

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, Ph.D.

21 de febrero del 2022



INTRODUCCIÓN

Justificación



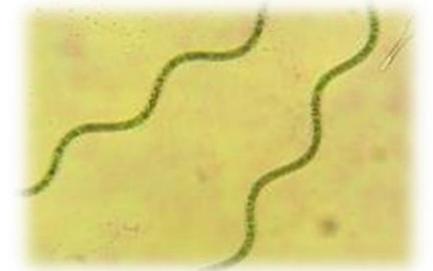
La espirulina es una cianobacteria multicelular

Medicina
Industria alimentaria
Acuicultura



“Espira “ espiral
y nila “ pequeño

Una longitud de 0,3 mm y 0,008 mm de ancho



Considerada el alimento del futuro por sus características:

Nutritivas
Nutraceútics



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Definición de Problema

Los altos costo de producción de los insumos químicos empleados para el medio

Técnicas no muy desarrolladas y baja productividad a nivel nacional lo que limita su disponibilidad y usos para la producción en la alimentación humana y animal.



Una alternativa es evaluar efecto de auxinas ácido indol 3-acético sobre el crecimiento de la espirulina (*Arthrospira platensis*)



Auxinas

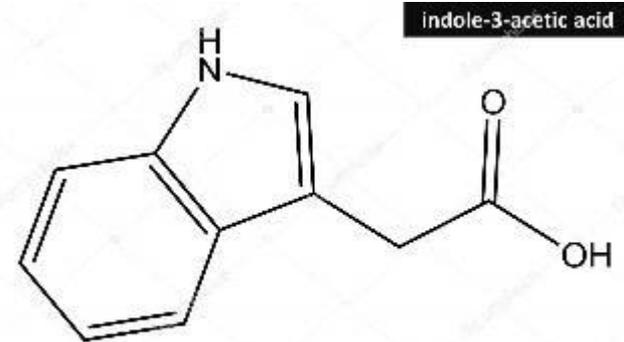
Reguladores de crecimiento

- Estimulación de procesos Fisiológicos
- División celular
- Desarrollo de las plantas

Acetil indol 3-acético (AIA)

Es uno de los primeros compuestos auxínicos descubiertos en el año 1937

- Acetil indol 3-acético (IAA)
- butírico (IBA)
- Ácido fenilacético (PAA)
- Ácido indol propiónico (AIP)



Scenedesmus
obliquus



AIA



Aumentó el crecimiento en 1,9 veces en comparación al control incrementos en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados hasta un 56% y proteína con un 34% y (Salama, et al., 2014).



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Objetivo General

Evaluar el efecto estimulante del ácido indol-3 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.

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”



METODOLOGÍA

Ubicación del lugar de la investigación

1° Fase



2° Fase



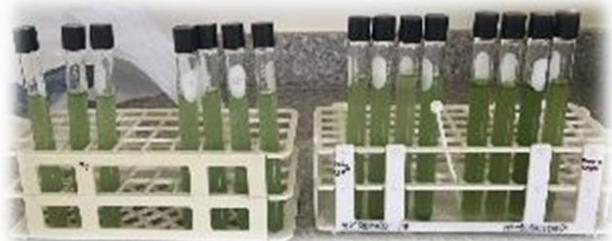
3° Fase



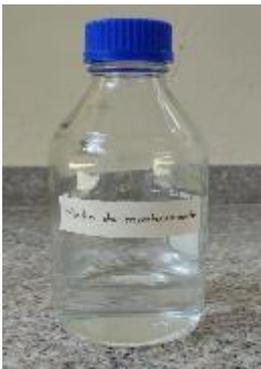
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

FASE DE LABORATORIO

Inóculos de la cepa de espirulina



Medio de mantenimiento



Masificación

20 litros



4 litros



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Diseño Experimental



El experimento en la fase de laboratorio se realizó según el diseño completo al azar



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Preparación y aplicación de ácido indol 3- acético

Elaboración de una Solución madre



Preparación de las 6 dosis de AIA



0,5,10,20,40 y 80 mg L⁻¹ de AIA

2° y 3° fase experimental



Dosis óptima



La aplicación de AIA se la realizó a los 15 días de haber iniciado el experimento a una absorbancia de 0,4 nm



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Segunda y Tercera Fase Experimental

Segunda fase



Dos bidones de 20 litros

Tercera fase



Dos estanques de 600 Litros



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Purificación
del Agua

Preparación
de
medio de
masificación

Aclimatación del
cultivo

Siembra del
cultivo

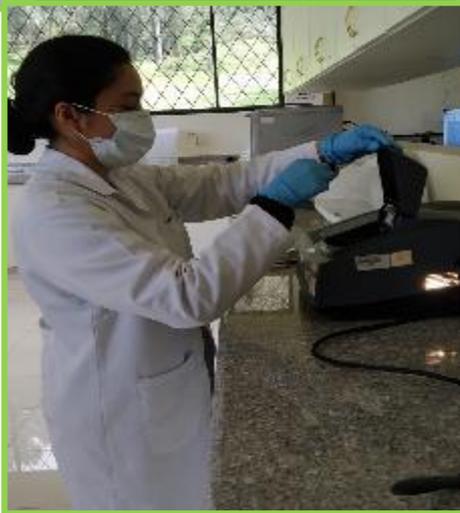


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Parámetros productivos

- Densidad Celular
- Absorbancia

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



Espectrofotómetro

Parámetros ambientales

- Temperatura
- pH



Cosecha de Biomasa



A una temperatura de 38 °C



Calidad de Biomasa



← Análisis Bromatológicos

Proteína

Lípidos

Clorofila



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primera Fase de Investigación (Laboratorio)

