

Influencia del bicarbonato de sodio sobre el crecimiento y producción de metabolitos de la cianobacteria *Nostoc* LAUN0015

Influence of sodium bicarbonate on growth and metabolite production of the cyanobacterium *Nostoc* LAUN0015

Luis López, Carlos González, Angélica Trompetera, Luis Vargas y Néstor Rosales Loaiza[†]

Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.

Resumen

El cultivo de cianobacterias permite el estudio de su fisiología y composición bioquímica. Para estudiar cómo el bicarbonato modula el crecimiento y producción de metabolitos de *Nostoc* LAUN0015, se estableció un ensayo a diferentes concentraciones (0; 2,5; 5 y 10 mM NaHCO₃), con medio BG-11₀ y bajo condiciones de laboratorio. A 5 mM NaHCO₃ se hallaron los máximos de clorofila *a*, carotenoides, ficocianina, ficoeritrina, proteínas y lípidos con 24,35 ± 0,74; 5,52 ± 1,25; 33,75 ± 1,90; 46,91 ± 5,45; 1420,95 ± 53,05 y 36,11 ± 0,74 µg.mL⁻¹, respectivamente. Se confirma el efecto positivo del bicarbonato sobre el crecimiento de *Nostoc* LAUN0015, lo cual puede ser utilizado como punto de partida en estudios posteriores sobre producción de biomasa.

Palabras clave: *Nostoc*, cultivo, pigmentos, proteínas.

Abstract

Culture of cyanobacteria allows the study of its physiology and biochemical composition. To assess how sodium bicarbonate modulates growth and metabolite production in *Nostoc* LAUN0015, a bioassay at different concentrations (0, 2.5, 5 and 10 mM NaHCO₃) with medium BG-11₀ and under laboratory conditions was established. To 5 mM NaHCO₃ were found higher values of chlorophyll *a*, carotenoids, phycocyanin, phycoerithrin, protein and lipids with 24.35 ± 0.74, 5.52 ± 1.25, 33.75 ± 1.90, 46.91 ± 5.45, 1420.95 ± 53.05 and 36.11 ± 0.74 µg.mL⁻¹,

respectively. It is confirmed the positive effect of bicarbonate on growth of *Nostoc* LAUN0015, which can be used as a starting point for further studies on production of biomass.

Keywords: *Nostoc*, culture, pigments, proteins.

Introducción

Desde hace varias décadas se han producido alarmantes aumentos en los precios de los alimentos a nivel mundial, provocando una crisis alimentaria sobre todo en las regiones más pobres del mundo (Gantar y Svirčev, 2008). Una de las principales causas es la disminución de la calidad de los suelos y las cosechas, aunado con la creciente demanda por la población.

Esta crisis ha promovido la búsqueda de nuevas fuentes de alimento y las más recientes investigaciones han centrado su atención en los microorganismos fotosintéticos, tales como las microalgas y cianobacterias; las cuales poseen una alta calidad nutricional en cuanto a proteínas, carbohidratos y lípidos (Matos *et al.*, 2015).

Las cianobacterias filamentosas y formadoras de heterocistos; tales como *Nostoc* y *Anabaena* son particularmente atractivas para la producción de biomasa, debido a que representan una fuente de proteínas y de una gran variedad de productos químicos y farmacéuticos, y pueden crecer muy bien sin una fuente de nitrógeno en el medio de cultivo, gracias a su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Gantar y Svirčev, 2008; Rosales-Loaiza *et al.*, 2017).

Dentro de los parámetros de cultivo que afectan el crecimiento

se encuentra la disponibilidad de carbono. La principal fuente de estos organismos es el CO_2 . Este compuesto, bajo las condiciones alcalinas de los cultivos, se encuentra por debajo del 1% del total del carbono disponible en los medios de cultivo, siendo en su mayor parte HCO_3^- (Gardner *et al.*, 2012; Beardall y Raven, 2016).

