

Bol. Centro Invest. Biol. 41(1): 1-14

**RESPUESTA DE LA CIANOBACTERIA
SYNECHOCYSTIS MINUSCULA A SUSTRATOS ORGÁNICOS
EN CONDICIONES MIXOTRÓFICAS**

LORENA JONTE, NÉSTOR ROSALES, MAYELA YÉPEZ¹,
BELTRÁN BRICEÑO Y EVER MORALES²

*Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, Departamento de Biología,
Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo,
Estado Zulia, Venezuela*

¹*Departamento de Biología, Facultad de Educación y Humanidades,
Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela*

²*Autor de correspondencia: Universidad del Zulia, Facultad Experimental de
Ciencias, División de Estudios para Graduados, Av. Universidad, Edificio
Grano de Oro 2^{do} Piso, Apartado 526
Telefax: (0261) 7598107, everm@iamnet.com*

Resumen. Se presentan resultados sobre la influencia de diferentes concentraciones de acetato de sodio, agua residual y fracción soluble de gallinaza (FSG) en el crecimiento, contenidos de clorofila *a*, carotenoides y proteínas de *Synechocystis minuscula*, cultivada durante 30 días en condiciones mixotróficas. Todos los bioensayos por triplicado fueron mantenidos a una temperatura de 28 ± 2 °C, aireación constante, fotoperiodo 12:12 h e iluminación de $156 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se utilizó como control, cultivos autotróficos con agua potable, enriquecida con medio ALGAL a 8 mM de NaNO_3 . El mayor crecimiento se alcanzó en cultivos autotróficos, con valores 1,26 y 2,3 veces superiores a los obtenidos con agua residual y FSG, respectivamente. Este efecto inhibitorio también se observó en los contenidos de pigmentos y proteínas. El acetato de sodio no influenció el crecimiento ni el contenido de pigmentos de la cianobacteria, pero incrementó el contenido de proteínas. Los resultados demuestran que *Synechocystis minuscula* parece ser exigente en requerimientos nutricionales; por lo cual, su crecimiento, contenido de pigmentos y proteínas están condicionados a la concentración de nutrientes en el medio de cultivo. En condiciones mixotróficas con agua residual y FSG, fue evidente una baja tasa de crecimiento y un marcado efecto de clorosis celular. *Recibido: 01 marzo 2006, aceptado: 22 febrero 2007.*

Palabras clave: Cultivos mixotróficos, cultivos autotróficos, *Synechocystis minuscula*, agua residual, gallinaza, acetato, clorosis, cianobacteria.

RESPONSE OF CYANOBACTERIA (*SYNECHOCYSTIS MINUSCULA*)
TO ORGANIC SUBSTRATES IN MIXOTROPHIC CONDITIONS

Abstract. We determined the effect of different concentrations of sodium acetate, wastewater and liquid chicken manure on growth, chlorophyll a, carotenoids and protein content of *Synechocystis minuscula*, cultured over 30 days in mixotrophic conditions. All bioassays were done in triplicate, and maintained at $28 \pm 2^\circ\text{C}$, with constant aeration, a 12:12 h photoperiod, and an irradiance of $156 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Control cultures were kept under autotrophic conditions in tap water enriched with 8 mM NaNO_3 ALGAL medium. Highest cell density occurred in autotrophic cultures, with values 1.26 times higher in wastewater, and 2.30 times higher in liquid chicken manure. This inhibitory effect was also observed in pigments and protein content. Sodium acetate did not influence pigment growth and content, but did enhance protein content. *Synechocystis minuscula* appears to need specific nutritional requirements. Therefore, its growth, and pigment and protein content are regulated by the amount of nutrients in the culture medium. Under mixotrophic conditions with wastewater and soluble chicken manure, low growth rate, as well as cell chlorosis, was clearly evident. *Received: 01 March 2006, accepted: 22 February 2007.*

Key words: Mixotrophic cultures, autotrophic cultures, *Synechocystis minuscula*, wastewater, chicken manure, acetate, chlorosis, cyanobacteria.

INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias crecen en una amplia diversidad de ambientes y poseen la capacidad de utilizar diferentes sustratos orgánicos como fuente de carbono y de energía, además de CO_2 y agua (Tandeau de Marsac y Houmard 1993). Su alta tasa de crecimiento, el elevado contenido de proteínas, de pigmentos y un metabolismo versátil son de considerable valor en biotecnología, siendo de gran interés para la fotoproducción de compuestos de utilidad comercial, alimentaria, agrícola y farmacológica (Fábregas *et al.* 1998) y en la recuperación de ambientes impactados utilizando cianobacterias como biosistemas alternativos en el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales (Romero *et al.* 2000).

