“COMPARATIVO DE TRES FITOHORMONASENCONCENTRACIONES DE 25, 50 Y 75 ppm EN EL CRECIMIENTO POBLACIONAL CELULAR DE *Scenedesmusacutus*MEYEN”.

(Resumen para Artículo I)

El siguiente estudio comparó el efecto de tres fitohormonas (Kinetina, Acido giberélico y Ácido indol-3-acético) en diferentes concentraciones, durante el crecimiento poblacional celular de *Scenedesmusacutus*; para ello se empleó un diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial A x B + 1 [(Fitohormonas x Concentraciones) + Testigo], haciendo un total de 10 tratamiento, cada uno con tres repeticiones.

El experimento fue realizado en las instalaciones del IIAP, con el apoyo del programa AQUAREC y financiado por la UNU, con fondos a la investigación deIFOCAM; instalado el estudio, se activó las fitohormonas y se suplementó a cada UEdesignados para la investigación; se utilizó el “Medio HM” como solución nutritiva. Se inició con una densidad celular de 18.3 x 10^3 por mililítro; durante 12 días se monitoreo de forma diaria el número de células existentes por mililítro, bajo condiciones de temperatura ambiental (33 °C), temperatura del cultivo (29.3 ºC), intensidad lumínica (15270 lux) y pH (8.5).

Los resultados mostraron que durante el segundo día de cultivo alcanzó un incremento celular estadísticamente significativo de 120.23 x 10^3 células/ml con el T4 (Ácidoen giberélicoen 25 ppm), debido a que las fitohormonas produjeron un efecto mitógeno sobre las células, sin embargo, los tratamientos suplementados con Ácido indol-3-acetico (T7, T8 y T9) presentaron citotoxicidad, obteniendo un crecimiento menor respecto al TC (Testigo). Las condiciones ambientales fueron un factor determinante para la producción celular del cultivo.

Palabras claves: Fitohormonas, concentraciones, crecimiento poblacional celular, medio nutritivo, cultivo microalgal, suplemento.

*IIAP: Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana.
*UNU: Universidad Nacional de Ucayali.
*UE: unidad(es) experimental(es).

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son consideradas como alimentos capaces de elevar el contenido nutricional de los alimentos tradicionales en la acuicultura durante la primera etapas de desarrollo. Ellas poseen cantidades apreciables de carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales. ,

Scenedesmuses el género microalgal más común en agua dulce que posee niveles de aminoácidos esenciales superiores al patrón de la FAO; además, niveles de proteína entre 25 y 65 % lo que la convierte en una atractiva fuente de proteína.

Por lo tanto, se debería realizar estudios para sucultivo masivo, para ello se desarrollaron investigaciones, que presentaban tratamientos que obtenían incrementos significativos de células por mililitro, debido a la suplementación de fitohormonas al medio de cultivo, mencionado por Aguilera y González (1994).

El presente trabajo de investigación busca comparar el efecto tres fitohormonas (***Kinetina, Acido Giberélico*** y ***Acido Indol-3-Acético***) con tres diferentes concentraciones (25, 50 y 75 ppm), e incrementar la población celular en el cultivo de *Scenedesmusacutus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Centro de Investigaciones Dale E. Bandy, IIAP-Ucayali, ubicado en el distrito de Yarinacocha, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali, a 12,4 Km de la ciudad de Pucallpa. Geográficamente está ubicado a 08° 23´ 39.6” de latitud sur y 74° 34´ 39.8” longitud oeste, a 154 m.s.n.m

El clima de la región se caracteriza por ser cálido y húmedo, presenta una temperatura media anual de 25.1 °C con poca variación entre las temperatura máximas (30.6°C) y mínimas (19.6°C) presentadas durante el año. (SENAMHI, 1998).

Método de Investigación y Análisis Estadístico

El presente estudio de investigación utilizó un diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial 3 x 3 + 1, que incluyo 10 tratamientos con tres repeticiones cada uno, además, tuvo como Factor A las fitohormonas (Kinetina, Ácido giberélico y Ácido indol-3-acético) y, como Factor B las concentraciones en estudio (25, 50 y 75 ppm),más un testigo absoluto (Testigo).

Los datos obtenidos fueron analizados mediante elANOVA y corroborados conla prueba de LSD Fisher ($p \geq 0.05$).

Materiales y Equipo:

Las cepas microalgales de *Scenedesmusacutus*Meyen (1829), fueron adquiridas con el apoyo de la Universidad Nacional del Santa, Chimbote, Perú; además, las fitohormonas sintéticas de 25 gr. (Kinetín, GibberellicAcid 3 y Indole-3-Acetic Acid) fueron importadas del Laboratorio Gold Biotechnology, ubicado en St. Louis, MO, en USA.

Para la ejecución del experimento se necesitó la construcción de un invernadero de 3 metros de ancho x 5 metros de largo, el cual albergó 30 unidades experimentales, estas fueron elaboradas con mangas plásticas transparentes de 2 mt de alto x 32 cm de ancho de acuerdo a lo propuesto por Ynga (2011).

Se adquirió fertilizantes agrícolas (urea, cloruro de potasio y fosfato de amonio)necesarios para la elaboración del “Medio HM” (Mejía, et al. 1985); así mismo, se utilizaron materiales y equipos básicos de laboratorio.

Procedimiento:

La cantidad de inoculo que se preparó para iniciar el experimento, fue de 120 L de cultivo de microalgas, cada unidad experimental estaba conformado por 4 L de inoculo y 16 L de agua más nutrientes, se colocó dos inyectores de aire (del sistema de Blowers) en cada una de las unidades experimentales,para evitar los campos muertos.