Parámetros productivos

Densidad de celular y Absorbancia

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

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

El efecto de 10 mg L⁻¹ de AIA en *Nannochloropsis oceánica*



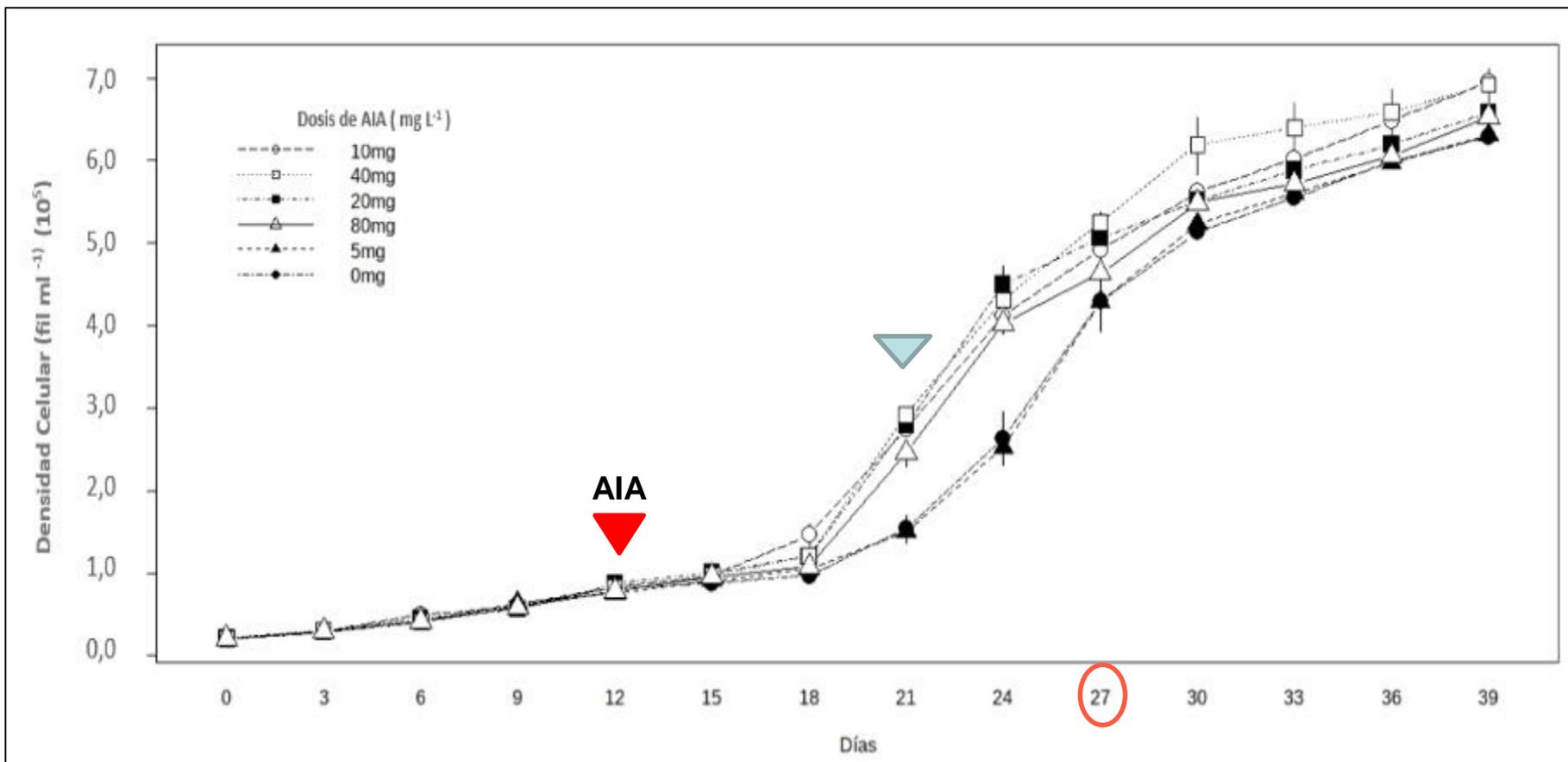
- Densidad Celular: 579, 5 x 10⁶ células mL⁻¹ con respecto al control (215,5 x 10⁶ células mL⁻¹).
- Producción de biomasa: 543,75 mg L⁻¹ (391, mg L⁻¹ tratamiento control) (Udyan & Arumugam, 2017)