Los cultivos de cianobacterias son típicamente fotoautotróficos; sin embargo se presentan alternativas de cultivos en condiciones mixotróficas,

donde la asimilación oxidativa de los compuestos orgánicos y de CO₂ a través de las reacciones fotosintéticas ocurren simultáneamente, resultando en una estimulación del crecimiento comparada con otras condiciones de cultivo (Lee y Erickson 1987).

La selección de sustratos orgánicos complejos de origen vegetal y animal representa en la actualidad una alternativa como fuentes de nutrientes para el diseño de medios de cultivos (Laliberté y De la Noüe 1993). El uso de los productos de excretas de pollos, gallinas (gallinaza) y residual de productos pesqueros, han dado excelentes resultados como medios de cultivo enriquecidos con nitrógeno y fosfato orgánicos para la obtención de altos valores de biomasa a partir de *Chroomonas* sp. y *Chlorella* sp. (Bermúdez y Morales 2002, Romero *et al.* 2000a).

La eficiencia de los cultivos mixotróficos para la producción de biomasa y metabolitos de importancia comercial como clorofila, carotenoides y proteínas empleando acetato de sodio ha sido descrita en diversas microalgas como *Chroomonas* sp. y *Chlorella* sp. (Ortega *et al.* 2004, Bermúdez *et al.* 2003). También se han reportado resultados positivos en cultivos de *Tetraselmis suecica* en fracción soluble de papa (*Solanum tuberosum*) (Fábregas *et al.* 1997) y para la remoción de nutrientes de aguas residuales con *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. (Chacón *et al.* 2004).

Por tales motivos, reviste de gran interés evaluar la respuesta de la cianobacteria autóctona *Synechocystis minuscula*, en cultivos mixotróficos empleando como fuentes de carbono orgánico agua residual urbana, fracción soluble de gallinaza (FSG) y acetato de sodio.

MATERIAL Y MÉTODOS

La cianobacteria *Synechocystis minuscula* fue aislada del sistema de tratamiento de lagunas de estabilización del Centro de Investigación del Agua de la Facultad de Ingeniería, ubicado en el núcleo agropecuario de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela; mediante las técnicas de diluciones seriadas y rayado en placa. Su identificación se realizó de acuerdo a las claves taxonómicas de Komárek y Anagnostidis (1999). *Synechocystis minuscula* se caracteriza por ser unicelular, aislada o en parejas, de coloración verde azulada y con un tamaño de $2,15 \pm 0,13$ μm de diámetro.

Synechocystis minuscula se cultivó por triplicado en un sistema discontinuo con un volúmen de 200 mL. Los cultivos se iniciaron a una

absorbancia de 0,08 (750 nm), equivalente a una densidad celular de 20×10^6 cel mL⁻¹ y fueron mantenidos a una temperatura de 28 ± 2 °C, aireación constante de 5 mL s⁻¹, fotoperiodo luz/oscuridad de 12:12 h, e iluminación de 156 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ provista por lámparas fluorescentes en posición lateral al cultivo, durante 30 días.

Los cultivos en condiciones autotróficas se utilizaron como control y se realizaron con agua potable enriquecida con medio ALGAL a 8 mM de NaNO₃ (Fábregas *et al.* 1984). Para los bioensayos en condiciones mixotróficas se empleó agua residual urbana, fracción soluble de gallinaza (FSG) y acetato de sodio.

Cultivos con agua residual urbana: para realizar estos cultivos se utilizó agua del efluente del sistema “A” de las lagunas de estabilización del Centro de Investigación del Agua, previamente filtrada a través de membranas Whatman de nitrato de celulosa de 47 mm de diámetro y poros de 0,45 μm .

Cultivos en Fracción soluble de gallinaza (FSG): se realizaron cultivos a una concentración de 18% v/v de gallinaza, preparados a partir de una solución stock de gallinaza al 5% p/v (Bermúdez y Morales 2002).

Cultivos con acetato de sodio: a partir de una solución stock estéril de acetato de sodio 0,5 M se realizaron cultivos de 1, 5 y 10 mM de acetato de sodio enriquecidos con ALGAL a 8 mM de NaNO₃.