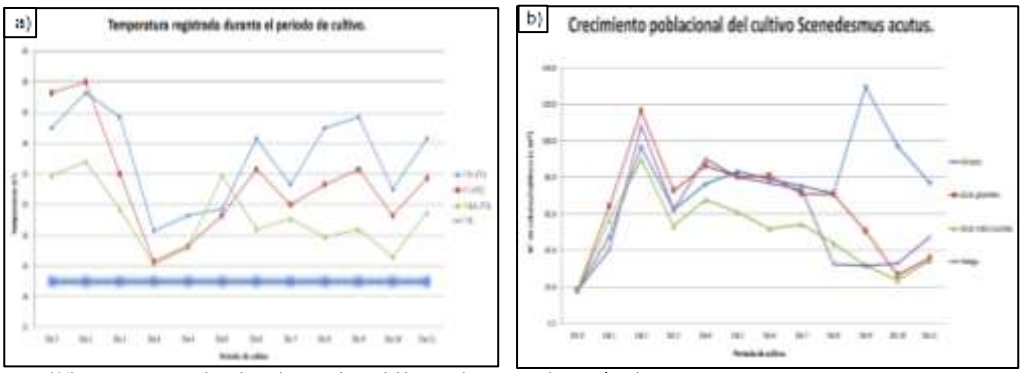
Se registraron parámetros físicos y químicos,por cada 03 horas simultáneamente, de 7:00 am hasta las 4:00 pm, las cuales fueron tomadas fuera y dentro del invernadero y en cada suspensión algal.

De forma diaria se extrajo tres muestras de cada unidad experimental (09:00 am), para realizar el respectivo conteo celular, para esto se utilizó un microscopio binocular con un aumento de 10 X (objetivo),además de una cámara de Neubauer para una mayor precisióndeterminando así el número de células totales por mililitro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de los factores físicos y químicos, influyentes en el crecimiento poblacional de *Scenedesmusacutus*.

Se registró una temperatura promedio de 29 °C, sin embargo de acuerdo a lo sostenido por Becker y Venkataraman (1982) donde nos mencionan que las Chlorococcales más utilizadas (Chlorella y Scenedesmus) ofrecen producciones máximas entre los 20 °C y los 25 °C; es decir que existen 04 °C de diferencia en relación a lo experimentado, observándose una buena adaptabilidad en el cultivo de microalgasmanejado durante la investigación.



T.E.I (C°): Temperatura registrada en los exteriores del invernadero, en grados centígrados.
T.I.I. (C°): Temperatura registrada en los interiores del invernadero, en grados centígrados.
T.D.C.(C°): Temperatura registrada dentro de los cultivos algales, en grados centígrados.
T.R. : Temperatura requerida.

Figura 1. Influencia de la temperatura respecto al crecimiento poblacional celular de los tratamientos en estudio en el cultivo de *Scenedesmusacutus*, a).Temperatura registrada, b). Crecimiento poblacional del cultivo.

La intensidad lumínica presentada en la fase experimental, oscilo en un rango promedio de 46,4 x 10^2 lx a 259 x 10^2 lx.

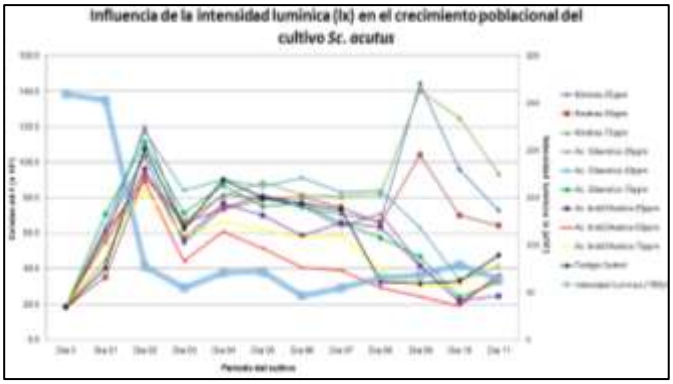


Figura 2. Influencia de la intensidad lumínica respecto al crecimiento poblacional celular de los tratamientos en estudio, durante el periodo establecido. Pucallpa, Perú, 2014.

Torrentera y Tacón (1989), mencionan que en especies de Chlorococcales la intensidad de luz necesaria de 2.000 a 4.000 lx, para obtener un crecimiento favorable; por lo que se

corroboró por medio del experimento realizado que al exponer el cultivo a una mayor intensidad lumínica (presente en el día 01) se obtiene una mayor actividad fotosintética, por lo tanto, se logró un mayor crecimiento poblacional celular (figura 2).

Torrentera y Tacón (1989), mencionan que el pH sugerido para el cultivo microalgal está entre los 8,5 a 9,5, mientras que en el proceso experimental se obtuvo un pH promedio de 9,4 a 8,5, encontrándose entre los parámetros requeridos.

Determinación del crecimiento microalgal.

Tabla 06. Presenta los resultados correspondientes a la prueba de promedios de LSD Fisher (p ≥ 0,05), para la determinación de x 10^3 células.ml^{-1}durante los diferentes días.

