis Sigma en el Incremento de Producción de Spirulina. *Revista Minerva de investigación Científica*, 24-31. doi: 10.47460/minerva.V1i1.3
- Garay-Arroyo, A., Sánchez, M. d., García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E. R., & Gutiérrez, C. (2014). La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de Arabidpsos Thaliana. *Revista de educación bioquímica*, 33(1), 13-22. doi:<http://scielo.org.mx/pdf/reb/v33n1/v33n1a3.pdf>
- Google maps. (2022). *Mapa Satelital de IASA (Carrera Agropecuaria Universidad de las Fuerzas Armadas)*. Recuperado el 3 de Febrero de 2020, de <https://www.google.com/maps/place/IASA/@-0.4232288,-78.4121429,49m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x91d5bbbd8644851b:0xc6c8b2bb6c026969!8m2!3d-0.3857137!4d-78.4164486>
- Google maps. (2022). *Mapa satelital del IASA (Carrera Agropecuaria Universidad de las Fuerzas Armadas)*. Recuperado el 01 de Enero de 2022, de <https://www.google.com/maps/@-0.38524,-78.4161876,784m/data=!3m1!1e3>
- Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F., & Yan, Y. (9 de Abril de 2018). Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. *Fermentation*, 4(2), 25. doi://doi.org/10.3390/fermentation4020025
- Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F., & Yan, Y. (s.f.). Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review.

- Honores, F. M., Izquierdo, A. ., & Rodríguez, E. F. (2019). Taxonomy and importance of “spirulina” *Arthrospira jenneri* (Cyanophyceae: *Arthrospira jenneri*). *Arnaldoa*, 26(3), 1091-1104. doi://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26316
- INEN. (1980). *Instituto Ecuatoriano de Normalización* . Recuperado el 27 de Diciembre de 2020, de <https://studylib.es/doc/6368548/n-te-inen-0543--alimentos-para-animales.-determinaci%C3%B3n-de-la>
- Jourdan, J. (2014). *Xarxa espirulina*. Recuperado el 20 de Agosto de 2021, de <https://xarxaespirulina.files.wordpress.com/2014/01/cultiva-la-teua-propia-espirulina1.pdf>
- Kozlova, T. A., Hardy, B. P., Krishn, P., & Levin, D. B. (Noviembre de 2017). Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda*. *Algal Research*, 27, 325-334. doi://doi.org/10.1016/j.algal.2017.09.020
- Lim, H. R., Khoo, K. S., Chew, K. W., Chang, C.-K., Munawaroh, H. ., Kumar, P. S., . . . Show, P. L. (1 de Septiembre de 2021). Perspective of Spirulina culture with wastewater into a sustainable circular bioeconomy. *Environmental Pollution*, 284, 117492. doi://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117492
- Lissarrague, J. R., & Baeza, S. d. (2017). *Studylib*. Recuperado el 15 de Agosto de 2021, de <https://studylib.es/doc/206993/f-o-t-o-s-%C3%AD-n-t-e-s...>
- Liu, J., Qiu, W., & Song, Y. (Septiembre de 2016). Stimulatory effect of auxins on the growth and lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus quadricauda*. *Algal Research*, 18, 273-280. doi://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.027
- Macías, A., Hurtado, J. R., Cedeño, D. M., Vite Solórzano, F. A., Scott, M. M., Vallejo, P. A., . . . Intriago, K. J. (2018). *Introducción al estudio de la bioquímica*.

Editorial Área de Innovación y Desarrollo, S.L Científica 3Ciencias. doi:

<http://dx.doi.org/10.17993/CcyLI.2018.28>

Marfaing, H. (Noviembre de 2017). Qualités nutritionnelles des algues, leur présent et futur sur la scène alimentaire Nutritional value of seaweed, present and future in western food diet. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(5), 257-268.

[doi://doi.org/10.1016/j.cnd.2017.05.003](http://doi.org/10.1016/j.cnd.2017.05.003)

Miazek, K., & Ledakowicz, S. (June de 2013). Chlorophyll extraction from leaves, needles and microalgae: A kinetic approach. *Int J Agric & Biol Eng*, 6(2), 107.

[doi:10.3965/j.ijabe.20130602.0012](http://doi.org/10.3965/j.ijabe.20130602.0012)

Ogbonda, K. H., Aminigo, R. E., & Abu, G. O. (2007). Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp.

Bioresource Technology, 98, 2207–2211. [doi:10.1016/j.biortech.2006.08.028](http://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.028)

Quintero, R. E., Arredondo, V. B., Flores, T. E., Virgen, F. M., Barrera, D. E., Carballo, V. M., & Maldonado, M. A. (2016). Selección de un medio de cultivo a nivel de laboratorio para el cultivo de cianobacteria *Spirulina* (*Arthrospira maxima*) y cuantificación de nutraceuticos . *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* , 1(1), 532-537.

[doi:http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/4/91.pdf](http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/4/91.pdf)

Salama, E.-S., Kabra, A. N., Ji, M.-K., Kim, J. R., Min, B., & Jeon, B.-H. (2014).

Enhancement of microalgae growth and fatty acid content under the influence of phytohormones. *Bioresource Technology*, 172, 97-103.