El crecimiento y el contenido de pigmentos de la cianobacteria se evaluaron cada tres días y hasta el final del ensayo, mediante recuento celular y extracción metanólica respectivamente. Las estimaciones de crecimiento se realizaron en cámara de Neubauer mejorada de 0,1 mm de profundidad. En fase exponencial se determinó la tasa de crecimiento (μ) y el tiempo de duplicación (Lobban *et al.* 1988). El contenido de pigmentos se determinó a partir de biomasa fresca. La concentración de clorofila *a* y carotenoides se obtuvieron a partir de las ecuaciones propuestas por Marker *et al.* (1980) y Strickland y Parsons (1972) respectivamente. El contenido de proteínas en fase estacionaria, se determinó por el método de Lowry *et al.* (1951) modificado por Herbert *et al.* (1971). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa SPSS 10.0 y se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para cada una de las variables estudiadas, la comparación se realizó con base a los datos obtenidos en fase estacionaria. Para la determinación de diferencias significativas se utilizó el método de comparaciones múltiples de Scheffé.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CULTIVOS EN AGUAS RESIDUALES URBANAS

La mayor velocidad de crecimiento y el menor tiempo de duplicación se produjo con el agua residual. Sin embargo, los cultivos autotróficos alcanzaron valores más elevados de densidad celular de $149,37 \pm 9,7 \times 10^6$ cel mL⁻¹ ($P < 0,05$), siendo 1,26 veces superiores a la alcanzada con el agua residual, sugiriendo una preferencia inicial por los nutrientes del medio inorgánico, presumiblemente por el amonio (Tabla 1, Fig. 1), lo que implica un ahorro energético por parte de la célula (Brewer y Golman 1976).

Tabla 1. Densidad celular durante fase estacionaria ($\times 10^6$ cel.mL⁻¹) y cinética de crecimiento de *Synechocystis minuscula* en agua residual (promedio \pm DE).

	Control autotrófico	Agua residual
DC	149,37 \pm 9,70*	118,94 \pm 8,80
μ	0,26 \pm 0,01	0,42 \pm 0,02
Td	2,72 \pm 0,06	1,65 \pm 0,08
pH final	10,78 \pm 0,02	8,65 \pm 0,05

μ = Velocidad de crecimiento (div días⁻¹), Td = Tiempo de duplicación (días⁻¹), *Denota diferencia significativa, DE = Desviación estándar.

Los contenidos de clorofila *a* y proteínas, tanto celular como por volumen de cultivo en agua residual, fueron significativamente más bajos que en el cultivo autotrófico ($P < 0,05$), mientras que los valores en el contenido de carotenoides no mostraron diferencias significativas entre sí (Tabla 2), lo que confirma que *S. minuscula* no induce carotenogénesis con agua residual y sólo denotan un estado de clorosis durante la fase estacionaria. Canto de Loura *et al.* (1987) han descrito en cultivos de *Pseudanabaena* sp. M2 y en *Oscillatoria splendida* L3 el aumento de la concentración de carotenoides y una disminución significativa en la concentración de ficocianina y en la síntesis de clorofila. Bajo estas condiciones, los cultivos pierden su coloración verde-azulada y se tornan amarillentos ya que, en el caso de las ficobiliproteínas, éstas son degradadas para ser utilizadas como fuente de nitrógeno (Sauer *et al.* 1999). En contraste, los resultados obtenidos por Chacón *et al.* (2004) con las microalgas *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. aisladas de la represa de Tulé (estado Zulia, Venezuela), obtuvieron una producción de pigmentos y proteínas, significativamente superior en cultivos con agua residual con respecto al control autotrófico.