Trat.	Características	Día 01	Día 02	Día 03	Día 04	Día 05	Día 06	Día 07	Día 08	Día 09	Día 10	Día 11
01	Kinetina-25 ppm	61,5 **bc**	103,4 **ab**	54,5 **ab**	74,2 **abc**	81,6 **bc**	74,6 **bc**	70,9 **bc**	66,7 **cd**	144,4 **d**	96,2 **b**	72,8 **abc**
02	Kinetina-50 ppm	35,3 **a**	91,9 **ab**	65,8 **bcd**	73,6 **abc**	79,0 **bc**	80,7 **bc**	74,7 **bc**	65,7 **bcd**	94,2 **bc**	70,2 **ab**	64,3 **abc**
03	Kinetina-75 ppm	45,2 **ab**	94,3 **ab**	67,2 **bcd**	80,9 **cd**	88,9 **c**	81,6 **bc**	80,7 **bc**	82,0 **cd**	140,4 **cd**	104,1 **b**	93,7 **c**
04	Ácido giberélico-25 ppm	57,2 **abc**	120,2 **b**	62,7 **bcd**	81,9 **cd**	79,5 **bc**	75,1 **bc**	63,8 **bc**	71,1 **cd**	42,1 **a**	21,5 **a**	33,9 **ab**
05	Ácido giberélico- 50 ppm	63,9 **bc**	117,7 **b**	84,2 **d**	90,1 **d**	86,2 c	91,4 **c**	83,0 **c**	84,0 **d**	62,9 **ab**	33,9 **a**	41,2 **ab**
06	Ácido giberélico- 75 ppm	70,9 **c**	111,2 **ab**	71,3 **cd**	87,0 **bc**	75,2 **bc**	76,5 **bc**	66,0 **bc**	57,3 **bc**	46,9 **ab**	24,1 **a**	32,6 **ab**
07	Ácido indol-3-acético en 25 ppm	54,7 **abc**	96,0 **ab**	56,6 **ab**	76,7 **bcd**	70,1 **abc**	58,4 **ab**	65,9 **bc**	63,3 **bcd**	41,6 **a**	21,7 **a**	24,5 **a**
08	Ácido indol-3-acético en 50 ppm	60,2 **bc**	89,3 **ab**	44,2 **a**	60,8 **a**	51,4 **a**	40,7 **a**	38,9 **a**	29,4 **a**	24,2 **a**	19,0 **a**	36,8 **ab**
09	Ácido indol-3-acético en 75 ppm	54,3 **abc**	84,2 **a**	59,0 **bc**	66,2 **ab**	61,9 **ab**	57,3 **ab**	58,6 **ab**	39,7 **ab**	29,7 **a**	30,2 **a**	42,5 **ab**
TC	Testigo	40,4 **ab**	107,3 **ab**	62,5 **bcd**	90,3 **d**	80,1 **bc**	77,0 **bc**	123,3 **c**	32,4 **ab**	31,7 **a**	32,9 **a**	47,5 **ab**
CV		**28,30**	**16,93**	**14,81**	**19,00**	**26,11**	**36,73**	**38,02**	**74,01**	**87,97**	**61,64**	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05), se resaltó las medias significativamente diferentes

El comportamiento observado en los diferentes tratamientos en el cultivo de microalgas de la especie *Scenedesmusacutus*, durante los días 01 y 02, muestra a todos los tratamientos en estudio en un crecimiento exponencial, expresado en una curva de tenencia ascendente; mientras que la prueba de LSD Fisher (p ≥ 0,05) nos muestra que existen diferencias estadísticamente significativas durante los días mencionados.

Al respecto, Bahadur y Jotaro (1999), indican que en casi todas las combinaciones de luz y nutrientes, las algas aumentan sus densidad en los primeros días, por lo que se obtuvo un crecimiento exponencial en todos los tratamientos hasta el día 02; mientras que Cetin y Mert (2006), mencionan que las tasas de crecimiento de *Scenedesmusacutus*son siempre altas entre los días 04 y 05.

En el día 03, se muestra un comportamiento no favorable para la producción de células, exhibiendo una caída en su registro productivo que coincide con la baja intensidad lumínica y temperaturas no cálidas registradas ese día;estos factores afectan la actividad fotosintéticay consigo la división celular (Torrentera y Tacón, 1989). Mientras que durante los día 04 y 08, se observó un comportamiento inestable, expresados enla prueba de promedios de LSD Fisher (p ≥ 0,05) mostrándonos diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en estudio.

En el día 09, los tratamientos expuestos con la fitohormona Kinetina mostraron mayor producción celular (25, 50 y 75 ppm), registrando rangos entre 24,23 x 10^3 a 144,37 x 10^3de células por mililitro, esto es posible por una de las principales funciones de Kinetina, que consiste en mantener un crecimiento celular estable evitando que el cultivo envejezca,

mencionado por González, et al. (1999); sin embargo a partir del día 09 se obtuvo una mayor población celular, observados solo en los tratamientos adicionados con Kinetina (T1, T2 y T3), para ello Álvarez (1994) indica que la utilización de células muertas (reciclaje de nutrientes) son aprovechadas e ingeridas por una pequeña carga bacteriana que excretan sustancias que favorecen el crecimiento microalgal y que este tipo de bacterias son muy recurrentes en los cultivos monoespecíficos. Este efecto fue relacionado a la concentración de fitohormonas, es decir, a mayor concentración de Kinetina mayor es el efecto de senescencia.

Se sabe que las fitohormonas producen un efecto mitógeno sobre las células, es decir, inducen la proliferación celular, pero hasta ahora este efecto solo había sido descrito en líneas celulares de vegetales superiores, sin embargo, mientras la mayor parte de tratamientos ensayados presentan un efecto mitógeno, existe un grupo que parece ser citotóxico (el Ácido indol-3-acético); Fernández (1980) menciona que la acción de las fitohormonas en algas unicelulares son limitadas en la mayoría de los casos, por sus efectos sobre los fenómenos de crecimiento celular. Esto se corroboró en el experimento realizado para ciertos tratamientos (con Ácido indol-3-acético), obteniendo un crecimiento menor con respecto al control, en 0,8 veces menor al promedio.