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



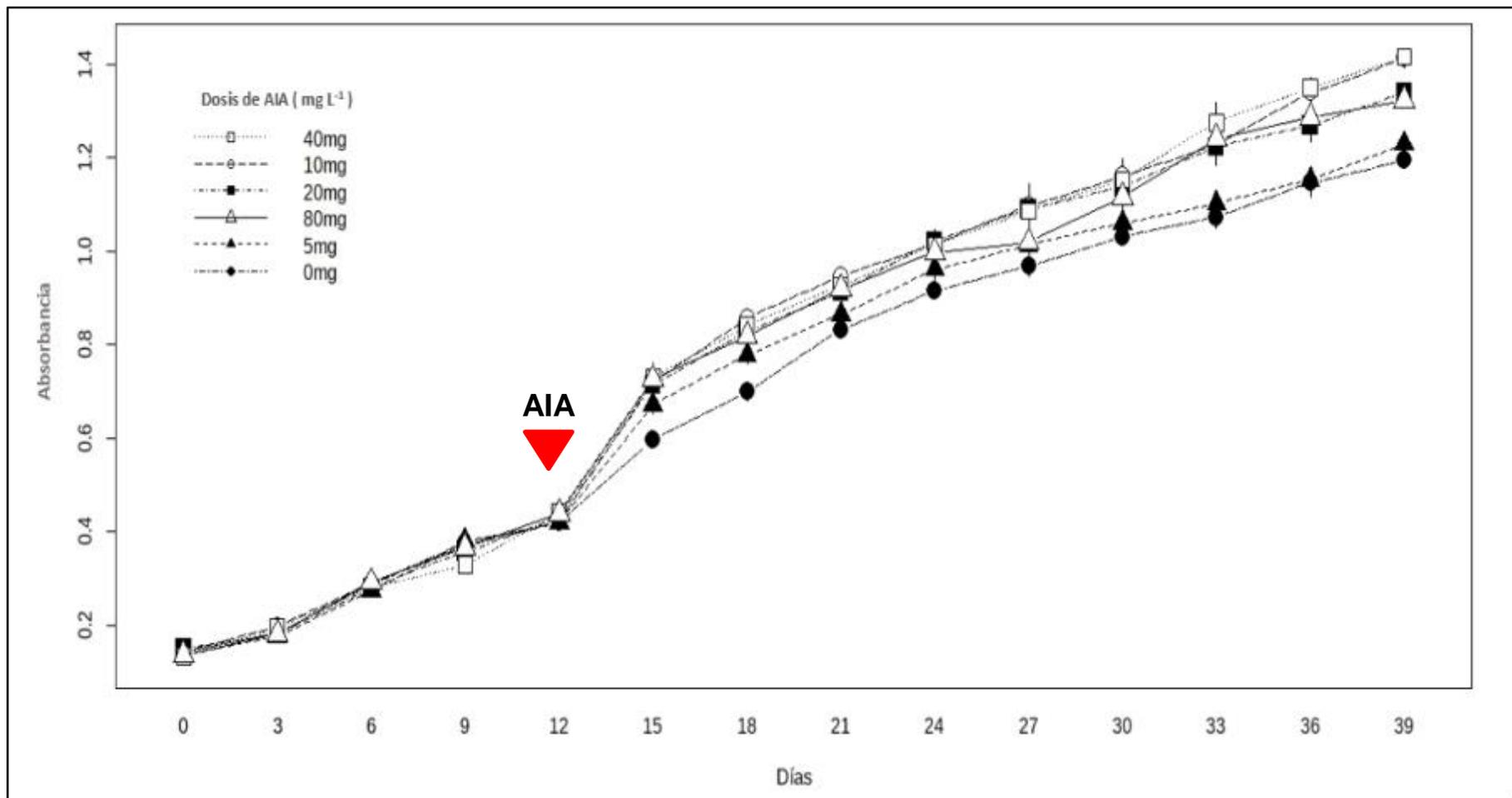
Primera Fase de Investigación (Laboratorio)

Curva de crecimiento de la densidad celular con respecto al tiempo y el efecto de AIA



Primera Fase de Investigación (Laboratorio)

Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo y el efecto de AIA



Cinética de crecimiento de cultivo de espirulina

- Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación de las diferentes dosis de AIA mg L⁻¹

Dosis AIA (mg L ⁻¹)	Velocidad de crecimiento (μ) (filamentos h ⁻¹) x 10 ³	Tiempo de duplicación (Td) (h)
0	0,0903 ± 0,0012	7,677 ± 0,071
5	0,0900 ± 0,0017	7,706 ± 0,137
10	0,0930 ± 0,0010	7,457 ± 0,067
20	0,0907 ± 0,0012	7,646 ± 0,114
40	0,0927 ± 0,0021	7,470 ± 0,143
80	0,0907 ± 0,0015	7,662 ± 0,137
p-valor	0,0903	0,0438

Chlorella pyrenoidosa (CP)



40 mg L⁻¹ con 1,80 x 10⁻² células día⁻¹

Scenedesmus quadricauda (SP)