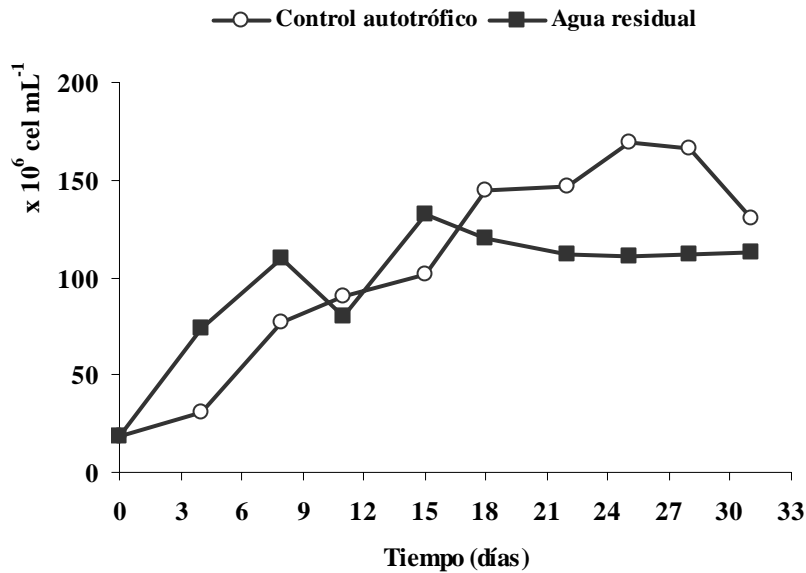


Figura 1. Crecimiento de *Synechocystis minuscula* en agua residual urbana.

Tabla 2. Influencia del agua residual en el contenido de pigmentos y proteínas de *Synechocystis minuscula* (promedio \pm DE).

	Clorofila <i>a</i>		Carotenoides		Proteínas	
	$\mu\text{g mL}^{-1}$	fg cel^{-1}	$\mu\text{g mL}^{-1}$	fg cel^{-1}	$\mu\text{g mL}^{-1}$	pg cel^{-1}
Control	6,07	33,13	2,17	12,95	336,93	2,66
autotrófico	($\pm 0,9$)*	($\pm 2,7$)*	($\pm 0,3$)*	($\pm 1,3$)	($\pm 15,9$)*	($\pm 0,1$)*
Agua	3,32	29,22	1,66	14,06	198,5	1,91
residual	($\pm 0,2$)	($\pm 3,2$)	($\pm 0,2$)	($\pm 1,6$)	($\pm 6,2$)	($\pm 0,1$)

*Denota diferencia significativa, DE = Desviación estándar.

Estos resultados revelan que *S. minuscula* puede crecer en agua residual; sin embargo, es exigente en cuanto a sus requerimientos nutricionales, prefiriendo sustratos más simples y asimilables para su crecimiento, los cuales no están disponibles en el agua residual, como lo reportan Chacón *et al.* (2004), quienes encontraron una disminución del 8 y 13% en el contenido de fósforo y nitrógeno amoniacal respectivamente, en el agua residual filtrada con respecto al agua residual cruda.

CULTIVOS CON FRACCIÓN SOLUBLE DE GALLINAZA (FSG)

De acuerdo a las condiciones de cultivo establecidas, los cultivos autotróficos a 8mM de nitrato alcanzaron la mayor densidad celular de $363,39 \pm 25,22 \times 10^6$ cel mL⁻¹, con diferencias significativas ($P < 0,05$); siendo 2,3 veces superiores a las obtenidas con la fracción soluble de gallinaza, con valores de $144,37 \pm 10,13 \times 10^6$ cel mL⁻¹. Asimismo, la velocidad de crecimiento y el tiempo de duplicación también fueron menores con la FSG (Tabla 3, Fig. 2), lo que parece corresponder a la presencia de algún factor inhibitorio o a la precipitación de nutrientes por efecto de la esterilización en el autoclave. La limitación del crecimiento ante bajas concentraciones de nitrato se ha reportado en experiencias con otras cianobacterias como *Synechococcus* sp. PCC7002 (Sakamoto y Bryant 1998) y *Anabaena* sp. PCC7120 (Loreto 2002).

Tabla 3. Densidad celular en fase estacionaria ($\times 10^6$ cel mL⁻¹) y cinética de crecimiento de *Synechocystis minuscula* en Fracción Soluble de Gallinaza (FSG) (promedio \pm DE).

	Control autotrófico	FSG
DC	$363,39 \pm 25,22^*$	$157,84 \pm 12,35$
μ	$0,74 \pm 0,02^*$	$0,52 \pm 0,01$
Td	$0,95 \pm 0,03^*$	$1,32 \pm 0,03$
pH final del medio	$10,78 \pm 0,03^*$	$8,75 \pm 0,01$

μ = Velocidad de crecimiento (div d⁻¹), Td = Tiempo de duplicación (d⁻¹), *Denota diferencia significativa, DE = Desviación estándar.

Este efecto inhibitorio también se reflejó en una disminución del 71,40% en el contenido de clorofila *a* por volumen en los cultivos de FSG, en relación con el cultivo autotrófico de 8 mM de nitrato, mostrando un ligero efecto de clorosis (Tabla 4). Es posible que *S. minuscula* haya empleado el nitrógeno de las ficobiliproteínas para continuar la síntesis de proteínas, esenciales para el mantenimiento celular y el crecimiento ante la deficiencia de nitrógeno; como generalmente ocurre en casos de estrés por deficiencia de nitrógeno en el medio (Sidler 1994).