Al respecto Ma et al., (2003) indica que en anteriores investigaciones con diferentes especies de algas verdesdemostraronque existevariación en su comportamientofrente a los productos químicos, debemos saber que las fitohormonas son consideradas como productos químicos de naturaleza orgánica, es por ello que se encontró diferentes respuestas, tanto no favorables como favorables en el crecimiento poblacional de células en el cultivo, como es el caso de los tratamientos expuestos con Kinetina y Ácido giberélico, por otro lado se observó

de forma adversa al suplementarlo con Ácido indol-3-acético, obteniendo una respuesta de inhibición o citotoxicidad, concordando con lo experimentado por Aguilera y González (1994), refiriéndose que el Ácido indol-3-acético actúa inhibiendo drásticamente la división celular de Tetraselmissp.

Las fitohormonas de la categoría Auxinas (Ácido indol-3-acético) y del Ac. Abcísico son frecuentemente utilizados en la formulación de diferentes herbicidas;MA et al., (2001) y Sabater et al., (2002) mencionan que las toxicidades de algunos herbicidas, expuestas a especies de fitoplancton demostraron sensibilidad presentando variaciones considerables, lo cual se corroboró en el presente estudio, con los tratamientos suplementados con Ácido indol-3-acético.



Figura 1. Muestra microalgal observado en la cámara Neubauer.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en elpresente estudio, se concluye que:

1. El tratamiento con Ácido giberélico en 25 ppm de concentración, registró $120,23x10^3$ células por mililítro que fueron alcanzados a los dos días de cultivo, por lo que se convirtió en el tratamiento con mejores resultados durante el proceso de experimentación.

2. Se obtuvo una mayor división celular en todo los tratamientos durante los días de mayor temperatura e intensidad lumínica (días 01 y 02); resaltando con mayor tasas de crecimiento poblacional el tratamiento con Ácido giberélico en 25 ppm de concentración.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILERA, A; GONZÁLEZ-GIL, S. 1994. Efecto biológico de las fitohormonas sobre los mecanismos de control de la proliferación de *Tetraselmis*sp (Praxinophyceae). Revista de Biología Marina. Valparaíso-Chile. Disponible en http://www.revbiolmar.cl /escaneados /291-47.pdf. (Accedido: 21/04/2013).

ÁLVAREZ, H. 1994. Introducción al Método Ficológico. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Ecuador.

BAHADUR, T; JOTARO, U. 1999. Regulation of the relationship between phytoplankton *Scenedesmusacutus*and heterotrophic bacteria by the balance of light and nutrients. Center for Ecological Research, Kyoto University. Maryland-USA.

BECKER, F; VENKATARAMAN, L. 1982. Biotechnology and Exploitation of Algae-The Indian Approach. Central FoodTechnologicalRe search Institute. Mysore-India.

CETIN, A; MERT, N. 2006. Growth Rate of *Scenedesmusacutus*(Meyen) in Cultures Exposed to Trifluralin. Firat University, Science and Art Faculty, Department of Biology; 23169 Elazig-Turkey. Francia.

FERNÁNDEZ, E. 1980. Acción de los Ácidos Indol-3-Acetico y Giberélico sobre la síntesis de paramilon en *Euglenagracilis*. Unidad De Ficología-Microbiana-y-Protozoologia.España. Disponible enhttp://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnología/article/view/582/1102. (Accedido: 20/04/2013).

GONZALEZ, A; RAISMAN, J; AGUIRRE, M. 1999. Hormonas de las plantas. Disponible enhttp://www.efn.uncor.edu/dep/biologia/intrbiol /auxinas.htm#Auxins (Accedido: 22/08/2014).

MA, J; LIANG, W; XU, L; WANG, S; WEI, Y; LU, J. 2001. Acute toxicity of 33 herbicides to the green alga *Chlorella pyrenoidosa*. Bull Environ ContamToxicol. 66, 536, 2001. USA.

MA, J; LIN, F; WANG, S; XU, L. 2003. Toxicity of 21 herbicides to thegreen alga Scenedesmusquardicauda. Bull EnvironContamToxicol. USA.

MEJÍA, E; MERINO, F; MOYA, R; HEUSSLER, P. 1985. Quality of Scenedesmus Powder Produced at Sausal (Peru) and Some Factors Affecting it. Arch. Hydrobiol. Beith. 20 **(**254-258). Ergebn. Limnol.

SABATER, C; CUESTA, A; CARRASO, R. 2002. Effects of bensulfuron- methyl and cinosulfuron on growth of four freshwater species of phytoplankton. Chemosphere46, 953, 2002.

TORRENTERA, L; TACÓN, A. 1989. La Producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Apoyo a las actividades regionales de acuicultura para América Latina y el Caribe. Food and Agriculture Organization (FAO). Brasilia-Brasil.Disponibleenhttp://www.fao.org /docrep/field/003/AB473S/AB473S02.htm. (Accedido: 20/04/2013).

YNGA, G. 2011. Cultivo masivo de microalgas en biorreactores verticales". Universidad Nacional de San Agustín - Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Arequipa-Perú.

“OBTENCIÓN DE BIOMASA Y LÍPIDOS TOTALES A PARTIR DEL CULTIVO DE MICROALGAS (*Scenedes musacutus* MEYEN), YCOMPARANDO TRES FITOHORMONAS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES”.