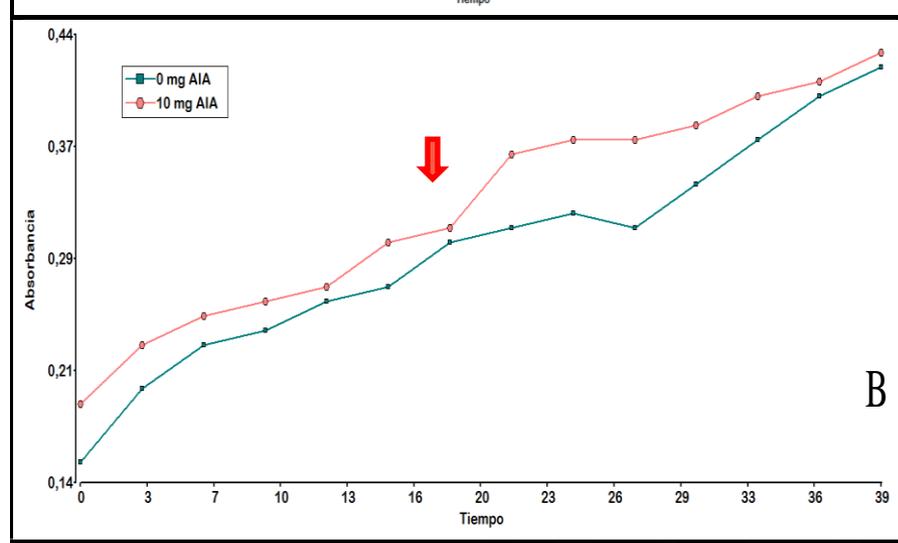
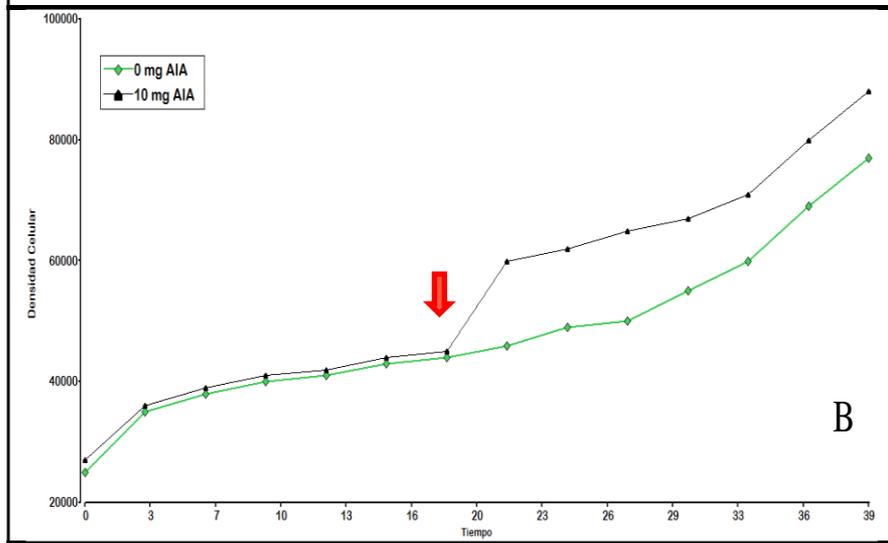
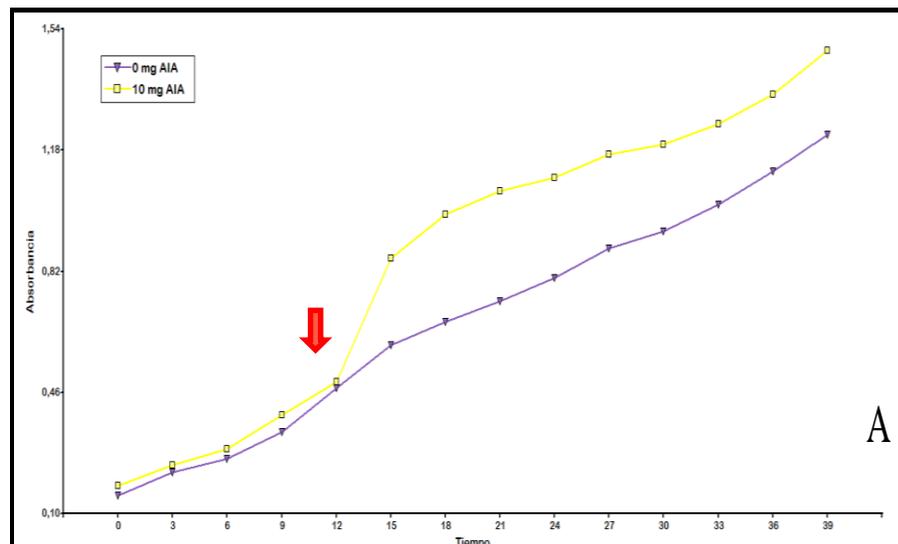
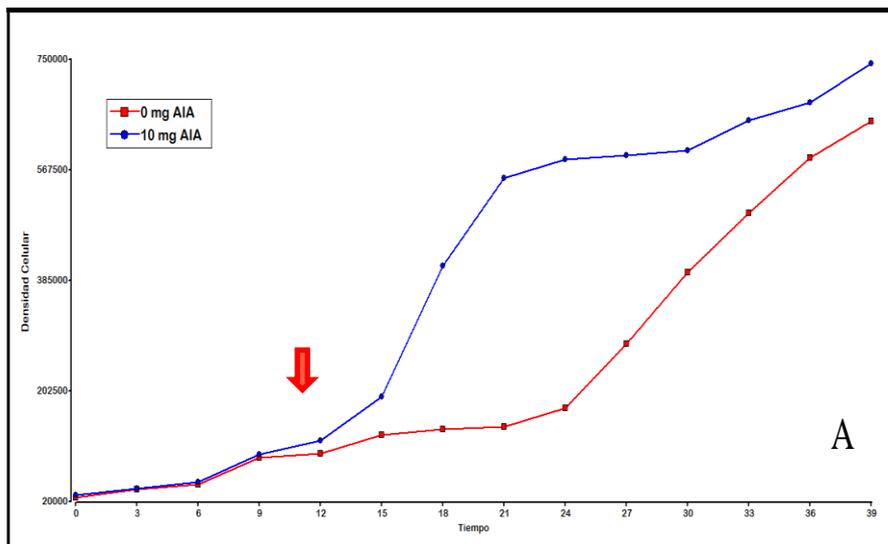