Por lo tanto, conocer el efecto de la disponibilidad de carbono sobre el crecimiento de las cianobacterias, lo cual a escala productiva redituaria en mejoras en los sistemas de cultivo, disminución de costos y aumento de la productividad de biomasa enriquecida, es de suma importancia no sólo fisiológica sino también biotecnológica e industrial. Así, el objetivo de esta investigación fue evaluar el crecimiento y producción de metabolitos de la cianobacteria *Nostoc* LAUN0015 en relación con la presencia de bicarbonato de sodio a escala de laboratorio.

Materiales y métodos

Se utilizó la cianobacteria filamentosas *Nostoc* LAUN0015, proveniente de la colección del Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos de la Universidad del Zulia, Venezuela.

Los cultivos, por triplicado, fueron realizados en un volumen de 300 mL de medio de cultivo BG11₀, sin ninguna fuente de nitrógeno. Fueron

mantenidos bajo condiciones estándar de laboratorio a cuatro concentraciones de bicarbonato de sodio (0, 2,5; 5 y 10 mM NaHCO₃).

La turbidez a 750 nm y la producción de pigmentos fueron determinados cada tres días y los análisis bioquímicos se realizaron durante la fase estacionaria. El contenido de pigmentos se determinó mediante métodos espectrofotométricos, con extracción metanólica para pigmentos liposolubles o por ruptura celular para los hidrosolubles utilizando ecuaciones específicas para cada caso (Marker *et al.*, 1980; Strickland y Parsons, 1972; Bennet y Bogorad, 1973).

El contenido de proteínas se estimó por el método Folin (Lowry *et al.*, 1951), los carbohidratos por el método de fenol-ácido sulfúrico (Kochert, 1978) y los lípidos por carbonización simple (Marsh y Weisntein, 1966). Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo por el paquete SPSS 15.0

Resultados y discusión

Los resultados muestran que *Nostoc* LAUN0015 mejora notablemente su crecimiento en presencia de bicarbonato de sodio. La Figura 1 muestra el crecimiento de la cianobacteria determinado por turbidez, donde puede observarse los mayores valores de los tratamientos con bicarbonato respecto al control, los cuales fueron al menos 2,5 veces más altos ($P < 0,05$). Esto demuestra la alta capacidad que tiene esta cepa de usar otras fuentes de carbono inorgánico, además de CO₂.

Se ha comprobado que en algunas cepas de *Chlorella*, *Haematotoccus*, *Scenedesmus*, *Nannochloropsis* y en la cianobacteria *Euhalothece*, la adición de bicarbonato en el medio de cultivo, es efectiva para el aumento del crecimiento, hasta concentraciones similares a las usadas en este trabajo (Devgoswami *et al.*, 2011; Pancha *et al.*, 2015).

La eficiencia metabólica y la composición bioquímica con el uso de bicarbonato y carbonato será distinta de especie a especie, ya que no todas los géneros y cepas son capaces de usar estas fuentes de igual manera (Devgoswami *et al.*, 2011).

La producción de pigmentos liposolubles mejoró con la presencia de bicarbonato de sodio, con los máximos valores a 5 mM NaHCO₃ (figura 2). Se produjeron $24,35 \pm 0,74$ y $5,52 \pm 1,25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de clorofila *a* y carotenoides totales, respectivamente. La misma tendencia se observó para los pigmentos hidrosolubles, con $33,75 \pm 1,90$ y $46,91 \pm 5,45 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para ficocianina y ficoeritrina, respectivamente ($P < 0,05$).

En microalgas como *Scenedesmus*, *Tetraselmis suecica* y en las varias cepas de *Synechococcus* se ha comprobado un aumento de la producción de pigmentos con la presencia de bicarbonato, especialmente de carotenoides al aumentar la disponibilidad de carbono inorgánico (White *et al.*, 2013; Pancha *et al.*, 2015; Shah *et al.*, 2016).