Sin embargo, el mayor contenido celular de proteínas de $4,04 \pm 0,19$ pg cel⁻¹ (Tabla 4), se obtuvo en los cultivos con FSG, probablemente debido a la tendencia de las células en aumentar la talla y acumular metabolitos en fase

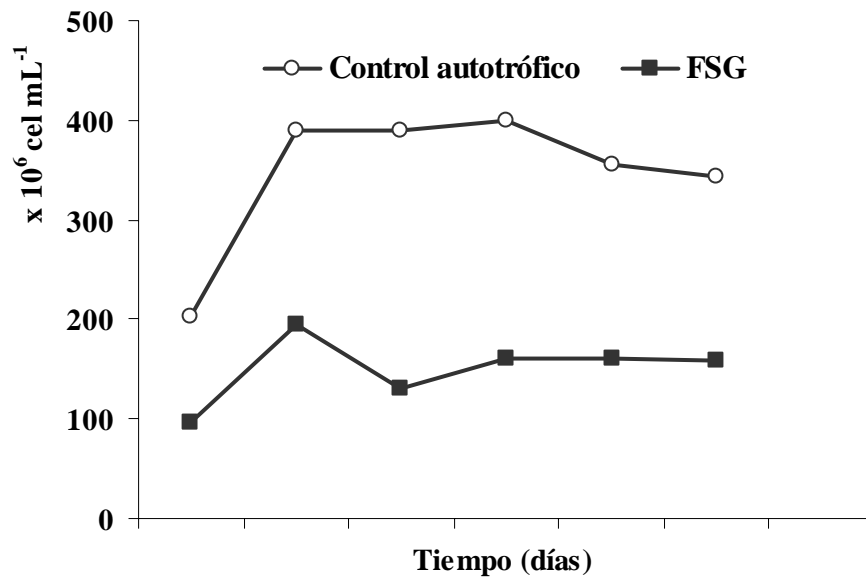


Figura 2. Influencia de la fracción soluble de gallinaza (FSG) en el crecimiento de *Synechocystis minuscula*.

Tabla 4. Influencia de la fracción soluble de gallinaza (FSG) en el contenido de pigmentos y proteínas de *Synechocystis minuscula* (promedio \pm DE).

		FSG	Control Autotrófico
Clorofila a	$\mu\text{g mL}^{-1}$	$4,63 \pm 0,29$	$16,19 \pm 4,63^*$
	fg cel^{-1}	$28,84 \pm 2,05$	$44,18 \pm 2,91^*$
Carotenoides	$\mu\text{g mL}^{-1}$	$2,7 \pm 0,66$	$7,13 \pm 0,54^*$
	fg cel^{-1}	$14,8 \pm 0,96$	$20,95 \pm 0,95^*$
Proteínas	$\mu\text{g mL}^{-1}$	$624,64 \pm 10,1$	$853,22 \pm 10,1^*$
	pg cel^{-1}	$4,04 \pm 0,19^*$	$2,5 \pm 0,03$

*Denota diferencia significativa, DE = Desviación estándar.

estacionaria cuando registran una baja velocidad de crecimiento, igualmente la condición no axénica de los cultivos pudo favorecer el incremento de proteínas por carga bacteriana acompañante ante la presencia de compuestos orgánicos (Hadden-Carter y Storr 1984).

La disminución del crecimiento en los cultivos mixotróficos con agua residual y FSG estuvo acompañada de una ligera disminución del pH, que al parecer contribuye con la inhibición del crecimiento. Fábregas *et al.* (1997), también observaron un efecto inhibitorio por disminución del pH en cultivos de *Tetraselmis suecica* con fracción soluble de *Solanum tuberosum* al 50%.