60 mg L⁻¹ con 0,64 x 10⁻² células día⁻¹

(Liu *et al.*, 2016)

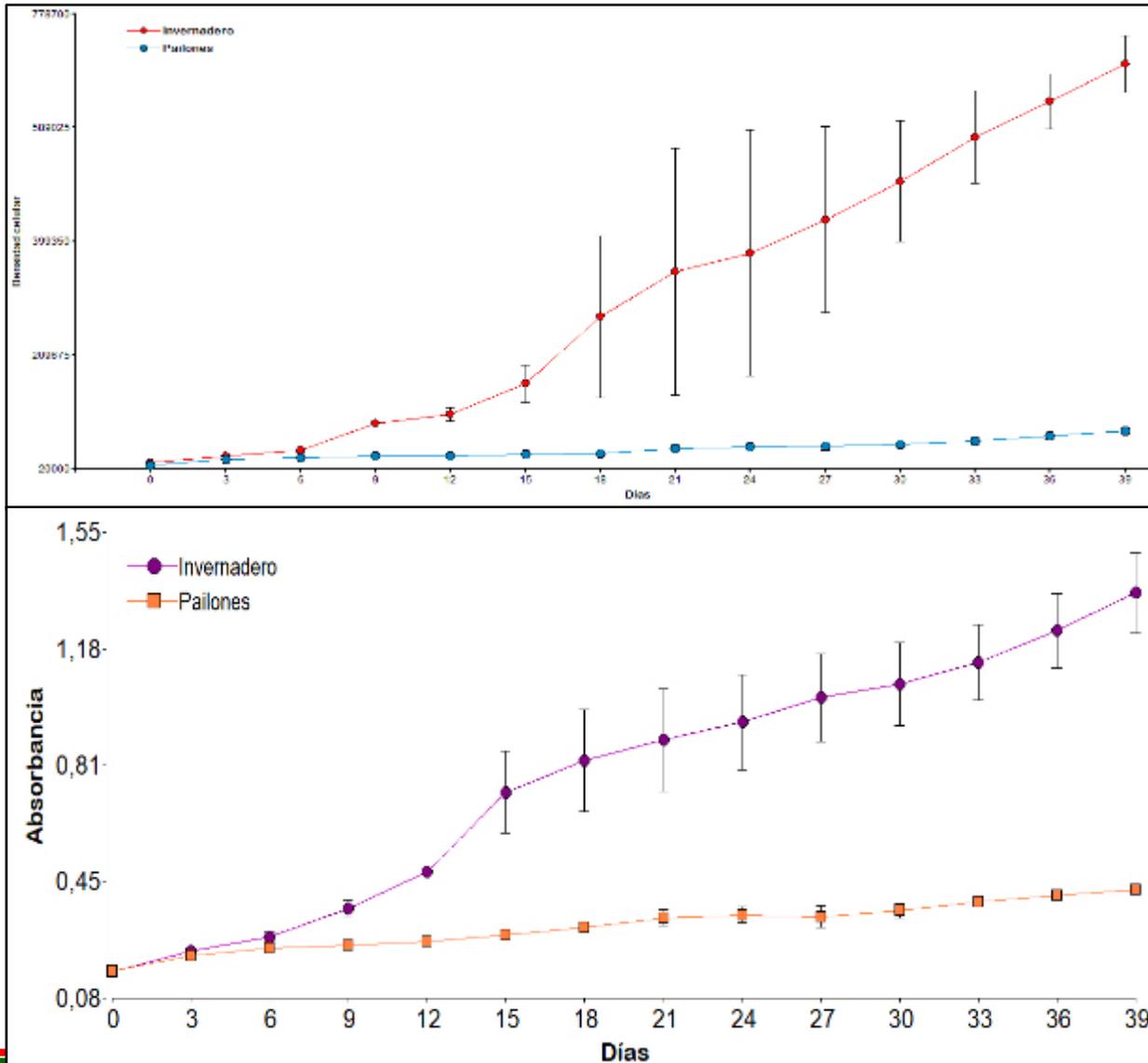


Curva de crecimiento de la absorbancia con respecto al tiempo y el efecto de AIA, A) Invernadero, B) Pailones.



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Segunda y Tercera Fase de Investigación



Curva de crecimiento de la densidad celular y absorbancias con respecto al tiempo bajo invernadero y área de Pailones.