Con respecto a la producción de proteínas y lípidos, se produjo también los máximos valores a la concentración de 5 mM NaHCO₃, de 1420,95

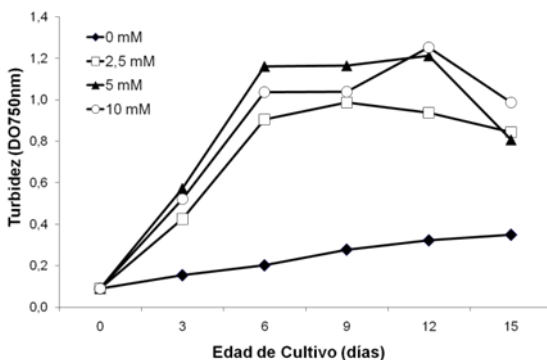


Figura 1. Crecimiento de *Nostoc* LAUN0015 en función del NaHCO_3 .

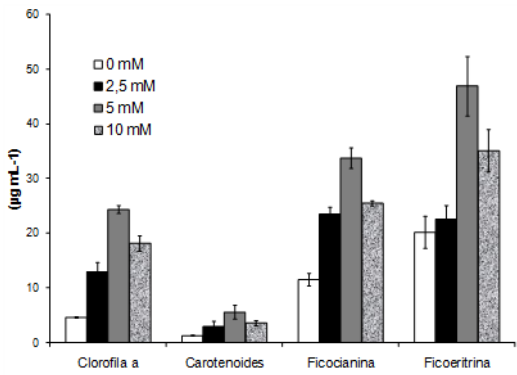


Figura 2. Producción de pigmentos de *Nostoc* LAUN0015 en función del NaHCO_3 .

$\pm 53,05$ y $36,11 \pm 0,74 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Cuadro 1) y con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos ($p < 0,05$). Los carbohidratos por su parte obtuvieron la mayor producción a la máxima concentración probada de 10 mM NaHCO_3 con un valor de $1057,69 \pm 158,40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($p < 0,05$, cuadro 1).

Los datos demuestran que una mayor disponibilidad de carbono

produce un aumento en la producción de biomoléculas, especialmente de carbohidratos y lípidos ya que estos son la principal ruta de almacenamiento de carbono cuando disminuye la relación C:N (Otero y Vicenzini, 2004; Devgoswami *et al.*, 2011; Elumalai *et al.*, 2014).

La producción de proteínas fue similar a la alcanzada por otras microalgas como *Euglena*, *Botryococcus* y *Scenedesmus* expuestas

Cuadro 1. Producción de metabolitos ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) de *Nostoc* LAUN0015 en función del NaHCO_3 .

	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos
0 mM	1021,80 \pm 28,83	997,79 \pm 9,40	17,70 \pm 1,91
2,5 mM	1105,13 \pm 32,63	596,76 \pm 43,39	26,77 \pm 2,89
5 mM	1420,95 \pm 53,05	780,56 \pm 33,26	36,11 \pm 0,74
10 mM	1126,80 \pm 74,29	1057,69 \pm 158,40	31,86 \pm 1,88

a la presencia de bicarbonato en el medio de cultivo. Mientras que para estas mismas cepas y otras de *Synechococcus*, obtuvieron valores de carbohidratos y lípidos mucho mayores de los obtenidos en este estudio (Elumalai *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2016).

Un aumento de lípidos con la adición de bicarbonato de sodio ha sido observado en cepas de *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Haematococcus*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Chlamydomonas* y *Phaeodactylum* (Devgoswami *et al.*, 2011; Gardner *et al.*, 2013; White *et al.*, 2013). Aunque los estudios sobre la producción de carbohidratos con fuentes adicionales de carbono no son comunes, se ha comprobado en *Chlamydomonas reinhardtii* el aumento del almidón intracelular de cerca de 10 veces (Gardner *et al.*, 2013).

Conclusión

Los resultados verifican el efecto positivo de la adición de una fuente de carbono inorgánico como el bicarbonato, no sólo sobre el crecimiento sino también sobre la producción de metabolitos, especialmente proteínas

y carbohidratos. Por lo tanto, el uso de esta sal favorece la producción de biomasa con una excelente composición bioquímica para una gran variedad de fines biotecnológicos.

Literatura citada

- Beardall, J. y J. Raven. 2016. Carbon acquisition by microalgae. pp. 89-99. In: Borowitzka, M., J. Beardall, J. Raven (Eds.). The physiology of microalgae. Springer International Publishing, Suiza.
- Bennet, A. y L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.* 58: 419-435.
- Devgoswami, C., M. Kalita, J. Talukdar, R. Bora y P. Sharma. 2011. Studies on the growth behavior of *Chlorella*, *Haematococcus* and *Scenedesmus* sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. *African J. Biotechnol.* 10(61): 13128-13138.
- Elumalai, S., G. Jegan, G. Saravanan, T. Sangeetha, D. Roop Singh. 2014. Studies on growth and biochemical analysis of three microalgal strains on different molar concentration of sodium bicarbonate. *Indian J. Appl. Res.* 4: 60-62.
- Gantar, M. y Z. Svirčev. 2008. Microalgae and cyanobacteria: food for thought. *J. Phycol.* 44: 260-268.

- Gardner, R., K. Cooksey, F. Mus, R. Macur, K. Moll, E. Eustance, R. Carlson, R. Gerlach, M. Fields y B. Peyton. 2012. Use of sodium bicarbonate to stimulate triacylglycerol accumulation in the chlorophyte *Scenedesmus* sp. and the diatom *Phaeodactylum tricornerutum*. J. Appl. Phycol. 24: 1311-1320.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. pp. 95-97. In: Hellebust, J. y J. Craigie (Eds.). Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press. Cambridge, R.U.
- Lowry, O., H. Rosenbrough, A. Farr y R. Randall. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Biochem. 193: 265-275.
- Marker, A., E. Nusch, H. Rai y B. Riemann. 1980 The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standarization of methods: conclusions and recommendations. Arch. Hydrobiol. Egebn. Limnol. 14: 91-106.
- Marsh, J. y D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination lipids. J. Lipid Res. 7: 574-576.
- Matos, A., R. Feller, E. Siegel Moecke, J. de Oliveira, A. Furigo, R. Bianchini y E. Sant'Anna. 2015. Chemical characterization of six microalgae with potential utility for food application. J. Am. Oil Chem. Soc. 42(1): 81-92.
- Otero, A. y M. Vincenzini. 2004. *Nostoc* (Cyanophyceae) goes nude: extracellular polysaccharides serve as a sink for reducing power under unbalanced C/N metabolism. J. Phycol. 40: 74-81.
- Pancha, I., K. Chokshi, T. Ghosh, C. Paliwal, R. Maurya y S. Mishra. 2015. Bicarbonate supplementation enhanced biofuel production potential as well as nutritional stress mitigation in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. Biores. Technol. 193: 315-323.
- Rosales-Loaiza, N., C. Aiello-Mazzarri, L. Gómez, B. Arredondo and E. Morales. 2017. Nutritional quality of biomass from four strains of *Nostoc* and *Anabaena* grown in batch cultures. Int. Food Res. J. 24: 2212-2219.
- Shah, M., A. Kasprzak, Y. Liang and M. Daroch. 2016. Growth kinetics, phycocyanin and lipid accumulation of thermophilic cyanobacteria under bicarbonate and saline conditions. New Biotechnol. 33: 165-166.
- Strickland, J. and T. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Board Can. Bull. 167. 310 p.
- White, D., A. Pagarette, P. Rooks and S. Ali. 2013. The effect of sodium bicarbonate supplementation on growth and biochemical composition of marine microalgae cultures. J. Appl. Phycol. 25: 153-165.