El presente trabajo de investigación comparó el efecto de tres fitohormonas (Kinetina, Acido giberélico y Ácido indol-3-acético) en diferentes concentraciones (25, 50 y 75 ppm)para obtener biomasa microalgal y lípidos, a partir del cultivo de microalgas; para ello se empleó un diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial A x B + 1 [(Fitohormonas x Concentraciones) + Testigo], haciendo un total de 10 tratamiento, cada uno con tres repeticiones.
El experimento fue realizado en las instalaciones del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, con el apoyo del programa AQUAREC y financiado por la Universidad Nacional de Ucayali, con fondos a la investigación de FOCAM; instalado el estudio, se activó las fitohormonas y se suplementó a cada UE; se utilizó el “Medio HM” como solución nutritiva; luego de 12 días de cultivó se cosecho el material orgánico, por centrifugación y secado; además, se logró la extracción de lípidos por destilación.
Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas que van de 0.25 gramos de BS por litro de cultivo (Kinetina en 75 ppm), siendo 1.38 veces mayor a la obtenida en el tratamiento Testigo, a la vez se obtuvo una producción mínima de0.12 gramos de BS por litro de cultivo con Ácido Indol-3-acético en 75 ppm; finalmente, se logró la extracción de 11.18% de lípidos sobre la BS de *Scenedesmusacutus.*

Palabras claves: Fitohormonas, concentraciones, crecimiento poblacional celular, medio nutritivo, cultivo microalgal, suplemento, biomasa, lípidos.

*IIAP: Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana.
*UNU: Universidad Nacional de Ucayali.
*UE: unidad(es) experimental(es).
*BS: Biomasa seca.

INTRODUCCIÓN

Las variaciones climáticas que sufre nuestro planeta hacen que los gobiernos y organismos internacionales que buscan mitigar los efectos negativos en el medio ambiente, hacen que lo incluyan dentro de sus principales ejes de planes nacionales de desarrollo, (Stager. 2012).
Esto hace que nos embarquemos en la búsqueda de tecnologías que al ser aplicadas no produzcan efectos secundarios o transformaciones al equilibrio ambiental o, a los sistemas naturales (ecología), es decir, que no contaminen y que utilicen los recursos naturales renovables y no renovables en forma racional, mencionado por Inngeniar (2007).
Por otro lado, sabemos que el biodiesel se produce a partir de vegetales. Puesto que los aceites vegetales pueden ser utilizados para consumo humano, se puede generar un incremento en el precio de aceites comestibles, provocando que aumentara el costo del biocombustible y desalentando su uso. Además de la reducción de tierras cultivables para la alimentación, ocasionando que se eleve el precio de los alimentos, para ello debe ocurrir una transición a una segunda generación de fuentes de biocombustible, como pueden serlo las

microalgas, que no se asocian al consumo humano por ser consideradas eco-amigables, (Hernández y Labbé. 2014).
Al tratarse de organismos vivos involucran una serie de parámetros (intensidad lumínica, temperatura, ph, etc.) que deben ser considerados, evaluados, determinados y medidos para realizar con éxito un cultivo. Los procesos productivos de obtención de biomasa aún presentan una serie de dificultades que se deben mejorar, como el tema de costo de producción en temas de separación de la biomasa del medio líquido. La biomasa y los lípidos obtenidos del cultivo de microalgas presentan una gran variedad de productos con valor económico.
La presente investigación tuvo por finalidad comparar el efecto de tres fitohormonas (Kinetina, Acido giberélico y Ácido indol-3-acético) en diferentes concentraciones (25, 50 y 75 ppm) para la obtención de biomasa y lípidos producidos del cultivo de microalgas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Dale E. Bandy, IIAP-Ucayali, ubicado en el distrito de Yarinacocha, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali, a 12,4 Km de la ciudad de Pucallpa. Geográficamente ubicado a 08° 23´ 39.6” de latitud sur y 74° 34´ 39.8” longitud oeste, a 154 m.s.n.m
El clima de la región se caracteriza por ser cálido y húmedo, presenta una temperatura media anual de 25.1 °C con poca variación entre las temperatura máximas (30.6°C) y mínimas (19.6°C) presentadas durante el año. (SENAMHI, 1998).

Método de Investigación y Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial 3 x 3 + 1, que incluyo 10 tratamientos con tres repeticiones cada uno, además, tuvo como Factor A, las fitohormonas (Kinetina, Ácido giberélico y Ácido indol-3-acético) y, como Factor B, las concentraciones en estudio (25, 50 y 75 ppm), más un testigo absoluto (Testigo).
Los datos obtenidos fueron analizados mediante el ANOVA y corroborados con la prueba de LSD Fisher ($p \geq 0.05$).

Materiales y Equipo:

Las cepas microalgales de ScenedesmusacutusMeyen (1829), fueron adquiridas con el apoyo de la Universidad Nacional del Santa, Chimbote, Perú; además, las fitohormonas sintéticas de 25 gr. (Kinetín, GibberellicAcid 3 y Indole-3-Acetic Acid) fueron importadas del Laboratorio Gold Biotechnology, ubicado en St. Louis, MO, en USA.
Para la obtención de biomasa microalgal y extracción de lípidos se necesitó los materiales y equipos necesarios en un laboratorio de limnologia, como son el equipo de Soxhlet (destilación) y el soporte universal, balanza analítica modelo HR200 de la marca A&D, un autoclave de la marca J.P.Selecta, una estufa modelo Digitheat de la marca J.P.Selecta, Centrifugamodelo C-28 de la marca BOECO, una estufa de la marca J.P.Selecta, un destilador de aguamodelo AC-L4 de la marca IvymenSystems, además de indispensables materiales de vidrio.
También se incluye otros materiales e insumos comoéter de petróleo, frascos ámbar de 1 L de capacidad, papel filtro, tazones de 1 kg de cap., mangueras plásticas de 1”, bolsas herméticas de 8 x 14 cm.