Segunda y Tercera Fase de Investigación

- Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación

Dosis AIA (mg L ⁻¹)	Lugar		Velocidad de crecimiento (μ)	Tiempo de duplicación (Td)
			(filamentos día ⁻¹)	(h)
0	Invernadero	a	0,0818	8,288
10	Invernadero	a	0,0840	8,291
0	Pailones	b	0,0296	23,41
10	Pailones	b	0,0310 p < 0,005	22,29 p < 0,025

Chlorella pyrenoidosa biotipo 1 y 3 → 30 mg L⁻¹ de AIA 0,22 x 10⁶ y 0,23 x 10⁶ (μ) ; 3,13 y 2,99 horas (Td)

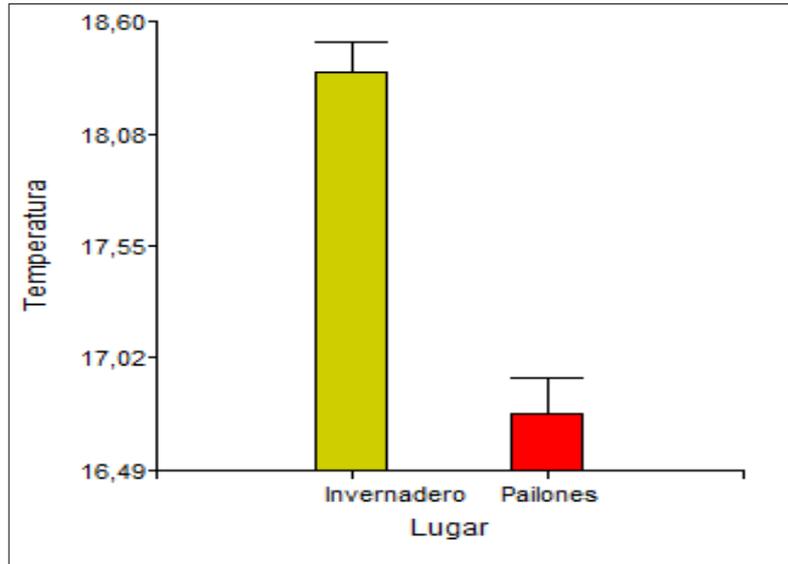
Chlorella biotipo 2 → 50 mg L⁻¹ de AIA 0,21 x 10⁶ de μ y 3,26 horas en el Td 14 días

(Auz, 2019)



Parámetros Ambientales

- **Temperatura**



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

Un sistema cerrado flotante a escala piloto

(29 °C) presentó una productividad del 0,94 a 1,61 y g L⁻¹

(22 °C), 0,65 a 1,55 g L⁻¹

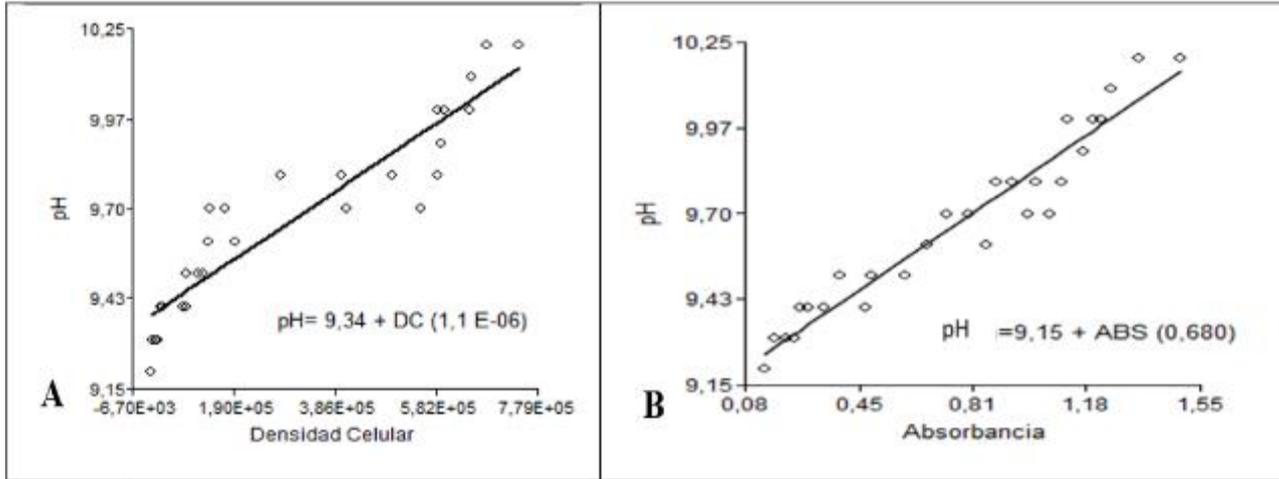
Durante un período de 35 a 40 días (Toyoshima *et al.*, 2015)



Segunda y Tercera Fase de Investigación

- pH

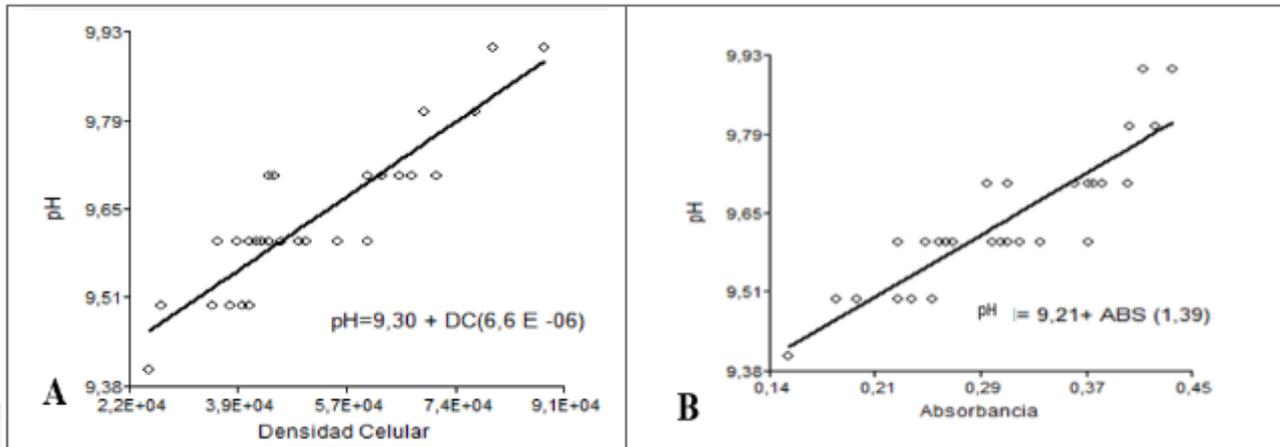
Invernadero de vidrio (zona administrativa)