[doi://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.002](http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.002)

Sales, R., Galafat, A., Vizcaíno, A., Sáez, M., Martínez, T., Cerón-García, M., . . .

Alarcón, F. (2021). Effects of dietary use of two lipid extracts from the microalga *Nannochloropsis gaditana* (Lubián, 1982) alone and in combination

on growth and muscle composition in juvenile gilthead seabream, *Sparus aurata*. 53, 102162. doi://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102162

Sandoval, D. (2017). *Evaluación del crecimiento de espirulina (Arthrospira platensis) mediante alternativas de fertilización orgánica e inorgánica y su masificación en condiciones de campo en la Hda. El Prado*. [Tesis Pregrado]. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/14508>

Schlösser, U. G. (1994). SAG - Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen Catalogue of Strains 1994. *Botanica Acta* , 107(3), 113-186. doi://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1994.tb00784.x

Sharkey, T. D. (2021). Photosynthesis | Photosynthetic Carbon Dioxide Fixation. *Encyclopedia of Biological Chemistry III (Third Edition)*, 399-412. doi://doi.org/10.1016/B978-0-12-819460-7.00011-6

Singh, J., Jain, D., Agarwal, P., & Singh, R. (2020). Auxin and cytokinin synergism augmenting biomass and lipid production in microalgae *Desmodesmus* sp. JS07. *Process Biochemistry*, 95, 223-234. doi://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.02.012

Sirakov, I., Velichkova, K., & Nikolov, G. (2012). The effect of algae meal (*Spirulina*) on the growth performance and carcass parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of BioScience and Biotechnology*, 7, 151-156. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/271326438_The_effect_of_algae_meal_Spirulina_on_the_growth_performance_and_carcass_parameters_of_rainbow_trout_Oncorhynchus_mykiss

Soni, R. ., Sudhakara, K., & Rana, R. (Noviembre de 2017). *Spirulina – From growth to nutritional product: A review*. *Trends in Food Science & Technology*, 157-171. doi://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010

- Stadtlander, T., Förster, S., Rosskoth, D., & Leiber, F. (Agosto de 2019). Slurry-grown duckweed (*Spirodela polyrhiza*) as a means to recycle nitrogen into feed for rainbow trout fry. *228*, 86-93. doi:10.1016/j.jclepro.2019.04.196
- Stirbet, A., Lazár, D., Papageorgiou, G. C., & Govindjee. (2019). Chlorophyll a Fluorescence in Cyanobacteria: Relation to Photosynthesis. En *Cyanobacteria* (págs. 79-130). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-814667-5.00005-2
- Teijon, J., Garrido, A., Blanco, M., Olmo, R., Teijon, C., & Castel, B. (2009). *Bioquímica Matebólica : Concepto y Test* . Madrid: Tébar, S.L. Obtenido de https://www.academia.edu/35000489/Bioquimica_Metabolica?email_work_card=view-paper
- Toyoshima, M., Aikawa, S., Yamagishi, T., Kondo, A., & Kawai, H. (2015). Un sistema de cultivo cerrado flotante a escala piloto para la cianobacteria multicelular *Arthrospira platensis* NIES-39. *Revista de Ficología Aplicada*, *27*, 2191–2202. doi://doi.org/10.1007/s10811-014-0484-2
- Udyan, A., & Arumugam, M. (Octubre de 2017). Selective enrichment of Eicosapentaenoic acid (20:5n-3) in *N. oceanica* CASA CC201 by natural auxin supplementation. *Bioresource Technology*, *242*, 329-333. doi://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.149
- Velasco, L. A., Barros-Gómez, J., Ospina-Salazar, G. ., & Trujillo, C. A. (2009). Efecto de intensidad lumínica, temperatura y salinidad sobre el crecimiento de la microalga *Isochrysis galbana* (cli T-ISO). *Revista Intropica*, *4*, 93-99. doi:https://www.academia.edu/12382684/EFFECTO_DE_LA_INTENSIDAD_LUMINICA_TEMPERATURA_Y_SALINIDAD_SOBRE_EL_CRECIMIENTO_DE_LA_MICROALGA_Isochrysis_galbana_CLON_T_ISO_
- Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology, and biotechnology*. London ; Bristol, PA: Taylor & Francis. Obtenido de

<http://www.bashanfoundation.org/contributions/Vonshak-A/1997-.Vonshak-S.pdf>

Xarxa. (2021). *Red de espirulina internacional de cultivadoras de espirulina por la soberanía alimentaria*. Recuperado el 25 de Agosto de 2021, de <http://www.xarxaespirulina.cat/wp-content/uploads/2010/07/manual-cultivo-espirulina-bq.pdf>

Yu, Z., Song, M., Pei, H., Jiang, L., Hou, Q., Nie, C., & Zhang, L. (2017). The effects of combined agricultural phytohormones on the growth, carbon partitioning and cell morphology of two screened algae. *Bioresource Technology*, 239, 87-96. doi://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.120

<https://drive.google.com/drive/folders/1KzE8A6hR8DxiSVS7MZRtWyhXDUMU2jU8?usp=sharing>