Procedimiento:

El cultivo de llevo a cabo de forma masiva durante 11 días dentro de un invernadero en condiciones semicontroladas basado en lo propuesto por Ynga (2011).
Al término de la fase de cultivo se realizó lasedimentación por 01 día, se centrifugó y deshidrató, para luego obtener la biomasa seca algal.

A. Obtención de biomasa húmeda.
Se utilizó una centrifuga, para sedimentar las suspensiones microalgales para cada UE, a 5.000 rpm por espacio de 05 minutos y obtener la biomasa húmeda o pasta microalgal (figura 01).

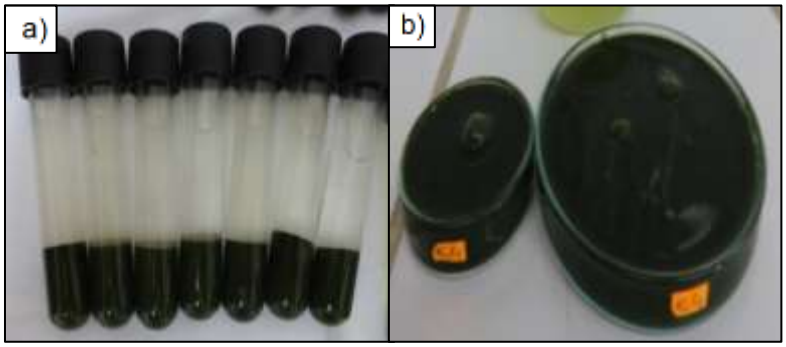


Figura 01. Obtención de biomasa húmeda, a). Muestra microalgal centrifugada, dividida en biomasa algal y medio liquido; b). Biomasa húmeda microalgal.

B. Obtención de biomasa seca.
Se utilizó una estufa puesta a operar a 60 ºC por un lapso de 08 horas, obteniendo así la biomasa deshidrata o seca (figura 02).

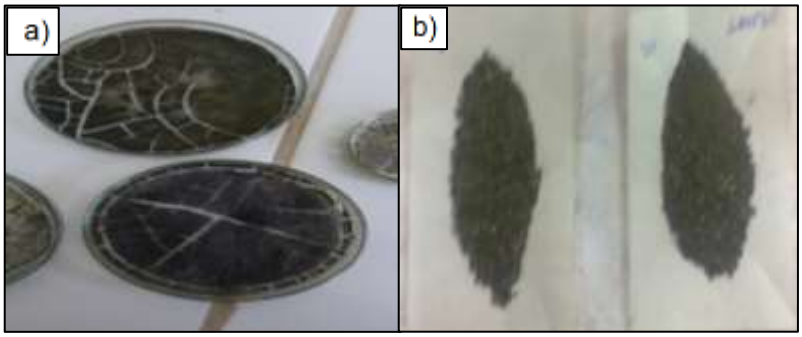


Figura 02. Obtención de biomasa seca, a). Muestra microalgal luego del secado (biomasa seca), b). Biomasa seca molida.

C. Extracción de lípidos.
Se pesó tres muestras de 05gr de biomasa seca, cada una se empacó en papel filtro (cartuchos), al instalar el extractorSoxhlet se introdujo el cartucho dentro de la cámara de muestra;el balón de fondo planofuellenado con 100ml de Éter de Petróleo (solvente) para ser puesto a operar durante02 horas; se logró obtener el solvente mezclado con los lípidos algales (dentro del balón), por lo que se procedió a extraer el solvente por

evaporación (solo quedaron los lípidos), exponiéndoloen una estufa a una temperatura de 80°C por 04 horas, para finalmente pesar el lípido obtenido (figura 03).

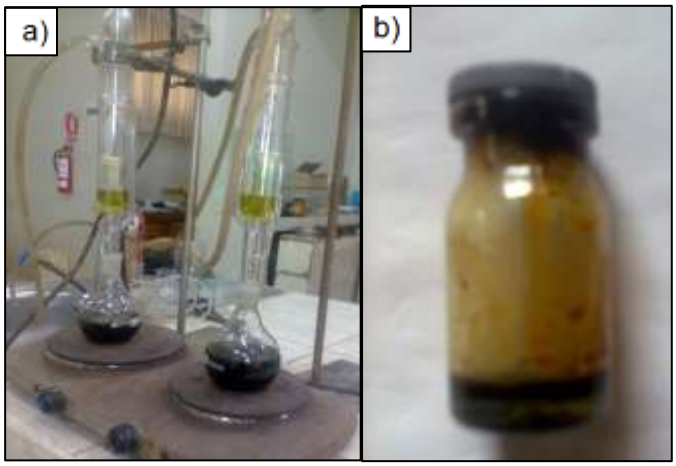


Figura 03. Obtención de aceite microalgal, a). Proceso de extracción lípidos, b). Lípidos microalgales logrados.

RESULTADOS

1.1. Determinación de biomasa microalgal

Para la determinación de la biomasa microalgal deshidratada de la especie *Scenedesmusacutus*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en estudio, siendo los rangos obtenidos entre 2,30 a 5,03 gramos por 20 litros de cultivo, correspondiente a los tratamientos Ac. Indol3Acetico-75ppm y Kinetina-75ppm respectivamente.