CULTIVOS CON ACETATO DE SODIO

Laliberté y De la Noüe (1993) y Bermúdez *et al.* (2003) han determinado que el uso de acetato de sodio estimula el crecimiento de ciertas microalgas y cianobacterias. Los resultados obtenidos en este estudio, muestran que el acetato produjo una ligera disminución en el crecimiento de *S. minuscula* (Fig. 3), pero sin diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los valores de densidad celular en fase estacionaria de las concentraciones de 1, 5 y 10 mM de acetato y el control autotrófico, con valores de $245,46 \pm 23,52$; $224,23 \pm 26,94$; $230,76 \pm 27,4$ y $229,95 \pm 17,43 \times 10^6 \text{ cel mL}^{-1}$, respectivamente (Tabla 5). No obstante, se detectó un aumento de la velocidad de crecimiento en función de la concentración de acetato. Similares resultados se reportan para *Dunaliella viridis*, con una disminución del crecimiento en la fase estacionaria en los

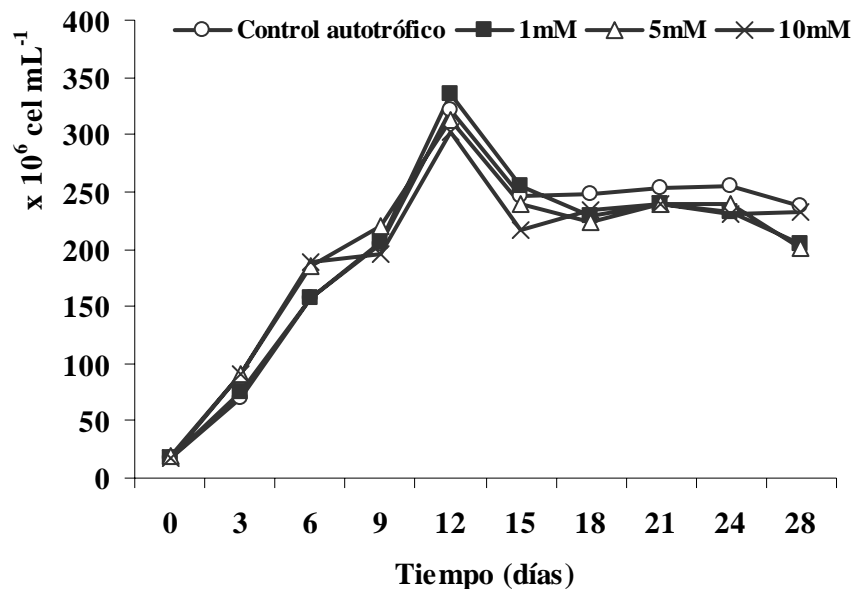


Figura 3. Crecimiento de *Synechocystis minuscula* en cultivos mixotróficos con acetato de sodio.

Tabla 5. Densidad celular en fase estacionaria ($\times 10^6$ cel mL⁻¹) y cinética de *Synechocystis minuscula* con acetato de sodio (promedio \pm DE).

	Control Autotrófico	1mM	5mM	10mM
DC ^e	245,5 \pm 23,5	224,2 \pm 26,9	230,8 \pm 27,5	229,9 \pm 17,4
μ	0,43 \pm 0,04	0,48 \pm 0,03	0,52 \pm 0,01*	0,52 \pm 0,01*
Td	1,62 \pm 0,17	1,43 \pm 0,09	1,33 \pm 0,04	1,33 \pm 0,04
pH final del medio	9,66 \pm 0,02	9,54 \pm 0,06	9,66 \pm 0,01	10,17 \pm 0,03

μ = Velocidad de crecimiento (div d⁻¹), Td = Tiempo de duplicación (d⁻¹), *Denota diferencia significativa, DE = Desviación estándar.

cultivos mixotróficos, posiblemente por la inhibición de algún proceso fisiológico o la limitación de algún nutriente esencial por las concentraciones de acetato empleadas (Stein 1975, Avendaño 2002).

Los contenidos de clorofila *a* y de carotenoides no mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$), indicando que la síntesis de los mismos fue independiente de la concentración de acetato en el medio (Tabla 6). En cambio, Bermúdez *et al.* (2003) encontraron que los contenidos de clorofila *a* y de carotenoides de la microalga *Chroomonas* sp., al parecer disminuyen en condiciones mixotróficas con acetato. La disminución de los contenidos de clorofila y carotenoides también han sido reportados por Lewitus y Caron (1991) al adicionar a los cultivos compuestos orgánicos como glucosa, glicerol o etanol, indicando un efecto inhibitorio de la síntesis de clorofila en relación a las células autotróficas. Sin embargo, Kang *et al.* (2004) reportaron un incremento en el crecimiento y estimulación de la tasa fotosintética de *Synechococcus* sp. en cultivos mixotróficos con 3 g L⁻¹ de glucosa y 1g L⁻¹ de NaHCO₃. Además, en *Chlorella* sp., concentraciones de acetato hasta 10 mM estimularon la producción de pigmentos en cultivos no axénicos y axénicos (Ortega *et al.* 2004).