A) pH y la densidad celular
($R=0,87$; $p > 0,001$, $T=12,93$)

B) pH y absorbancia
($R=0,93$; $p > 0,001$, $T=19,20$)

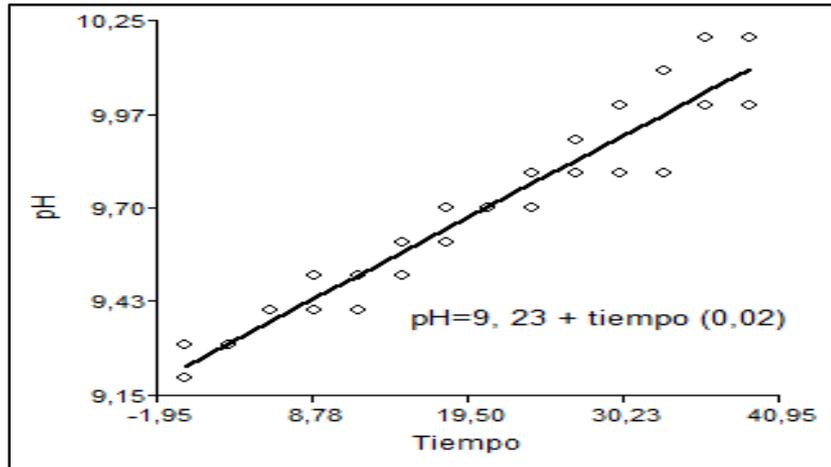
Invernadero de polietileno (zona de Pailones)



A) pH y la densidad celular
($T = 10,21$, $R=0,80$ $p > 0,001$)

B) pH y absorbancia
($T=9,57$, $R=0,78$, $p > 0001$)

Segunda y Tercera Fase de Investigación



Tiempo y pH existe una correlación positiva en el área de invernadero de vidrio
($T=18,33$, $R=0,93$, $p > 0,001$)

Según Sandoval, (2017) afirma que el pH va incrementándose de manera paralela con el crecimiento celular en diferentes medios