Cuadro 06. Se presenta los resultados correspondientes a la prueba de promedios deLSD Fisher (p ≥ 0,05), para la determinación de biomasa seca, obtenido al término de la fase de cultivo (cosecha).

Fitohormonas	Concentraciones (ppm)	Cultivo (Cel.ml^{-1})	Biomasa (gr.L^{-1})	Biomasa total por tratamiento (gr.)
Kinetina	25	72,8	0,22	4,47 **de**
	50	64,3	0,19	3,80 **cd**
	75	93,7	0,25	5,03 **e**
Ac. Giberélico	25	33,9	0,17	3,40 **bc**
	50	41,2	0,16	3,23 **abc**
	75	32,6	0,18	3,67 **bcd**
Ac. Indol3Acetico	25	24,5	0,14	2,77 **ab**
	50	36,8	0,15	2,93 **abc**
	75	42,5	0,12	2,30 **a**
Control (TC)	-	47,5	0,18	3,63 **bcd**

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p> 0.05)

Si el número de células por mililítroestá en relación a la biomasa seca cosechada, entonces se estima la cantidad de biomasa seca posiblemente obtenida en el día de mayor crecimiento poblacional celular, referido al día 02 de cultivo, obteniendo lo siguiente:

Tabla 08. Estimación de producción de biomasa cosechada en el da 02, presentando los resultados correspondientes a la prueba de promedios de LSD Fisher (p ≥ 0,05), según el número de células por mililitro.

Cod	Tratamientos	Día 2		
		Células.ml^{-1}	**Biomasa (gr.L^{-1})**	**gr.20L^{-1}**
T9	Ácido indol-3-acético en 75 ppm	84,17	0,23	4,56 **a**
T3	Kinetina en 75 ppm	94,27	0,25	5,06 **a**
T2	Kinetina en 50 ppm	91,93	0,27	5,43 **a**
T1	Kinetina en 25 ppm	103,43	0,32	6,35 **a**
T8	Ácido indol-3-acético en 50 ppm	89,33	0,36	7,11 **ab**
TC	Testigo	107,83	0,41	8,24 **ab**
T5	Ácido Giberélico en 50 ppm	117,67	0,46	9,22 **ab**
T7	Ácido indol-3-acético en 25 ppm	96,00	0,54	10,84 **ab**
T4	Ácido Giberélico en 25 ppm	120,23	0,60	12,05 **b**
T6	Ácido Giberélico en 75 ppm	111,23	0,63	12,52 **b**

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes, se resaltó las medias significativamente diferentes (p> 0,05)

Se observan diferencias significativas entre los tratamientos en estudio, siendo los rangos entre 4,56 a 12,52 gramos por 20 litros de cultivo, correspondiente a los tratamientos Ácido indol-3-acético en 75 ppmy Ácido Giberélico en 75 ppm respectivamente.

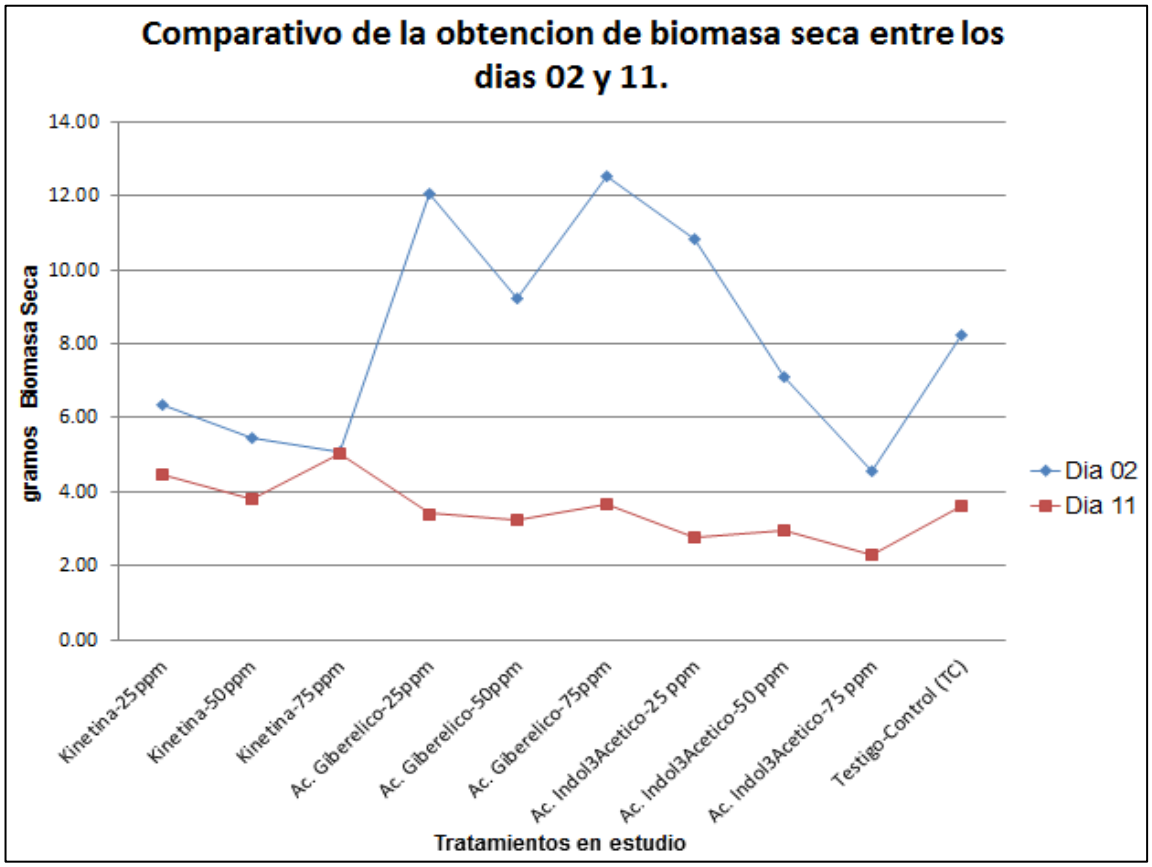


Figura 04. Obtención de biomasa microalgal seca de los tratamientos en estudio, comparando la supuesta cosecha del día 02 y la cosecha realizada en el día 11 del cultivo de *Scenedesmusacutus,* durante el periodo de cultivo establecido. Pucallpa, Perú, 2014.

De acuerdo a lo estimado, para la obtención de biomasa seca en el día 02 y, lo obtenido realmente luego de 11 días de cultivo, se pudo observar una diferencia resaltante, siendo el mayor índice obtenido por el tratamiento Ac.Giberelico-75ppm y Ac.Giberelico-25ppm, siendo 1,52 y 1,46 veces mayor al Testigo-Control. Los tratamientos con menor índice de obtención de biomasa seca fueron Kinetina (25, 50 y 75 ppm) además, del tratamiento Ac.Indol3Acetico-75ppm, siendo inferior al tratamiento Testigo-control, (ver figura 04).

La concentración de biomasa alcanzada en este trabajo, es mayor a la reportada por Kim *et al.,* (2007), donde se cultiva la microalga*Scenedesmusspe*n el medio KEP I y se airea constantemente para proveer un crecimiento de 0,19 gr.L^{-1}, pero menor a las concentraciones reportadas por Greque y Vieira (2007), donde se obtienen 1,8 gr.L^{-1} de *Scenedesmus*sp.,cultivada en tres fotobiorreactores, en serie de 2L de capacidad, a los cuales se les provee constantemente CO2.

Al respecto, Quevedo *et al.,* (2008) indica que la mayor producción de biomasa y los más altos valores de productividad obtenidos en el cultivo de *Sc. acutus* fueron de 0,4 gr.L^{-1}, el cual contrasta de forma negativa con el valor producido en el presente trabajo, siendo 0,25 gr.L^{-1} (Kinetina-75ppm) luego de 11 días de cultivo, sin embargo, es superior a lo estimado para el día 02 del cultivo, obteniendo 0,63 gr.L^{-1} expuestas al

tratamiento con Ac.Giberelico-75ppm, considerándose como una cosecha oportuna (ver cuadro 07).

1.2. Extracción de lípidos.

Se corroboro la obtención de lípidos de la biomasa seca microalgal (*Scenedesmusacutus*), obteniendo el 11,18 % de lípidos por gramos de biomasa seca (ver figura 25 y 26), coincidió con lo indicado por Becker (1994) y Mata *et al., (*2010), mencionandoque*Sc. acutus*presenta un contenido lipídico de 10 % – 11 % sobre la biomasa de peso seco.

CONCLUSIONES

1. Para la obtención de biomasa microalgal, luego de 11 días de cultivo, se registró que el tratamiento conKinetinaen 75 ppm de concentración produjo mayor biomasa microalgal seca (0,25gr.L^{-1}) con respecto alTestigo, sin embargo, no se debe dejar de lado la cosecha estimada para el día 02, donde se obtuvo un crecimiento exponencial.
2. Se logró obtener lípidos a partir del cultivo de microalgas de la especie*Scenedesmusacutus*, con un índice de 11,18% de lípidos sobre la biomasa seca.

BIBLIOGRAFÍA

BECKER, E. 1994. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. University Press. Cambridge. Disponibleenhttp://books.google.co.in/ books?id =KAKx4I7NWEYC. (Accedido: 10/08/2014).

GREQUE, M; VIEIRA, J. 2007. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp*. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. J Biotechnol; 129: 439–445.

HERNÁNDEZ, A; LABBÉ, J. 2014. Microalgas, Cultivo y Beneficios. Revista de Biología Marina y Oceanografía. Vol. 49, Nº2: 157-173. Vitacura-Chile.

INNGENIARGROUP. 2007. Tecnologías Limpias. (http://tecnologias-limpias.blogspot.pe/2007/02/tecnologias-limpias.html). Acceso:11/10/2014.

KIM, M; PARK, J; PARK, C; KIM, S; JEUNE, K. 2007. Enhanced production of *Scenedesmus spp*. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. BioresourceTechnol; 98: 2220 – 2228.

MATA, T; CAETANO, N; MARTINS, A. 2010. Microalgae for biodiésel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 14(1): 217-232.

QUEVEDO, O; MORALES, V; ACOSTA, A. 2008. *Scenedesmussp*growth in different culture mediums for microalgal protein production. Revista de la facultad de química farmacéutica. ISSN 0121-4004 Volumen 15 número 1. Año 2008. Universidad de Antioquia, Medellín, págs. 25-31. Colombia.

STAGER, C. 2012. El futuro profundo: Los próximos 100.000 años de vida en la Tierra, 358 pp. *Editorial Crítica, Barcelona*.

YNGA, G. 2011. Cultivo masivo de microalgas en biorreactores verticales. Universidad Nacional de San Agustín - Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Arequipa-Perú.