El contenido de proteínas fue directamente proporcional a la concentración de acetato, reportándose los máximos valores ($P < 0,05$) a la mayor concentración de acetato empleada (10mM), tanto por volumen de cultivo como en contenido celular, con valores de 483,11 \pm 3,39 μ g mL⁻¹ y 1,73 \pm 0,73 pg cel⁻¹, respectivamente (Tabla 6). Cabe destacar que la condición no axénica de los cultivos, pudo favorecer el incremento de proteínas por carga bacteriana ante la adición de acetato. En cultivos mixotróficos de mi-

Tabla 6. Influencia del acetato de sodio en el contenido celular de pigmentos y proteínas de *Synechocystis minuscula* (promedio \pm DE).

	Clorofila <i>a</i>		Carotenoides		Proteínas	
	$\mu\text{g mL}^{-1}$	fg cel^{-1}	$\mu\text{g mL}^{-1}$	fg cel^{-1}	$\mu\text{g mL}^{-1}$	pg cel^{-1}
Control	7,96	33,25	3,93	18,74	341,86	1,60
Autotrófico	($\pm 0,65$)	($\pm 4,92$)	($\pm 0,68$)	($\pm 3,76$)	($\pm 19,16$)	($\pm 0,33$)
1mM	7,67	34,94	4,61	20,46	351,39	1,62
	($\pm 0,42$)	($\pm 5,71$)	($\pm 0,66$)	($\pm 4,66$)	($\pm 22,47$)	($\pm 0,44$)
5mM	6,94	34,15	4,36	20,37	388,47	1,71
	($\pm 1,01$)	($\pm 8,51$)	($\pm 0,84$)	($\pm 4,05$)	($\pm 3,59$)	($\pm 0,09$)
10mM	7,60	31,49	4,74	19,24	483,11	1,73
	($\pm 1,22$)	($\pm 6,44$)	($\pm 0,81$)	($\pm 4,60$)	($\pm 3,39$)*	($\pm 0,73$)*

*Denota diferencia significativa, DE = Desviación estándar.

croorganismos fotosintéticos no axénicos, el crecimiento de la flora bacteriana asociada fue estimulada por la fuente alternativa de carbono en el medio, en detrimento de los primeros, debido a que se establece una competencia interespecífica entre ambos organismos (Ortega *et al.* 2004).

CONCLUSIONES

El aumento en el crecimiento y el contenido de pigmentos de *Synechocystis minuscula* parece estar más relacionado con condiciones autotróficas que con condiciones mixotróficas en presencia de compuestos orgánicos simples y complejos como fuente de nutrientes. A pesar del hecho de que esta cianobacteria fue aislada de un sistema de tratamiento de aguas residuales, este tipo de desecho parece tener un efecto inhibitorio en cuanto a crecimiento y síntesis de pigmentos, lo que conlleva a la clorosis de los cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ), Maracaibo, a través del proyecto 1992-99 y al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), Caracas, por medio del proyecto S1-2000000786 por el co-financiamiento para la realización de este estudio.

LITERATURA CITADA

- AVENDAÑO, D. 2002. Producción de pigmentos y proteínas en cultivos discontinuos y semicontinuos de la microalga *Dunaliella viridis*. Trabajo Especial de Grado, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, 126 pp.
- BERMÚDEZ, J. Y E. MORALES. 2002. Fracción soluble de gallinaza como fuente de nutrientes para el cultivo de la microalga marina *Chroomonas* sp. Resúmenes LII Convención Anual de AsoVAC, Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela. p. 186.
- BERMÚDEZ, J., G. SANCHEZ, G. FUENMAYOR Y E. MORALES. 2003. Efecto de la fuente de carbono sobre el crecimiento y producción de pigmentos de la microalga marina *Chroomonas* sp. *Ciencia* 11: 265–269.
- BREWER, P. Y J. GOLMAN. 1976. Alkalinity changes generated by phytoplankton growth. *Limnol. Oceanogr.* 21: 108–117.
- CANTO DE LOURA, I., J. DUBACQ Y J. THOMAS. 1987. The effect of nitrogen deficiency on pigments and lipids of cyanobacteria. *Plant Physiol.* 83: 838–843.
- CHACÓN, C., C. ANDRADE, C. CÁRDENAS, I. ARAUJO Y E. MORALES. 2004. Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. *Bol. Centro Invest. Biol.* 38: 94–106.
- FÁBREGAS, J., E. MORALES, D. GARCIA, B. CABEZAS Y A. OTERO. 1997. The soluble fraction of *Solanum tuberosum* enhances growth and pigmentation of the microalga *Tetraselmis suecica* under photoheterotrophic conditions. *Biores. Technol.* 59: 263–266.
- FÁBREGAS, J., E. MORALES, J. ARÁN Y A. OTERO. 1998. Germinated *Solanum tuberosum*: An agricultural product for marine microalgae culture. *Biores. Technol.* 66: 19–24.
- FÁBREGAS, J., J. ABALDE, C. HERRERO, B. CABEZAS Y M. VEIGA. 1984. Growth of marine microalgae *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentration. *Aquaculture* 42: 207–215.
- HADDEN-CARTER, P. Y J. STORR. 1984. Effects of acidic pH, light and temperature on growth, morphology and photosynthesis of a green and a blue-green alga. *Proceedings Second New York State Symposium on Atmospheric Deposition*, pp. 217–226.
- HERBERT, D., P. PHIPPS Y R. J. STRANGE. 1971. Chemical analysis of microbial cells. Pp. 209–344, *en* J. R. Norris y D. W. Ribbons (eds.), *Methods in microbiology*, Vol. 5B. Academy Press, New York.

- KANG, R., J. WANG, D. SHI, W. CONG, Z. CAI Y O. FAN. 2004. Interactions between organic and non-organic carbon sources during mixotrophic cultivation of *Synechococcus* sp. *Biotechnol. Lett.* 26: 1429–1432.
- KOMÁREK, J Y K. ANAGNOSTIDIS. 1999. Cyanoprokaryota: 1. Teil: Chroococcales. *En* H. Ettl, G. Gärtner, H. Heynig y D. Mollenhauer (eds.), Süßwasserflora Von Mitteleuropa. Editorial Gustav Fisher, Alemania, 348 pp.
- LALIBERTÉ, G. Y J. DE LA NOÛE. 1993. Auto- hetero-, and mixotrophic growth of *Chlamydomonas humicola* on acetate. *J. Phycol.* 29: 612–620.
- LEE, H. Y L. ERICKSON. 1987. Theoretical and experimental yields for photoautotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic growth. *Biotechnol. Bioengin.* 29: 476–481.
- LEWITUS, A. Y D. CARON. 1991. Relative effects of nitrogen and phosphorus depletion and lighth intensity on the pigmentation, chemical composition and volume of *Pyrenomonas salina* (Chrytophyceae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 61: 171–181.
- LOBBAN, C., D. CHAPMAN Y B. KREMER. 1988. Experimental phycology: a laboratory manual. Cambridge Univ. Press, New York, 295 pp.
- LORETO, C. 2002. Optimización de la producción de biomasa y de metabolitos de interés económico de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120. Trabajo Especial de Grado, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, 115 pp.
- LOWRY, O., H. ROSEBROUGH, 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.* 14: 91–106.
- ORTEGA, J., R. MORONTA Y E. MORALES. 2004. Influencia del acetato sobre el crecimiento y contenido de pigmentos de la microalga *Chlorella* sp. *Ciencia* 12: 25–31.
- ROMERO, T., H. MIYASHITA Y N. KURANO. 2000. Crecimiento y composición bioquímica de *Chlorella* sp. cultivada en residual pesquero. *Bol. Centro Invest. Biol.* 34: 93–110.
- SAKAMOTO, T. Y D. BRYANT. 1998. Growth at low temperature causes nitrogen limitation in cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002. *Arch. Microbiol.* 169: 10–19.
- SAUER, J., G. MARGIT Y K. FORCHHAMMER. 1999. Nitrogen starvation in *Synechococcus* PCC 7942: involvement of glutamine synthetase and NtcA in phycobiliprotein degradation and survival. *Arch. Microbiol.* 172: 247–255.
- SIDLER, W. 1994. Phycobilisome and phycobiliprotein structures. Pp. 139-216, *en* D. Bryant (ed.), *The molecular biology of cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

- STEIN, J. 1975. Culture methods and growth measurements. Cambridge Univ. Press, 365 pp.
- STRICKLAND, J. Y T. PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167 (2 ed.), Ottawa, Canadá, 310 pp.
- TANDEAU, D. E., N. MARSAC Y J. HOUMARD. 1993. Complementary chromatic adaptation: physiological conditions and action spectra. *Methods Enzymol.* 167: 318-328.