Un pH 9,52 para el medio de Zarrouk

Un pH 9,70 para el inorgánico

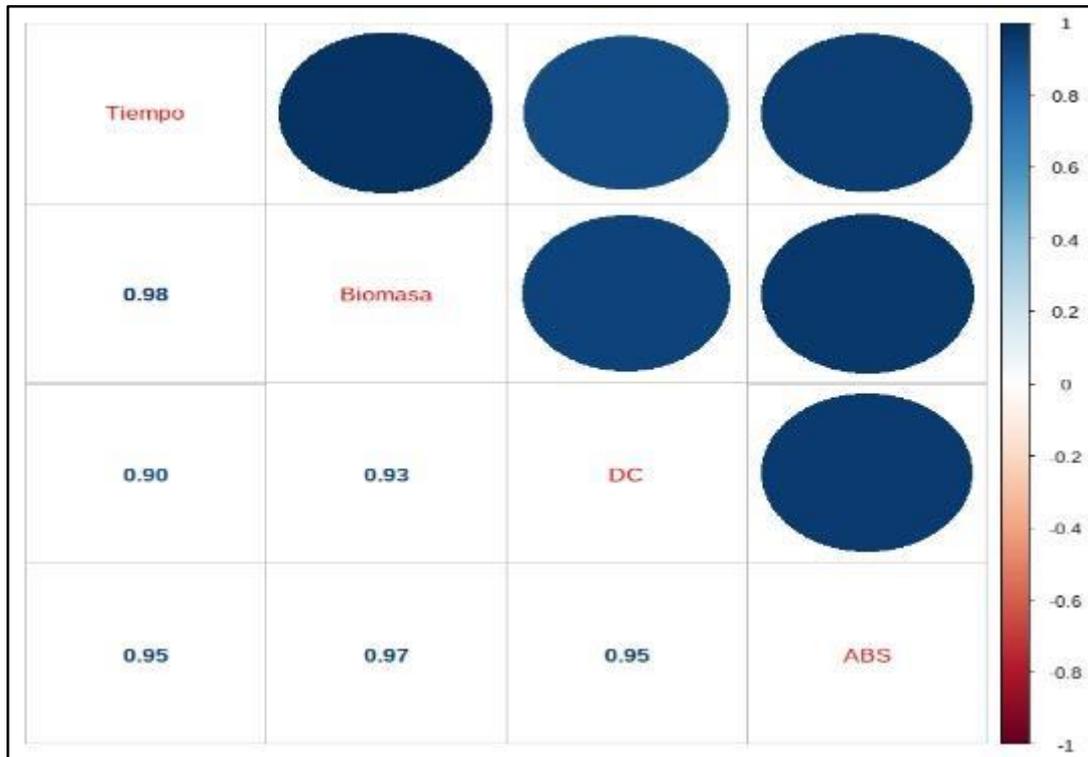
Un pH 9,60 para el medio orgánico



Segunda y Tercera Fase de Investigación

Producción de Biomasa

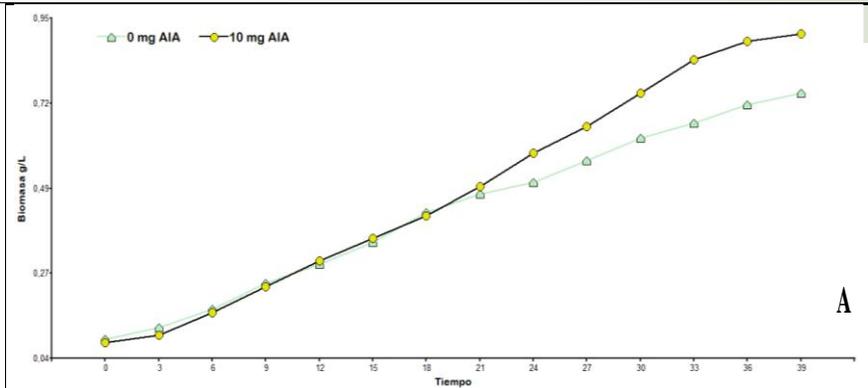
Correlaciones entre las variables tiempo, biomasa, densidad celular (DC) y absorbancia (ABS) en el crecimiento de espirulina (*Arthrospira platensis*) dentro del invernadero.



La producción de biomasa presenta correlaciones positivas con respecto al tiempo, densidad celular y absorbancia



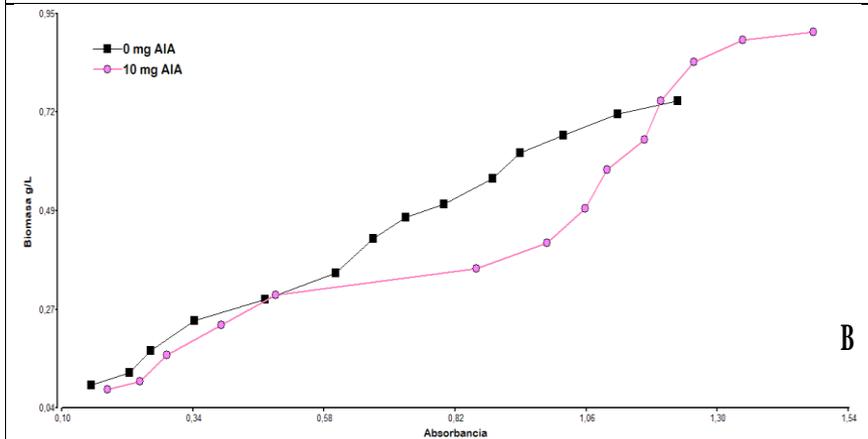
Segunda y Tercera Fase de Investigación



El tratamiento de 10 mg L⁻¹ fue mayor con una biomasa de 0,91 g L⁻¹, a diferencia del testigo (0 mg L⁻¹) que presentó 0,71 g L⁻¹ (p < 0,0157)

Calidad de Biomasa

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



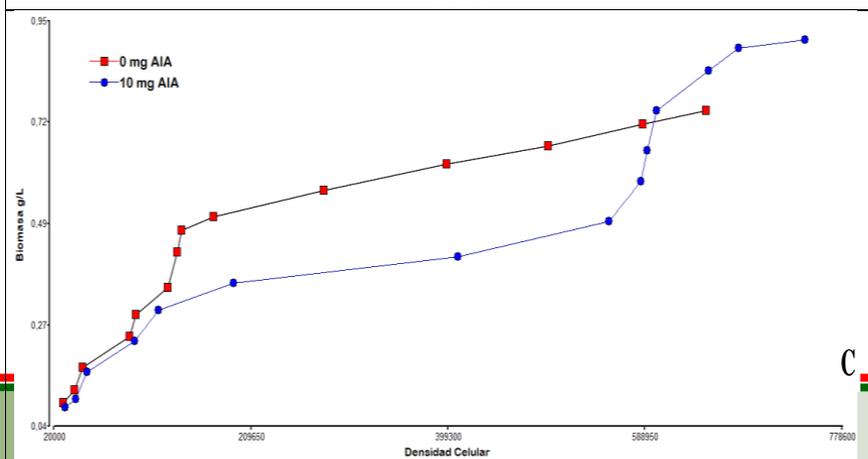
(*Arthrospira platensis*) → 4 % de lípidos a una 40 % proteína

(Ogbonda et al., 2007).

Nannochloropsis oceánica

30 y 40 mg L⁻¹ de AIA

310 mg L⁻¹ y 319, 5 mg L⁻¹



(Udyan & Arumugam, 2017)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

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.



AGRADECIMIENTO



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Grupo de Investigación en Recursos
Bioacuíáticos y Acuicultura



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA