



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE PESQUERÍA Y ZOOLOGÍA

Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina*
(Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo

TESIS

Para optar por el Título Profesional de Licenciada en
Biología - Pesquería

Autora:

Br. Angie Julissa Lisbeth Navarro Dávila

Asesora:

MSc. María Victoria Lora Vargas

Lambayeque - Perú

2023

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE PESQUERÍA Y ZOOLOGÍA

Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina*
(Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo

TESIS

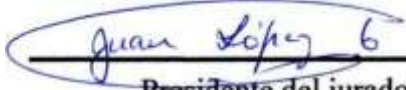
Para optar por el Título Profesional de Licenciada en Biología - Pesquería

Presentada por:

Br. Navarro Dávila Angie Julissa Lisbeth

Aprobada por:

Dr. Segundo Juan López Cubas


Presidente del jurado

MSc. Clara Aurora Cueva Castillo


Secretaria

Lic. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca


Vocal

MSc. María Victoria Lora Vargas


Asesora

DEDICATORIA

*A Dios, como mi guía mi camino y mi fuerza
A mi madre Rosa, como mi apoyo incondicional
Mis tías Floria y Lucy, como un impulso a seguir
A mis abuelos Liduvinda y Dilton, como las
personitas que me inculcaron valores y siempre
estuvieron para mí*

Navarro Dávila, Angie Julissa Lisbeth

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por ser mi guía espiritual en este camino llamada vida.

A mi madre Sanely Rosa Dávila Perales, que a pesar de todos los obstáculos que se presentaron en cierto momento estuvo ahí para mí como nadie lo ha hecho ni lo hará en la vida, es por ello que siempre hemos salido y saldremos victoriosas, ante todo.

A mis abuelos Liduvinda y Dilton, quienes con su sabiduría y amor que los caracteriza han sabido inculcar en mí los mejores valores que una nieta pueda recibir y sobre todo por ser ustedes mi amuleto de la suerte.

También quiero agradecer a mis tías Floria y Lucy Dávila Perales quienes en todo momento han estado al tanto para mí.

De igual manera quiero agradecer a mi familia y amigos en general que de una u otra manera han sido mi soporte para no desistir en este largo camino de la vida universitaria.

A mi asesora de tesis, MSc. María Victoria Lora Vargas, por sus conocimientos compartidos, por su tiempo y dedicación para sacar adelante este proyecto, mi gratitud para con usted, Dios la bendiga siempre.

Al profesor, Dr. Segundo Juan López Cubas, docente de mi especialidad por su ayuda y apoyo desinteresado.

Índice General

Resumen	ix
Abstract.....	x
Introducción.....	1
Marco Teórico	2
<i>Antecedentes</i>	2
<i>Bases Teóricas</i>	4
<i>Morfología y caracterización de la microalga D. salina</i>	5
Material y Métodos.....	7
Resultados.....	22
<i>Morfología y taxonomía</i>	22
Morfología de D. salina.....	22
Clasificación Taxonómica.....	22
<i>Crecimiento de D. salina</i>	22
<i>Cinética de crecimiento de D. salina</i>	27
<i>Temperatura</i>	30
<i>pH</i>	30
<i>Salinidad</i>	30
Discusión	34
Conclusiones.....	38
Recomendaciones	39
Referencias Bibliográficas.....	40

Índice de Figuras

Figura 1. Sala de microscopía del Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C.	8
Figura 2. Sala de siembra del Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C.....	8
Figura 3. Sala cepario del Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C.	8
Figura 4. Procedimiento del tratamiento del agua de mar	8
Figura 5. Ubicación geográfica del lugar de recolección de la microalga D. salina, ubicado en el Departamento de Lambayeque.....	10
Figura 6. Procedimiento realizado en la recolección de muestra de agua para identificación y aislamiento de D. salina (A) y Vista al microscopio 10x (B).....	10
Figura 7. Flujograma de adaptación de la microalga D. salina	11
Figura 8. Siembra en placas.....	12
Figura 9. Siembra nivel 15 mL (Tubos)	12
Figura 10. Siembra nivel 500 mL (Matraces)	14
Figura 11. Preparación de los diferentes medios en botellas de 2 L	17
Figura 12. Siembra de D. salina en biorreactores de vidrio	18
Figura 13. Cámara de cultivo de D. salina ubicada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	20
Figura 14. Extracción y distribución de muestra (D. salina) en la cámara Neubauer	20
Figura 15. Medición de la microalga D. salina en el microscopio invertido.....	23
Figura 16. Microalga D. salina.....	23
Figura 17. Variación del crecimiento diario en cada tratamiento de D. salina cultivada con diferentes medios y un control en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	25
Figura 18. Diferencias de las medias para el número de células de los tratamientos de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	26
Figura 19. Variación de los parámetros C y M del modelo de Gompertz por tratamiento de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	29

Figura 20. Curvas de crecimiento del modelo Gompertz por tratamiento de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	29
Figura 21. Velocidad máxima de crecimiento y tiempo de generación de D. salina, cultivada en diferentes tratamientos en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	31
Figura 22. Máxima densidad poblacional y Tiempo de generación de D. salina, cultivada en diferentes tratamientos, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	31
Figura 23. Temperatura ambiental diaria en el cultivo de D. salina, cultivada en diferentes tratamientos, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	32
Figura 24. Temperatura del agua promedio de cada tratamiento, en el cultivo de D. salina, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque.....	32

Índice de Tablas

Tabla 1. Diseño experimental, denominación de los tratamientos y población inicial de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque	12
Tabla 2. Composición del medio Guillard F/2	14
Tabla 3. Composición del fertilizante Nutafol 20-20-20.....	15
Tabla 4. Composición del fertilizante VitaFol NPK 20-20-20.....	15
Tabla 5. Composición del fertilizante Bayfolan 11-8-6	16
Tabla 6. Crecimiento diario en cada tratamiento con sus repeticiones, de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque	24
Tabla 7. Crecimiento diario de D. salina cultivada en diferentes medios de cultivo y un control, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque	25
Tabla 8. Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos, tiempo y su interacción sobre el crecimiento de D. salina cultivado con diferentes medios y un control en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque	26
Tabla 9. Comparación de medias a través de Tukey para número de células y tiempo de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque	28
Tabla 10. Parámetros de la cinética crecimiento de D. salina ajustado al modelo de Gompertz cultivada en diferentes tratamientos, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque	28
Tabla 11. pH diario promedio en cada tratamiento, en el cultivo de D. salina, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C. Lambayeque	33
Tabla 12. Salinidad diaria promedio en cada tratamiento, en el cultivo de D. salina en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C- Lambayeque	33

Resumen

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar el rendimiento poblacional de *D. salina* en diferentes medios de cultivo, para lo cual se aplicó el diseño experimental clásico con un control y tres tratamientos con tres repeticiones cada uno.

El cultivo se realizó durante 15 días en una cámara con iluminación en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque, en la que se acondicionaron 12 botellas de 2 L de capacidad. El control de crecimiento poblacional de las microalgas fue evaluado diariamente, para lo cual se tomó una alícuota de 3 mL de cada tratamiento, procediendo luego a realizar el recuento de las algas en la cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad. La cinética del crecimiento fue analizada aplicando el modelo matemático de Gompertz interpretando los parámetros poblacionales de cada tratamiento; asimismo, para establecer el efecto de los medios de cultivo sobre el crecimiento poblacional, se aplicó el análisis de varianza y prueba de Tukey. También se hicieron los registros de los parámetros físico - químicos del agua.

El rendimiento poblacional de *D. salina* fue afectado por el medio de cultivo, encontrándose que la máxima densidad celular se dio con el medio Bayfolan en el que se obtuvo la máxima velocidad de crecimiento, el menor tiempo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento y la mayor cantidad de células en la fase estacionaria ($4,03E+06$ cél mL⁻¹). Además, se presentó relación directa entre el número de células al finalizar la fase exponencial y la máxima velocidad de crecimiento (40 h).

Palabras clave: Cultivo de *Dunaliella salina*, medios de cultivo, crecimiento y rendimiento poblacional.

Abstract

The present research work was carried out with the objective of evaluating the population yield of *D. salina* in different culture media, for which the classic experimental design was applied with a control and three treatments with three repetitions each.

The culture was carried out for 15 days in a chamber with lighting in the Laboratory for the production of microalgae - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque, in which 12 bottles of 2L capacity were conditioned. The population growth control of the microalgae was evaluated daily, for which an aliquot of 3 mL of each treatment was taken, then proceeding to count the algae in the Neubauer chamber 0,1 mm deep. The growth kinetics were analyzed applying the Gompertz mathematical model, interpreting the population parameters of each treatment; likewise, to establish the effect of culture media on population growth, analysis of variance and Tukey's test were applied. Records of the physical-chemical parameters of the water were also made.

The population yield of *D. salina* was affected by the culture medium, finding that the maximum cell density occurred with the Bayfolan medium, in which the maximum growth speed was obtained, the shortest time to reach the maximum growth speed and the greater amount of cells in the stationary phase ($4,03E+06$ cell mL⁻¹). In addition, there was a direct relationship between the number of cells at the end of the exponential phase and the maximum growth rate (40 h).

Keywords: Culture of *Dunaliella salina*, culture media, growth and population yield.

Introducción

La acuicultura de las microalgas constituye el futuro, así como la parte esencial de la denominada “revolución verde” en post de un planeta sostenible, generando alimentos para el ser humano, piensos y aditivos alimentarios para la agricultura y la acuicultura (Lluís, José, Mínguez, Pavés, Montañez y Díaz, 2021).

Asimismo, dicha revolución alcanza mayor importancia en cuanto al tratamiento de aguas residuales, generando con ello biofertilizantes y biopesticidas sostenibles y rentables.

El cultivo de microalgas representa una actividad de importancia económica que provee la producción de alimentos, materia prima de uso industrial - farmacéutico y en la generación de organismos vivos para la reproducción, repoblación u ornamentación.

Dentro de las microalgas más destacadas encontramos al género *Dunaliella* debido a su excepcional habilidad para proliferar en ambientes con un gran intervalo de salinidad, estos organismos, en especial *D. salina* y *D. tertiolecta* se encuentran entre las especies más estudiadas para realizar cultivos masivos. Su gran capacidad extremófila y eurihalina se debe a que son capaces de acumular masivamente glicerol en su interior (50% en peso seco) como respuesta al estrés osmótico del medio (Chitlaru y Pick, 1991, Das y Arora, 2001).

Considerando esta situación panorámica, se ha realizado el trabajo de investigación titulado: Rendimiento poblacional de *D. salina* (Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo, que tuvo como objetivo: Evaluar el rendimiento poblacional de *D. salina* en diferentes medios de cultivo; habiéndose formulado el problema: ¿Cómo afecta el medio de cultivo, el rendimiento poblacional de *D. salina* en un sistema controlado?; al cual se planteó como hipótesis: El rendimiento poblacional de *D. salina* será mayor con el medio de cultivo Bayfolan; empleándose en este un Diseño Experimental Clásico con un control y tres tratamientos experimentales con tres repeticiones, respectivamente.

Marco Teórico

Antecedentes

Ahora, referente al desarrollo efectuado en esta investigación, se tomó en consideración las experiencias en el cultivo de la especie materia de estudio.

En el caso de cultivo bajo diferentes salinidades:

Aguilar (1995), cultivó *D. salina* en distintas concentraciones de salinidad (1M; 1,5M; 2M; 2,5M; 3M; 3,5M; 4M; 4,5 M y 5 M) en donde la máxima densidad algal se produjo a 1,5 M con $4,603 \times 10^6$ céls.ml⁻¹ en la cepa de Chimus; los cultivos se desarrollaron con el medio Johnson modificado (J/1), en un pH de 7,5 y con una temperatura promedio de $29,9 \pm 1^\circ\text{C}$.

Serpa y Calderón (2005), cultivaron cuatro cepas de *D. salina* provenientes de las salinas de Los Chimus, Huacho, Chilca y Otuma; en un medio enriquecido se probaron diferentes niveles de salinidad 1,5 M; 2,5 M; 3,5 M y 4,5 M, en el que se expusieron a un fotoperiodo de 12:12, con una densidad de flujo fotónico de $\sim 272 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. en donde presentó una temperatura semicontrolada que abarcó desde 19,9 a 30,4 °C; ahora concerniente a la cepa de Huacho, esta obtuvo en el día 21 con 1,5M un nivel de clorofila de 2,04 mg/l. así como una gran densidad celular y concentración de carotenoides ascendiendo a 724 467 células/ml y 1,97 mg/l respectivamente.

Suarez (2012), cultivó dos cepas de *D. salina* bajo dos salinidades de 1,5M y 2,5M en estanques con material de elaboración diferente (vidrio, plástico traslúcido y plástico de color blanco); en la salinidad de 1,5 M la densidad obtuvo 9 849 000 cel./ml. y en el caso de 2,5 M la densidad alcanzó 4 410 000 cel./ml.; se desarrollaron en luz artificial (7200 lux), con una temperatura de 27 °C a 30 °C y con medio de cultivo de agua de mar tratada y nutrientes, en donde el estanque de plástico blanco fue el más eficiente con una salinidad de 1,5M.

Moncayo (2014), cultivó *Dunaliella sp.* en diferentes concentraciones de salinidad (0,1 M; 0,5 M; 2 M) y de nitrógeno (2 mM, 10 mM, 20 mM), siendo que el día 18 registró la máxima densidad celular con $2,7 \times 10^7$ cél/ml en 0,5 M y 20mM; se desarrolló con una intensidad lumínica bilateral de $285 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, fotoperiodo 12:12 luz: oscuridad, temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ y un pH 7,5 usando el medio de cultivo Johnson.

García, López, Medina, García y Fimbres (2020), cultivaron *D. tertiolecta* bajo tres salinidades (35, 45 y 55 UPS) y tres concentraciones de nitrógeno (F, F/8 y F/16), donde la máxima densidad celular se dio a 35 UPS en el medio F con $2,94 \times 10^6 \pm 4,51 \times 10^5$ cél mL⁻¹; el cultivo se desarrolló con una iluminación $274 \pm 52,5$ μ mol fotón m⁻² seg⁻¹. a una temperatura de 20 ± 1 °C.

Teniendo en cuenta los trabajos experimentales en cultivo bajo diferentes fuentes de nitrógeno, se aprecia:

Serpa y Calderón (2006), cultivaron cuatro cepas de *D. salina* Teod. provenientes de Huacho, Chilca, Otuma y los Chimus, con cinco fuentes de nitrógeno (NO₃NH₄, SO₄(NH₄)₂, NO₃K, NO₃Na y Urea); al día 27 del cultivo se obtuvo la máxima densidad celular en la cepa proveniente de Huacho SO₄(NH₄)₂ con 431 633 células/ml; en cuanto a la concentración de carotenoides totales se obtuvo la mayor cantidad en la cepa de Chilca con 2,3129 (mg/l) y por último tenemos que la máxima concentración de clorofila se dio en la cepa de Chilca con 2,1753(mg/l).

Tejeda, Henao, Alvear y Castillo (2015), cultivaron a *Chlorella sp.* y *D. salina* con diferentes concentraciones de pH y nitrógeno (mg L⁻¹); en el caso de *D. salina*, alcanzó una máxima concentración celular en el día 6 con $1,15 \times 10^6$ células mL⁻¹; pH 8,5 y 0,1 mg L⁻¹ concentración de nitrógeno, en cambio *Chlorella sp.* presentó una máxima concentración celular en el día 14 con $2,6 \times 10^7$ células mL⁻¹, pH 7,5 y 0,1 mg L⁻¹ concentración de nitrógeno; en cuanto al contenido de lípidos, se obtuvo que *Chlorella sp.*, con el 40,23 %, presento la mayor cantidad de lípidos a comparación de *D. salina* que obtuvo el 23,48 %; estos cultivos se desarrollaron con el medio Conwy modificado.

Respecto al cultivo con diferentes medios:

Fimbres, Mercado, Murguía y López (2010), cultivaron *Dunaliella sp.* con f/2 de Guillard, así como Ryther (control) y los medios f/4, f/6 y f/8 como medios limitantes en nitrógeno; la mayor densidad celular se dio en el medio f/2 con $1,2 \times 10^6$ cél/mL, mientras que en el medio f/4 se mantuvo entre 0,7 y $0,8 \times 10^6$ cél/mL y en los medios f/6 y f/8 fluctuó entre 0,3 y $0,5 \times 10^6$ cél/mL; en el caso de la producción de la biomasa se incrementó de 100 a 436 pg/cél. (picogramos/célula) conforme disminuyó la cantidad de nitrógeno en el cultivo; el cultivo se desarrolló a una temperatura 26 ± 1 C° con una aireación e iluminación constante.

López y Pantoja (2016), cultivaron *D. salina* con el extracto acuoso de lodo originario de un cultivo de concha de abanico, así como el contenido de β caroteno, en

condiciones de laboratorio. Se utilizó en dosificaciones de 20, 40 y 60 mL.L⁻¹, los que fueron contrastados con el tratamiento control (Guillard f/2); obteniendo un máximo desarrollo poblacional de $7,2 \times 10^5$ cél mL⁻¹ en el tratamiento de 40 mL.L⁻¹; ahora, referente al β -caroteno, se alcanzó un máximo de 29,487 mg.L⁻¹ con el medio control; concluyendo que los tratamientos con extracto acuoso obtuvieron un máximo desarrollo celular y un menor contenido de β -caroteno tomando como referencia al control; el cultivo se desarrolló en un rango de pH 7,50 a 9,57 con una temperatura entre 26,20 a 26,63 °C.

Bases Teóricas

Desarrollo de microalgas bajo diferentes medios de cultivo

Yahaut y Mota (2006), cultivaron tres microalgas (*D. salina*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana*) con medio End-Schereiber a una temperatura 24 - 28 C°, con una salinidad de 34 ppm e iluminación constante de 40 W; encontrando que *Isochrysis galbana*, logró la mayor concentración algal en el menor tiempo de cultivo, seguida de *D. salina*.

Zepeda (2017), cultivó *Dunaliella* sp. en dos medios (Guillard y Johnson), encontrando que las concentraciones máximas se alcanzaron el día 14, pero con mayores valores para el medio Guillard.

Calderón y Serpa (2003), cultivaron *D. tertiolecta* en medio de cultivo Paraquat, bajo diferentes concentraciones (0,001; 0,002; 0,004; 0,008; 0,01; 0,02; 0,04 ppm) y en dos ambientes (externo: 20,5-23,5 C° e interno: 18,25-23 C°); siendo el ambiente exterior el que logró la mejor máxima densidad celular, en menor tiempo de cultivo.

Ortiz, Cortés, Sánchez, Padilla y Otero (2012), cultivaron *Chlorella sorokiniana* bajo tres medios (Sueoka, Guillard y (Remital y fertilizante NPK: 1, 2, 3, 4, 5g/l)), logrando la máxima densidad celular con el medio Remital (1g/L) con $86,5 \pm 0,75 \times 10^7$ células/ml; desarrollado en un fotoperiodo de 12 h, con una intensidad luminosa de 2629 ± 306 lux, y temperatura de 24 ± 2 °C.

Arenas, Rodríguez, Vega, Juantorena y Sebastian (2015), cultivaron *Verrucodesmus verrucosus* bajo diferentes medios de cultivo (lixiviados orgánicos de elefante, lombriz, borrego, agua residual y Bayfolan forte); logrando la máxima densidad celular en el medio Bayfolan y el agua residual con 14 000 000 cel/ml, y obteniendo a la vez la máxima producción de lípidos.

Escuredo (2014), cultivó *Haematococcus* sp con fertilizantes como el Miracle Gro, Plantafol, Nitrocel+agro-K y Bayfolan, utilizando a Basal Bold como control, empleando

tres intensidades de luz (60, 80 y 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), alcanzando la máxima densidad celular con el medio Plantafol con $72,0 \times 10^4$ cél. mL^{-1} a una intensidad de luz de 60 $\mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Zare (2018), cultivó *Tetraselmis suecica* bajo tres fertilizantes (FBRT, Yashima, Bayfolan forte), a una Temperatura de 21 ± 2 °C, salinidad de 30 UPS y fluorescentes de 40 W, logrando la máxima densidad celular en el medio FBRT con $142,816 \times 10^4$ cél mL^{-1} .

Zevallos (2017), cultivó *Ankistrodesmus sp.*, *Tetraselmis striata* y *Stichococcus sp.* en dos medios (F/2 Guillard y Bayfolan); siendo la máxima densidad celular en el medio Bayfolan con concentraciones de $5,55 \times 10^6$ cél/mL; $7,85 \times 10^6$ cél/mL y $6,35 \times 10^6$ cél/mL en comparación con el medio Guillard que obtuvo las menores concentraciones $2,69 \times 10^6$ cél/mL; $4,68 \times 10^6$ cél/mL y $5,82 \times 10^6$ cél/mL.

Mercado (2016), cultivó *Scenedesmus Obliquus var. Dimorphus* (TURPIN) bajo tres medios (Bayfolan, Guillard, BG-11), a temperatura de 22 °C y pH = 8; obteniendo la máxima densidad celular con el medio Bayfolan Forte con 3 451 500 unidades celulares, siendo el valor promedio de la biomasa de 243 mg. l^{-1} / d y el valor promedio de lípidos con 82,79 %.

Mamani (2018), cultivó *Chaetoceros gracilis* bajo cuatro medios (Kelpway, Panteranito, Bayfolan y F/2 Guillard), a una temperatura de $20 \pm 0,5$ °C, con una intensidad lumínica de 3000 Lux, pH promedio de 8,30 y salinidad 33,2 UPS, alcanzándose la máxima densidad celular con Bayfolan: $1,75 \times 10^6$ cel/mL.

Morfología y caracterización de la microalga D. salina

Parra, González, De la Rossa, Cifuentes y Conejeros (1990), indicaron que *D. salina*, presenta células de forma elipsoidal a cilíndrica, siendo su forma muy variable bajo condiciones de cultivo. Posee dos flagelos isomorfos de igual tamaño y de una longitud similar al cuerpo celular. Carece de pared celular. Su tamaño celular varía entre 10-29 μm de longitud y de 8-21 μm de ancho.

Suarez (2012), nos manifiesta que *D. salina*, no disputa por el agua ya que habita en medios hipersalinos, motivo por el cual dicha microalga no tiene competidores, patógenos o depredadores; no presenta pared celular, lo cual la hace mucho más digestible, tiene un gran contenido de carotenoides y capacidad nutritiva para utilizarla como alimento.

Borowitzka y Silva (2007), exponen que *Dunaliella* presenta células de forma elipsoidal, ovoide a casi esféricas, piriformes o fusiformes, las cuales al ser sometidas a condiciones extremas son esféricas durante algún tiempo para después retornar a su estructura inicial.

El tamaño celular está inversamente correlacionado con la tasa de crecimiento (Uriarte, Farias, Hawkins y Bayne, 1993) y puede cambiar ligeramente con las condiciones de crecimiento y la intensidad de la luz.

Las células rojas de *D. salina* son significativamente más grandes que las amarillas/naranjas de *D. parva* y las verdes de *D. viridis* y *D. tertiolecta* (Massyuk, 1973, Ginzburg y Ginzburg, 1985), por lo cual el tamaño de la célula es un carácter taxonómico útil.

Material y Métodos

Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de cultivo de microalgas de la empresa Bioperu vida - S.A.C, situada en el distrito, provincia y departamento de Lambayeque.

El Laboratorio de cultivo de microalgas contó con los siguientes ambientes:

Sala de Microscopia

En este ambiente se realizó las observaciones del inóculo y de los cultivos de *D. salina* en los diferentes niveles de siembra (Figura 1), así como la preparación de los medios de cultivo y la esterilización de los materiales de laboratorio.

Sala de siembra

Área donde se recepcionó el agua de mar, para ser filtrada con una malla de nylal de 20 µm, para que posteriormente se desarrolle *D. salina* en todos los niveles (Figura 2).

Sala Cepario

Área en donde se mantienen las cepas de microalgas y cultivos en diferentes fases de desarrollo (Figura 3) con aireación e iluminación con fluorescentes de 40 watts permanentemente.

Sala de lavado y secado del material

Área en el que se realizó el lavado, desinfección y secado del material para su uso.

Limpieza y desinfección

El paso previo al inicio de la fase experimental, fue la limpieza y desinfección de los ambientes a utilizar como las salas de microscopia, siembra, cepario, lavado y secado del material.

El material de plástico y vidrio se lavó con agua potable y colocado en solución de hipoclorito de sodio durante 24 horas, seguidamente se empleó agua para enjuagarlo, dejándose secar, para así cubrir con papel aluminio el segundo material antes mencionado, y de esa manera se concluya esterilizándolo a 100 °C, durante 2 horas en la estufa marca INCASOL.

Tratamiento del agua

El agua fue extraída de la Caleta San José, filtrada con una malla nylal de 20 micras, luego se sometió a autoclave a 100° C y se dejó enfriar, para posteriormente ser depositada en un recipiente de plástico de 18 L previamente desinfectado y esterilizado. (Figura 4).

Figura1

Sala de microscopía del Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C.

**Figura 2**

Sala de siembra del Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C.

**Figura 3**

Sala cepario del Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C.

**Figura 4**

Procedimiento del tratamiento del agua de mar



Obtención de la Cepa

La microalga *D. salina* fue aislada de la muestra de agua proveniente de un humedal ubicado cerca al distrito San José, provincia y departamento de Lambayeque (6°46'10,3" S 79°57'14,0" W), (Figura 5) y fue recolectada con un balde de 5 L de capacidad, luego filtrada mediante una malla de 20 micras y vaciado en botellas de vidrio estériles y trasladadas al Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C (Figura 6), donde se realizó el aislamiento de *D. salina* utilizando un microscopio binocular marca Boeco.

Asimismo, se recabaron los parámetros físico - químicos del agua: temperatura (C°), salinidad, pH y color aparente (medio visual).

Adaptación y purificación de *D. salina*

A través de una pipeta Pasteur se tomó 1mL de inóculo de la cepa *D. salina* y se le añadió 9 mL de agua de mar nutrida a los tubos de 15 mL con medio Guillard F/2 (Guillard, 1975) (Figura 7). Diariamente se realizó una disminución gradual de la salinidad (300 UPS a 36 UPS), observándose que el color varió de anaranjado a verde, después de 7 días.

Los tubos, previamente rotulados, se ubicaron en la sala del cepario y se mantuvieron a 26°C, con agitación manual.

Diseño experimental

La comprobación de la hipótesis se realizó a través del Diseño Experimental Clásico con tres tratamientos y un control con tres repeticiones cada uno: Medio Guillard (control): R1, R2 y R3; Medio Nutafol (Tratamiento 1): R1, R2 y R3; Medio Vitafol (Tratamiento 2): R1, R2 y R3 y Medio Bayfolan (Tratamiento 3): R1, R2 y R3 (Tabla 1).

Para materializar el diseño experimental se realizaron los siguientes pasos:

Primero: Se preparo solución de agar agar con agua nutrida, esterilizada a ebullición y enfriada; para de ahí, vaciarla a placas Petri; luego, haciendo uso de un asa de platino estéril, se tomó el inóculo del tubo de 15 mL, donde se realizó la adecuación de la cepa y se transfirió a las placas, en las cuales se permitió el desarrollo de *D. salina* durante treinta días, a temperatura ambiente (Figura 8).

Segundo: Las células de *D. salina* que desarrollaron en las placas Petri, fueron sembradas en tubos de ensayo de 15 mL de capacidad que contenían 10 mL de agua nutrida, los cuales se taparon con algodón y se agitaron manualmente durante trece días (Figura 9).

Figura 5

Ubicación geográfica del lugar de recolección de la microalga D. salina, ubicado en el Departamento de Lambayeque



Ubicación del humedal salobre mediante GPS



Humedal salobre

Figura 6

Procedimiento realizado en la recolección de muestra de agua para identificación y aislamiento de D. salina (A) y Vista al microscopio 10x (B)



Recolección



Filtrado

(A)



Cepa de la microalga D. salina



Vista microscópica 10x

(B)

Figura 7

Flujograma de adaptación de la microalga D. salina



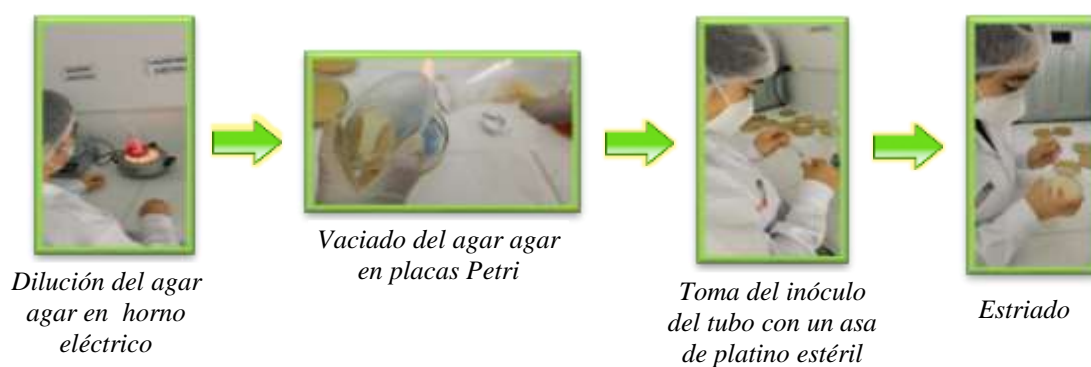
Tabla 1

Diseño experimental, denominación de los tratamientos y población inicial de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

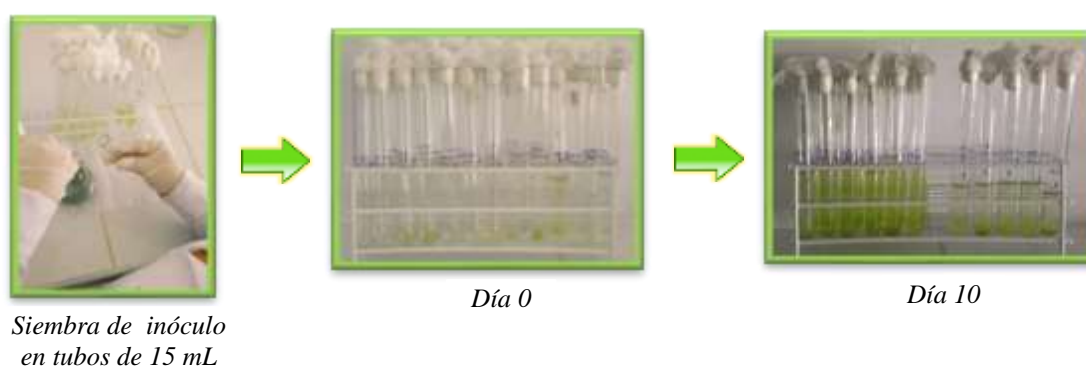
Tratamientos	Repeticiones	Población inicial (cél mL ⁻¹)
Medio Guillard	R1	1,00E+05
	R2	1,03E+05
	R3	1,05E+05
Medio Nutafol	R1	1,03E+05
	R2	1,00E+05
	R3	1,05E+05
Medio VitaFol	R1	1,08E+05
	R2	1,05E+05
	R3	1,03E+05
Medio Bayfolan	R1	1,00E+05
	R2	1,08E+05
	R3	1,03E+05

Figura 8

Siembra en placas

**Figura 9**

Siembra nivel 15 mL (Tubos)



Tercero: El contenido de tres tubos de 15 mL con el inóculo de *D. salina*, fue colocado en matraces de 500 mL que se enrasaron a 300 mL de agua nutrida, se taparon con algodón y se agitaron. Los matraces fueron rotulados con el nombre de la especie y fecha de siembra, colocándose en la sala de cepario con aireación lenta por un lapso de diez días a 28°C (Figura 10).

Cuarto: De los matraces de 500 mL, se tomaron 150 mL de inóculo y se adicionaron a botellas de 2L de capacidad, las cuales se enrasaron a 1L con agua nutrida con los medios experimentales: Medio Guillard (F/2), Medio Nutafol, Medio VitaFol, y Medio Bayfolan, cuya composición se presenta en las (Tablas 2,3,4 y 5). Finalmente, se les colocó tapón y un paliglobo plástico conectado a las mangueras de aireación, por quince días, manteniéndose en condiciones controladas los parámetros físico - químicos (Figura 11).

Todo el proceso se realizó en la cámara de cultivo (Figura 12), hecha a base de melanina de dimensiones 3,05 m largo x 70 cm ancho x 1m de altura, dividida en cuatro compartimentos, cada uno con dos fluorescentes (20 watts). La aireación se suministró mediante un Blower (0,2 Hp), adaptando mangueras y paliglobos color blanco para el paso del aire hacia el cultivo.

Parámetros físico-químicos

Temperatura ambiental

El control de la temperatura ambiental de la sala cepario, se realizó mediante un termómetro protegido de rango 0 a 120° C marca Boeco. El registro se realizó diariamente a las 9 h y 16 h, durante la etapa del cultivo.

Temperatura del agua del cultivo

Se realizó con un termómetro digital de rango 0 a 100 ° C marca Babyly. El registro se realizó diariamente a las 9 h y 16 h, durante la etapa del cultivo en botellas de 2L.

pH

Se registró diariamente usando Universal Test Paper cintas de pH con una escala de 0 - 14, en forma diaria a las 10 h.

Salinidad

La salinidad se registró diariamente, usando el refractómetro ATC con un rango de 0 -100 UPS (unidades prácticas de salinidad).

Figura 10*Siembra nivel 500 mL (Matraces)***Tabla 2***Composición del medio Guillard F/2*

Componente	Solución stock	Cantidad
NaNO ₃	75 g/L dH ₂ O	1mL
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	5 g/L dH ₂ O	1mL
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30 g/L dH ₂ O	1mL
Solución de metales trazas		1mL
FeCl ₃ .6H ₂ O	...	3,15 g
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	...	4,36 g
Cu SO ₄ .5H ₂ O	9,8 g/L de H ₂ O	1mL
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	6,3 g/L de H ₂ O	1mL
ZnSO ₄ .7H ₂ O	22,0 g/L de H ₂ O	1mL
CoCl ₂ .6H ₂ O	10,0 g/L de H ₂ O	1mL
MnCl ₂ .4H ₂ O	180,0 g/L de H ₂ O	1mL
Solución de vitaminas		0,5 mL
Tiamina HCL (vitamina B ₁)	...	200 mg
Biotina (vitamina H)	1,0 g/L de H ₂ O	1mL
Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂)	1,0 g/L de H ₂ O	1mL

Tabla 3*Composición del fertilizante Nutafol 20-20-20*

Nutafol 20-20-20		
Composición química		
Nitrógeno	(N)	20%
Fósforo	(P ₂ O ₅)	19,2%
Potasio	(K ₂ O)	19,3%
Micronutrientes		
Magnesio	(Mg)	0,5%
Hierro	(Fe)	0,026%
Cobre	(Cu)	0,03%
Zinc	(Zn)	0,03%
Boro	(B)	0,05%
Manganeso	(Mn)	0,0028%
Cobalto	(Cb)	0,0001%
Molibdeno	(Mo)	trazas
Vitaminas B-C		trazas
Humectantes		0,5%
Algas marinas		trazas
Aminoácidos		trazas
Ácido fólico		trazas

Tabla 4*Composición del fertilizante VitaFol NPK 20-20-20*

VitaFol NPK 20-20-20	
Composición química	
Nitrógeno	20%
Fósforo	20%
Potasio	20%
Hierro	1%
Magnesio	1%
Zinc	0,5%
Cobre	0,025%
Manganeso	0,4 %
Boro	0,3%
Molibdeno	0,03%
Cobalto	0,0005%
Níquel	0,0005%
Vitamina B1	0,025%
Ácidos carboxílicos	2%

Tabla 5*Composición del fertilizante Bayfolan 11-8-6*

Bayfolan 11-8-6	
Composición química	
Nitrógeno total(N)	11,470%
Clorhidrato de tiamina	0,004%
Fósforo(P ₂ O ₅)	8,000%
Azufre(S)	0,230%
Potasio(K ₂ O)	6,000%
Calcio (Ca)	0,025%
Boro(B)	0,036%
Cobalto (Co)	0,002%
Cobre (Cu)	0,040%
Manganeso (Mn)	0,036%
Fierro (Fe)	0,050%
Magnesio (MgO)	0,025%
Molibdeno (Mo)	0,005%
Ácido Indol Acético	0,003%
Zinc (Zn)	0,080%

Figura 11

Preparación de los diferentes medios en botellas de 2 L

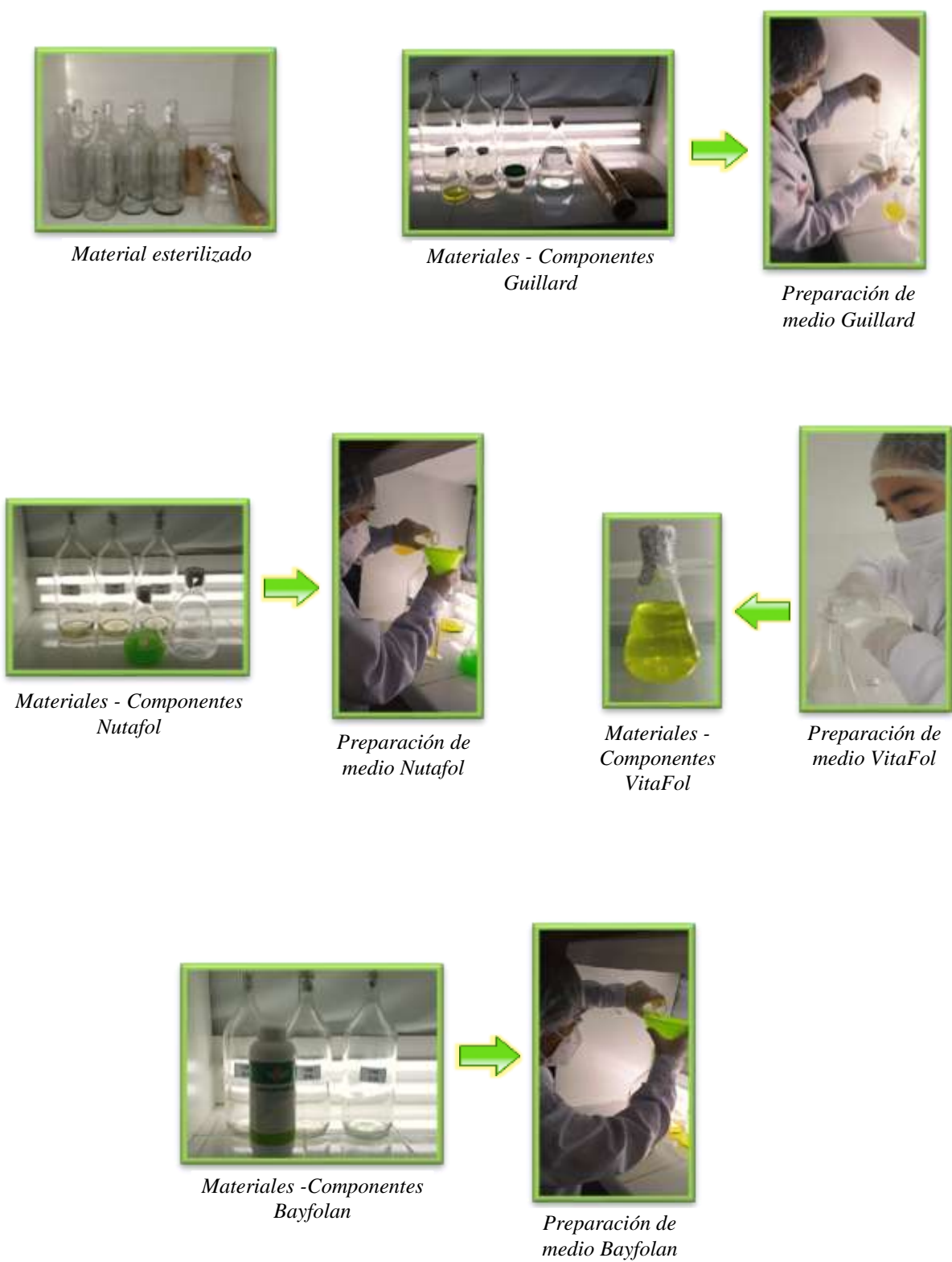


Figura 12

Siembra de D. salina en biorreactores de vidrio



Determinación del Crecimiento poblacional de *D. salina*

Al respecto, se debe señalar que dicho control se realizó de manera diaria, para ello, haciendo uso de una pipeta se tomó una alícuota de 3 mL de las 12 botellas de cultivo (Figura 13) y se vació en viales de 5 mL; para de ahí, realizar el recuento celular con cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad (Figura 14).

Finalizada la fase experimental del cultivo, a fin de determinar diferencias significativas en el desarrollo de *D. salina* entre repeticiones de cada medio, se desarrolló el análisis de varianza simple (Ostle, 1994):

$$Y_{ij} = U + A_i + E_{ik}$$

Posteriormente, se promediaron las poblaciones de las repeticiones en cada tratamiento y se aplicó el análisis de varianza para un modelo factorial de dos factores fijos (Ostle, 1994):

$$Y_{ijk} = U + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} : Una medición cualquiera

U : Número de cél mL⁻¹

A_i : Efecto del factor repeticiones para el primer modelo y del factor medios de cultivo para el segundo modelo, sobre el crecimiento de *D. salina*.

B_j : Efecto del factor tiempo sobre el crecimiento de *D. salina*.

$(AB)_{ij}$: Efecto de la interacción de los dos factores sobre el crecimiento de *D. salina*.

E_{ijk} : Error experimental

Se plantearon las siguientes hipótesis:

H_0 : El factor repeticiones, para el primer modelo y el factor medios de cultivo, tiempo e interacción, para el segundo modelo, no afectan el crecimiento y la producción de *D. salina*.

H_a : El factor repeticiones, para el primer modelo y el factor medios de cultivo, tiempo e interacción, para el segundo modelo si afectan el crecimiento y la producción de *D. salina*.

Las decisiones se tomaron teniendo en cuenta lo siguiente:

Aceptar H_0 si P es mayor que 0,05

Aceptar H_a si P es menor o igual que 0,05

La comparación de las medias, se realizó a través de la prueba de rango múltiple de Tukey.

Los análisis estadísticos fueron procesados con una Laptop hp con procesador Intel Core i5 – Sistema Operativo Windows 10, utilizando los programas: Excel, Minitab 19 y Statistica 13.3, con un nivel de significación de 0,05.

Figura 13

Cámara de cultivo de D. salina ubicada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

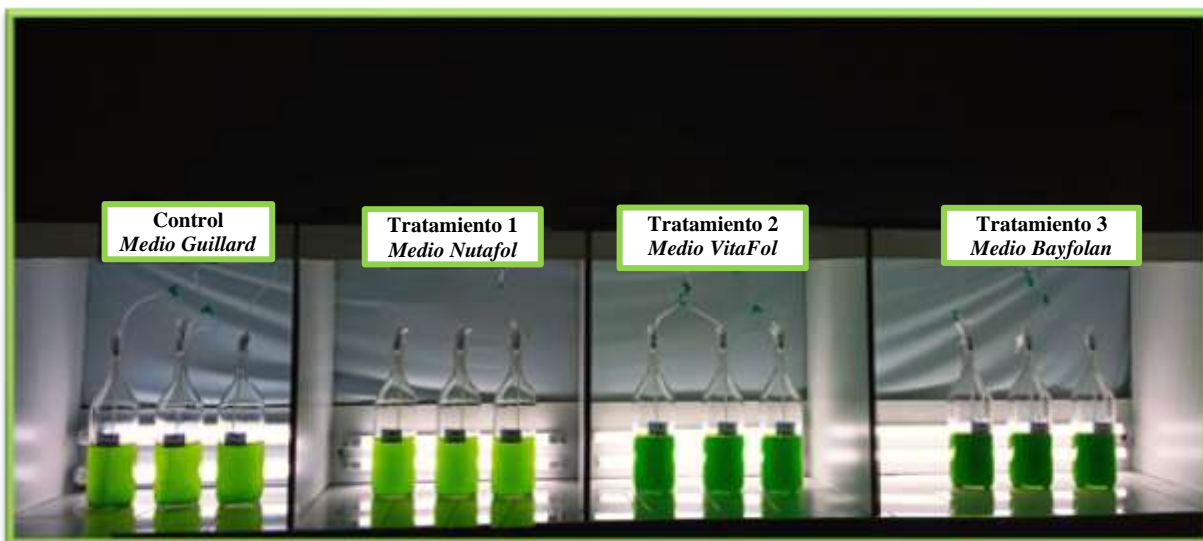


Figura 14

Extracción y distribución de muestra (D. salina) en la cámara Neubauer



Análisis estadístico

Cinética del crecimiento de *D. salina*

La cinética del crecimiento de *D. salina*, fue analizada mediante el modelo matemático de Gompertz modificado (Castro, Valbuena, Sánchez, Briñez, Vera y Leal, 2008):

$$\text{Log } N_t = A + C \cdot \exp(-\exp(-B(t-M)))$$

Donde:

Log N_t : logaritmo decimal de los recuentos celulares (log (cél mL⁻¹)) al tiempo (t) en horas.

A: logaritmo decimal de los recuentos celulares iniciales (log (cél mL⁻¹)).

C: logaritmo decimal de la diferencia de la población final e inicial en la fase estacionaria (log (cél mL⁻¹)).

M: tiempo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento (horas).

B: velocidad de crecimiento máxima relativa al tiempo M (log (cél/ mL /h)).

Los parámetros señalados se estimaron mediante el software Statistica 13.3 y posibilitaron el cálculo de los indicadores poblacionales de crecimiento, con las fórmulas siguientes:

$$\mu_{\text{máx.}} = B * C/e$$

$\mu_{\text{máx}}$ = Velocidad máxima específica de crecimiento,
dada en (log (cél /ml/h)) y, $e = 2,7182$(μ)

$$\lambda = M-1/B$$

λ = Fase de adaptación en horas.

$$T_g = \text{Ln } 2 / \mu$$

T_g = Tiempo de generación en horas

$$\text{MDP} = A+C$$

MDP = Máxima densidad poblacional dado en (log (cél mL⁻¹)).

Resultados

Morfología y taxonomía

Morfología de D. salina

D. salina, presentó células cuya forma varió de cilíndrica a elipsoidal, su tamaño celular osciló de 10 a 12 μm (Figura 15)

La microalga recolectada en ambiente natural presentó un color anaranjado, el cual, al ser aislada y sembrada, después de 7 días viró a verde (Figura 16)

Clasificación Taxonómica

División: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Volvocales

Familia: Dunaliellaceae

Género: *Dunaliella*

Especie: *D. salina* (Teodoresco)

Crecimiento de *D. salina*

El crecimiento poblacional de *D. salina* en las repeticiones de cada tratamiento y el control, presentó claras diferencias, apreciándose también, que todos los tratamientos superaron al control y que los valores más altos del número de células se obtuvieron en el medio Bayfolan (Tabla 6).

Las diferencias observadas en el crecimiento poblacional entre repeticiones de cada tratamiento, no evidenciaron significación estadística a través del análisis de varianza ($p = 0,513$, $p > 0,05$).

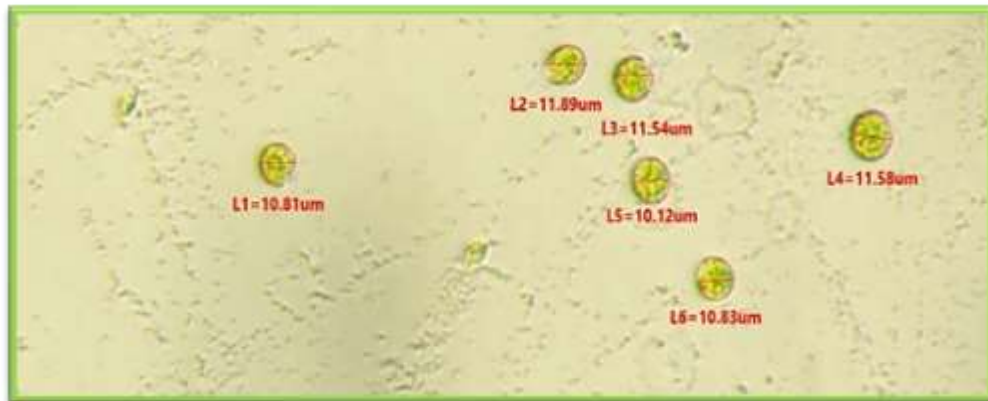
No habiendo diferencias entre las repeticiones, se obtuvieron los promedios para cada tratamiento, evidenciándose que la mayor densidad poblacional de *D. salina* se alcanzó con el medio Bayfolan. (Tabla 7). El análisis gráfico del crecimiento diario (Figura 17), permitió reconocer que el mayor crecimiento poblacional fue con Bayfolan al evidenciarse desde el día 1 de cultivo.

El análisis de varianza (Tabla 8) aplicado al promedio de crecimiento poblacional en los medios de cultivo, manifestó diferencias significativas, señalando que el crecimiento fue afectado por los tratamientos, así como el tiempo e interacción de estos factores.

Las pruebas de Tukey (Figura 18), ratificaron estadísticamente, el mayor crecimiento poblacional de *D. salina* en el medio Bayfolan, superando a los medios Nutafol, VitaFol y

Figura 15

Medición de la microalga D. salina en el microscopio invertido

**Figura 16**

Microalga D. salina

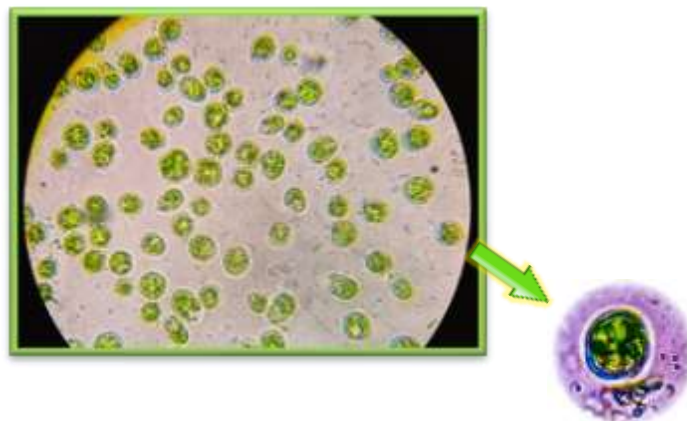


Tabla 6

Crecimiento diario en cada tratamiento con sus repeticiones, de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

Tratamientos	Repeticiones	Tiempo (Días)															
		Inicio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Medio Nutafol	R1	1,03E+05	2,45E+05	4,65E+05	9,40E+05	1,08E+06	1,17E+06	1,23E+06	1,30E+06	1,42E+06	1,49E+06	1,61E+06	1,94E+06	1,89E+06	1,72E+06	1,59E+06	1,38E+06
	R2	1,00E+05	2,30E+05	3,05E+05	4,09E+05	8,98E+05	1,00E+06	1,41E+06	1,49E+06	1,51E+06	1,51E+06	1,67E+06	1,72E+06	1,64E+06	1,53E+06	1,43E+06	1,27E+06
	R3	1,05E+05	2,83E+05	3,33E+05	4,15E+05	7,55E+05	8,03E+05	9,50E+05	1,25E+06	1,29E+06	1,43E+06	1,53E+06	1,65E+06	1,41E+06	1,33E+06	1,27E+06	1,20E+06
Medio VitaFol	R1	1,08E+05	2,95E+05	4,14E+05	7,13E+05	9,49E+05	1,47E+06	1,62E+06	2,10E+06	2,24E+06	2,44E+06	2,97E+06	2,45E+06	2,38E+06	2,27E+06	2,16E+06	1,94E+06
	R2	1,05E+05	3,25E+05	4,23E+05	6,93E+05	1,55E+06	1,98E+06	2,16E+06	2,42E+06	2,64E+06	2,72E+06	3,11E+06	3,04E+06	2,89E+06	2,74E+06	2,52E+06	2,37E+06
	R3	1,03E+05	3,65E+05	5,73E+05	7,35E+05	1,36E+06	2,18E+06	2,29E+06	2,62E+06	2,71E+06	3,15E+06	3,35E+06	2,91E+06	2,84E+06	2,75E+06	2,68E+06	2,59E+06
Medio Bayfolan	R1	1,00E+05	5,10E+05	1,05E+06	1,82E+06	2,09E+06	2,29E+06	2,78E+06	3,04E+06	3,38E+06	3,65E+06	3,84E+06	3,32E+06	3,25E+06	3,12E+06	3,10E+06	2,73E+06
	R2	1,08E+05	7,30E+05	1,34E+06	2,07E+06	2,57E+06	3,10E+06	3,39E+06	3,52E+06	3,64E+06	3,93E+06	4,11E+06	3,96E+06	3,84E+06	3,77E+06	3,70E+06	3,63E+06
	R3	1,03E+05	8,40E+05	1,50E+06	2,23E+06	2,63E+06	3,37E+06	3,42E+06	3,63E+06	3,85E+06	4,02E+06	4,15E+06	3,73E+06	3,63E+06	3,54E+06	3,48E+06	3,40E+06
Control	R1	1,00E+05	2,08E+05	4,38E+05	4,83E+05	5,31E+05	6,45E+05	9,68E+05	1,07E+06	1,19E+06	1,29E+06	1,42E+06	1,46E+06	1,43E+06	1,29E+06	1,26E+06	1,25E+06
	R2	1,03E+05	2,23E+05	3,56E+05	6,40E+05	8,90E+05	9,28E+05	1,02E+06	1,11E+06	1,27E+06	1,29E+06	1,57E+06	1,63E+06	1,57E+06	1,50E+06	1,44E+06	1,43E+06
	R3	1,05E+05	2,28E+05	3,30E+05	4,58E+05	4,79E+05	5,85E+05	8,76E+05	1,16E+06	1,20E+06	1,34E+06	1,44E+06	1,50E+06	1,37E+06	1,32E+06	1,14E+06	9,40E+05

Tabla 7

Crecimiento diario de D. salina cultivada en diferentes medios de cultivo y un control, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

Tiempo		Medios de cultivo		
Días	Nutafol	VitaFol	Bayfolan	Control
Inicio	1,03E+05	1,05E+05	1,03E+05	1,03E+05
1	2,53E+05	3,28E+05	6,93E+05	2,19E+05
2	3,68E+05	4,70E+05	1,30E+06	3,75E+05
3	5,88E+05	7,13E+05	2,04E+06	5,27E+05
4	9,11E+05	1,29E+06	2,43E+06	6,33E+05
5	9,92E+05	1,88E+06	2,92E+06	7,19E+05
6	1,20E+06	2,02E+06	3,20E+06	9,54E+05
7	1,35E+06	2,38E+06	3,40E+06	1,11E+06
8	1,41E+06	2,53E+06	3,62E+06	1,22E+06
9	1,48E+06	2,77E+06	3,86E+06	1,31E+06
10	1,61E+06	3,14E+06	4,03E+06	1,48E+06
11	1,77E+06	2,80E+06	3,67E+06	1,53E+06
12	1,65E+06	2,70E+06	3,57E+06	1,45E+06
13	1,53E+06	2,59E+06	3,47E+06	1,37E+06
14	1,43E+06	2,45E+06	3,42E+06	1,28E+06
15	1,28E+06	2,30E+06	3,25E+06	1,21E+06

Figura 17

Variación del crecimiento diario en cada tratamiento de D. salina cultivada con diferentes medios y un control en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

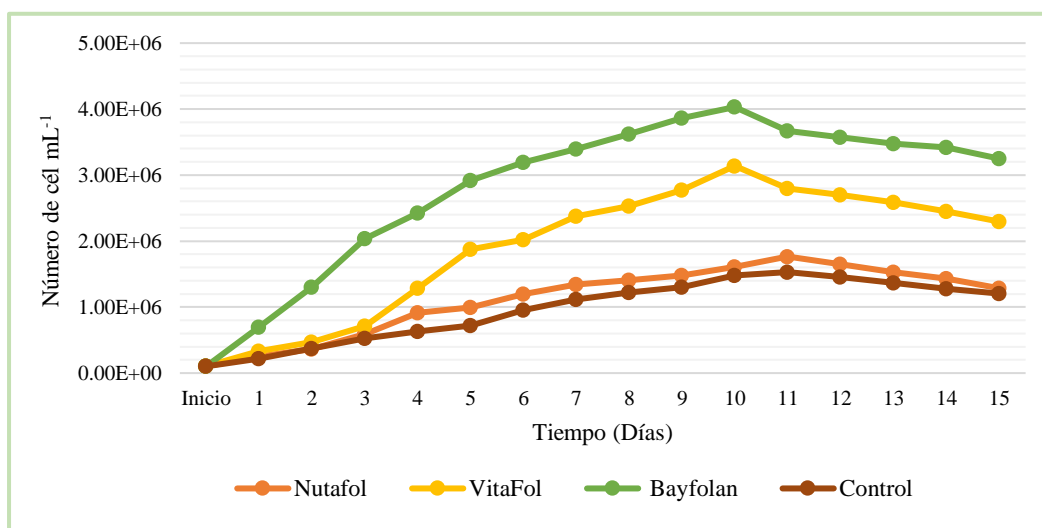


Tabla 8

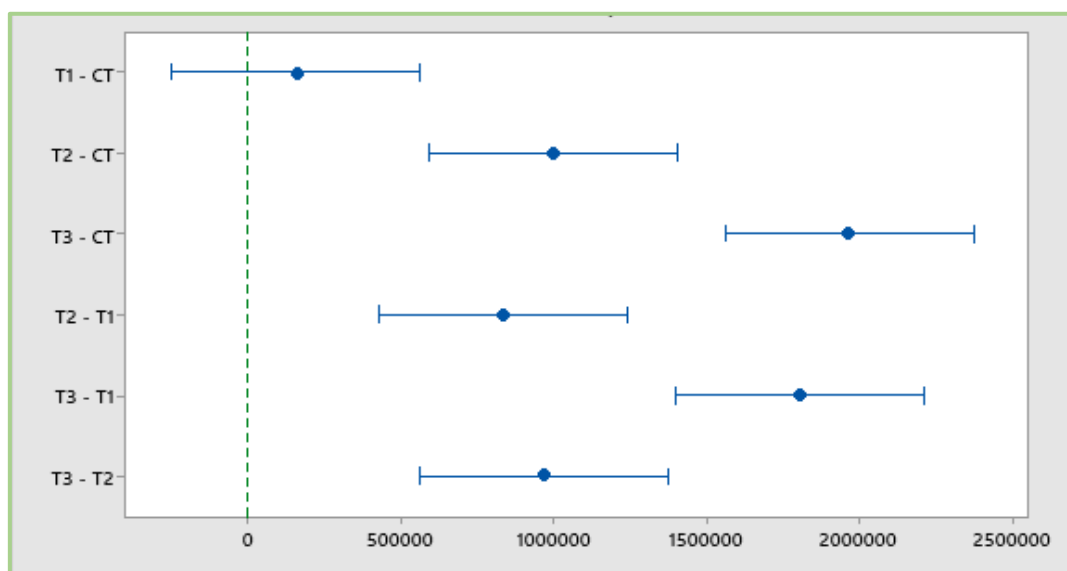
Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos, tiempo y su interacción sobre el crecimiento de D. salina cultivado con diferentes medios y un control en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

Fuente de variación	F	p
Medios de cultivo	682,64*	0,000
Tiempo	104,38*	0,000
Interacción	5,25*	0,000

*Valor significativo al 0,05

Figura 18

Diferencias de las medias para el número de células de los tratamientos de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque



control; observándose también, que entre el medio Nutafol y el control no hay diferencias estadísticas.

El análisis de la prueba de Tukey en función al tiempo (Tabla 9), determinó que el crecimiento significativo a favor del medio Bayfolan, se presentó desde el quinto día de cultivo.

Cinética de crecimiento de *D. salina*

Las constantes de crecimiento poblacional: C, B y M, de *D. salina*, fueron obtenidos a través del modelo matemático de Gompertz modificado (Castro, et al., 2008), tanto para los tratamientos como para el control (Tabla 10); observándose que hubo un buen ajuste de los datos al modelo matemático, ya que los valores de R oscilaron entre 0,9837 y 0,9917. La mayor velocidad de crecimiento (B) se presentó en el Tratamiento Bayfolan (T3): 0,0437 log (cél. /mL/h), los valores de velocidad de crecimiento de los medios Nutafol (T1) y VitaFol (T2) fueron muy cercanos y superaron al medio Guillard (control): 0,0193 log (cél. /mL/h).

Por otro lado, el menor tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento (M) se logró con el medio Bayfolan (T3): 19,1129 h, mientras que el mayor valor de este parámetro correspondió al medio Guillard (control): 40,4668 h , superando a los medios Nutafol (T1): 36,6454 h y VitaFol (T2): 38,6616 h. Asimismo, con respecto a la constante de crecimiento C, el medio Bayfolan (T3) alcanzó la mayor cantidad de células en la fase estacionaria: 1,5151 log (cél mL⁻¹), seguido del medio VitaFol (T2): 1,4468 log (cél mL⁻¹) y en menor cuantía el medio Nutafol (T1): 1,1850 log (cél mL⁻¹) y el medio Guillard (control): 1,1417 log (cél mL⁻¹) (Tabla 10).

Se observa también que existe una relación indirecta entre el valor de C y el valor de M (Figura 19), pues en el medio Bayfolan se ha alcanzado la mayor cantidad de células en la fase estacionaria y el menor tiempo para lograr la máxima velocidad de crecimiento.

Luego, se procedió a analizar las curvas de crecimiento de *D. salina* a fin de establecer las fases del mismo en cada tratamiento (Figura 20). En ellas se puede apreciar que no se presentó la fase de adaptación en ningún tratamiento ni en el control; mientras que la fase exponencial finaliza en 40 h para el medio Bayfolan y para los tratamientos VitaFol, Nutafol y control es de (80 h) continuando, la fase estacionaria en el medio Bayfolan finaliza en (210 h), en tanto que los tratamientos Nutafol (222 h), VitaFol (215 h) y el medio control (240 h). La cantidad de células generadas durante la fase exponencial fue superior en el tratamiento Bayfolan (4,03E+06 células mL⁻¹) en relación a los otros medios de cultivo y control.

Tabla 9

Comparación de medias a través de Tukey para número de células y tiempo de D. salina, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

Tiempo	N	Media	Agrupación				
10	12	2563021	A				
11	12	2440625	A	B			
9	12	2354063	A	B			
12	12	2343333	A	B			
13	12	2238854	A	B			
8	12	2194792	A	B	C		
14	12	2145313	A	B	C		
7	12	2058229	A	B	C		
15	12	2010000	A	B	C		
6	12	1842188	A	B	C	D	
5	12	1625938	A	B	C	D	
4	12	1314896		B	C	D	E
3	12	966563			C	D	E
2	12	627396				D	E
1	12	373333					E

Tabla 10

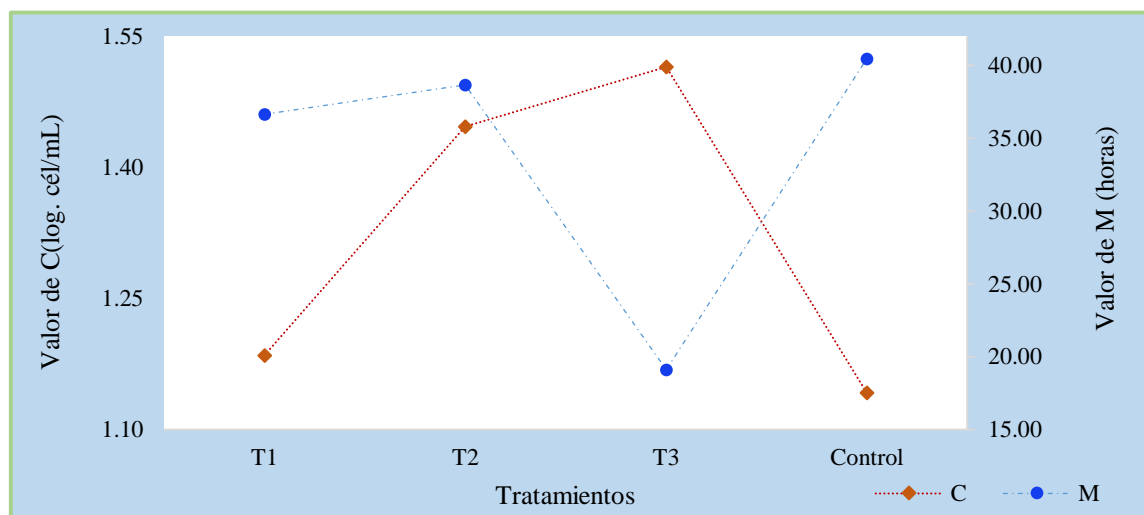
Parámetros de la cinética crecimiento de D. salina ajustado al modelo de Gompertz cultivada en diferentes tratamientos, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

Parámetros	T1	T2	T3	Control
R	0,9917	0,9906	0,9837	0,9867
C	1,1850	1,4468	1,5151	1,1417
B	0,0235	0,0220	0,0437	0,0193
M	36,6454	38,6616	19,1129	40,4668
$\mu_{\text{máx}}$	0,0102	0,0117	0,0244	0,0081
λ	-5,9078	-6,7929	-3,7704	-11,3467
Tg	67,6582	59,1937	28,4567	85,5062
MDP	6,1957	6,4680	6,5293	6,1557

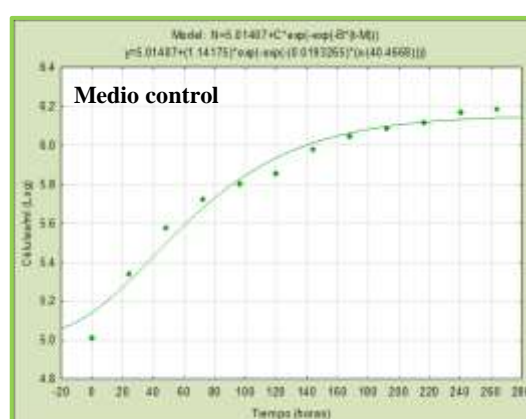
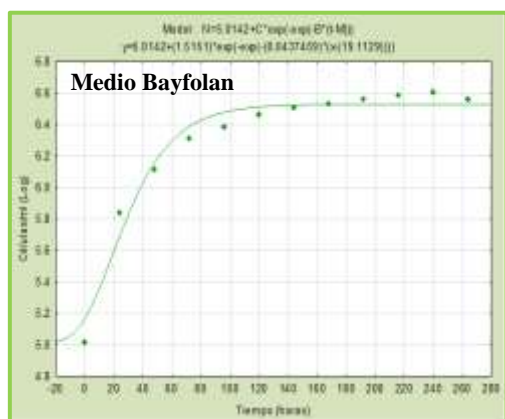
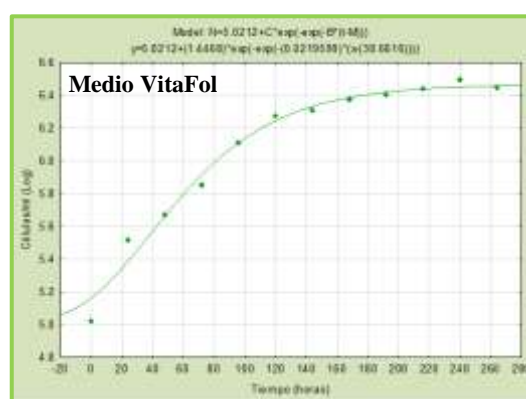
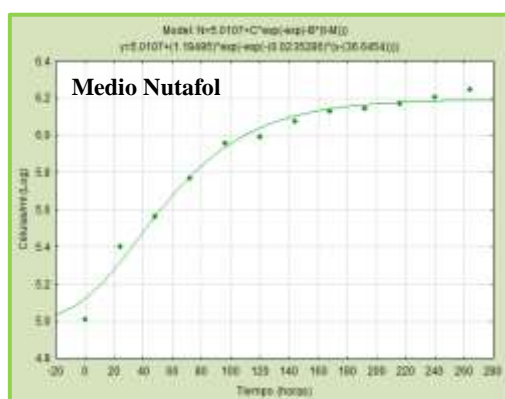
R: coeficiente de correlación; C, B y M: parámetros de la ecuación del modelo de Gompertz; $\mu_{\text{máx}}$: Velocidad máxima de crecimiento log (cél/ml/h); λ : Fase de adaptación (h); Tg: Tiempo de generación (h); MDP: Máxima densidad poblacional log (cél. mL⁻¹).

Figura 19

Variación de los parámetros C y M del modelo de Gompertz por tratamiento de *D. salina*, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

**Figura 20**

Curvas de crecimiento del modelo Gompertz por tratamiento de *D. salina*, cultivada en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque



En relación a los parámetros poblacionales de crecimiento, se observa que la máxima velocidad de crecimiento específico se presentó en el tratamiento Bayfolan: 0,0244 log (cél. /mL/h) y la menor en el control: 0,0081 log (cél. /mL/h); debiendo hacer notar que los medios de cultivo VitaFol, Nutafol y Bayfolan presentaron mayor velocidad de crecimiento específico que el control. El mayor tiempo de generación se evidenció en el control (85,5062 h) y el menor, en el tratamiento Bayfolan (28,4267 h); siendo los tiempos de generación menores en los medios Nutafol, VitaFol y Bayfolan con respecto al control (Tabla 10 y Figura 21).

La mayor densidad poblacional de *D. salina* se logró en el medio Bayfolan con 6,5293 log (cél mL⁻¹) y en menor cantidad en el control con 6,1557 log (cél mL⁻¹); los medios Nutafol, VitaFol y control ostentaron menores densidades poblacionales que el medio Bayfolan (Tabla 10 y Figura 22).

Analizando la máxima densidad poblacional y el tiempo de generación (Figura 22) se aprecia una relación indirecta entre estos dos parámetros, pues a menor tiempo de generación mayor densidad poblacional y viceversa.

Temperatura

Temperatura ambiental

Se observó que los valores de la temperatura ambiental respecto al tiempo (Figura 23), presentaron una tendencia similar en los dos horarios (9 h -16 h), con valores diferentes. En general, la temperatura ambiental osciló de 25 °C a 26,1 °C en el horario 9 h y de 27,1 °C a 27,6 °C en el horario de 16 h.

Temperatura del agua de cultivo

Referente a este punto, debemos indicar que la temperatura promedio del agua (Figura 24), fue muy semejante entre los cuatro tratamientos, observando la tendencia a disminuir su valor desde el primer día de cultivo (27, 67 °C) hasta el día 12 (26,07 °C), para de ahí incrementarse nuevamente hacia el final del cultivo.

pH

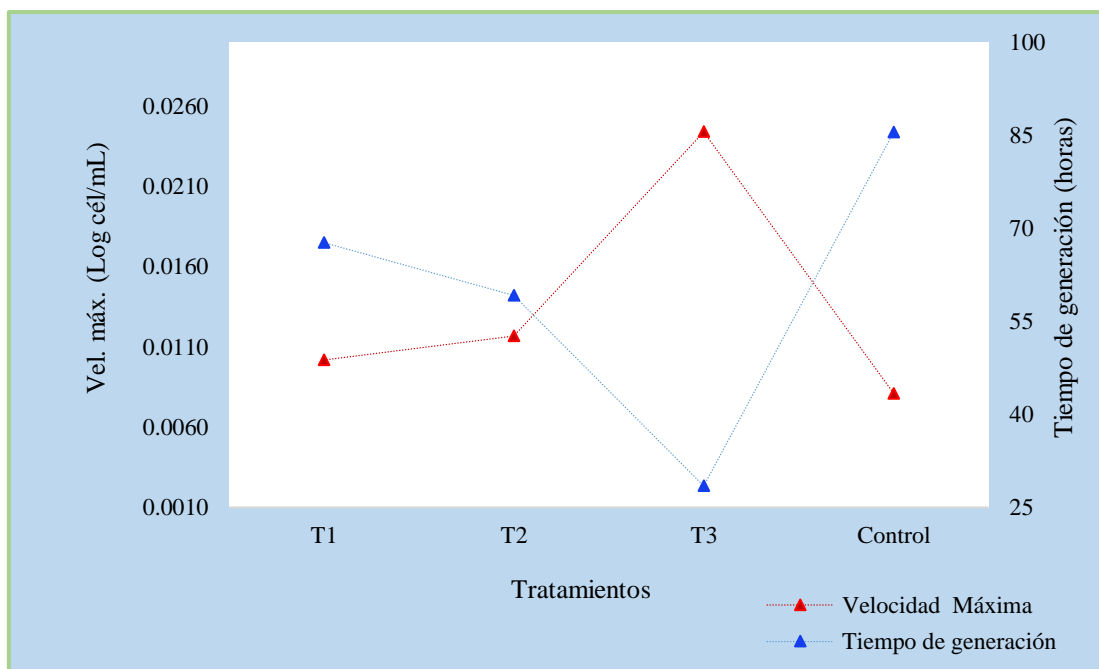
Los valores de pH de los tratamientos fueron muy similares y sin ningún patrón de variación en función al tiempo de cultivo. En general, varió de 7,1 a 7,5 (Tabla 11).

Salinidad

Las concentraciones salinas fueron iguales hasta el día 11 (36 UPS), a partir del cual se incrementó hacia el final del experimento y con pequeñas diferencias entre tratamientos (Tabla 12). En general, varió de 36 UPS a 45 UPS.

Figura 21

Velocidad máxima de crecimiento y tiempo de generación de D. salina, cultivada en diferentes tratamientos en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

**Figura 22**

Máxima densidad poblacional y Tiempo de generación de D. salina, cultivada en diferentes tratamientos, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

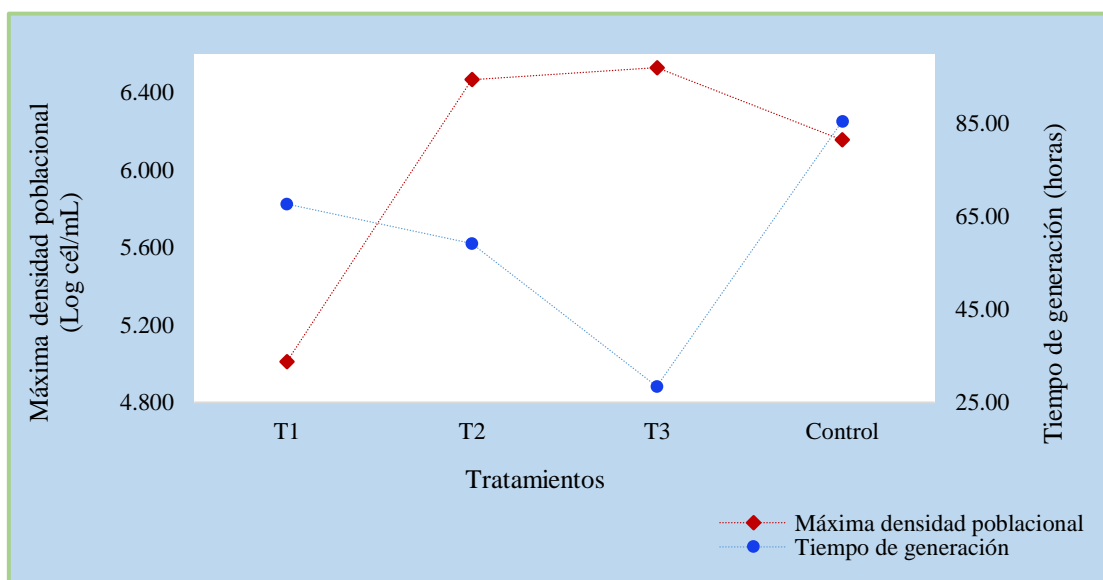
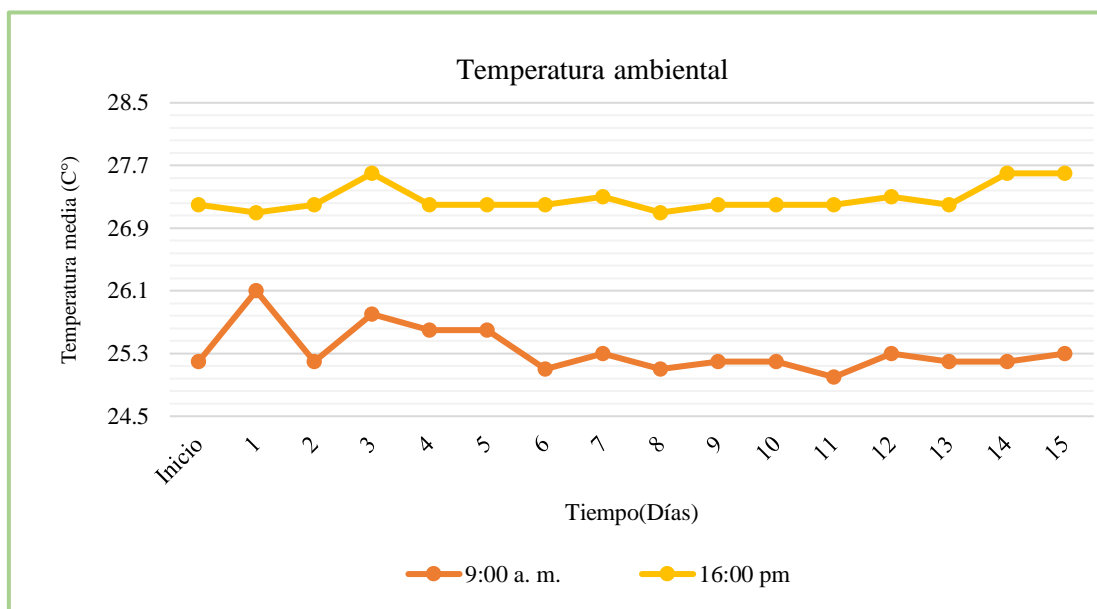


Figura 23

Temperatura ambiental diaria en el cultivo de D. salina, cultivada en diferentes tratamientos, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

**Figura 24**

Temperatura del agua promedio de cada tratamiento, en el cultivo de D. salina, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C., Lambayeque

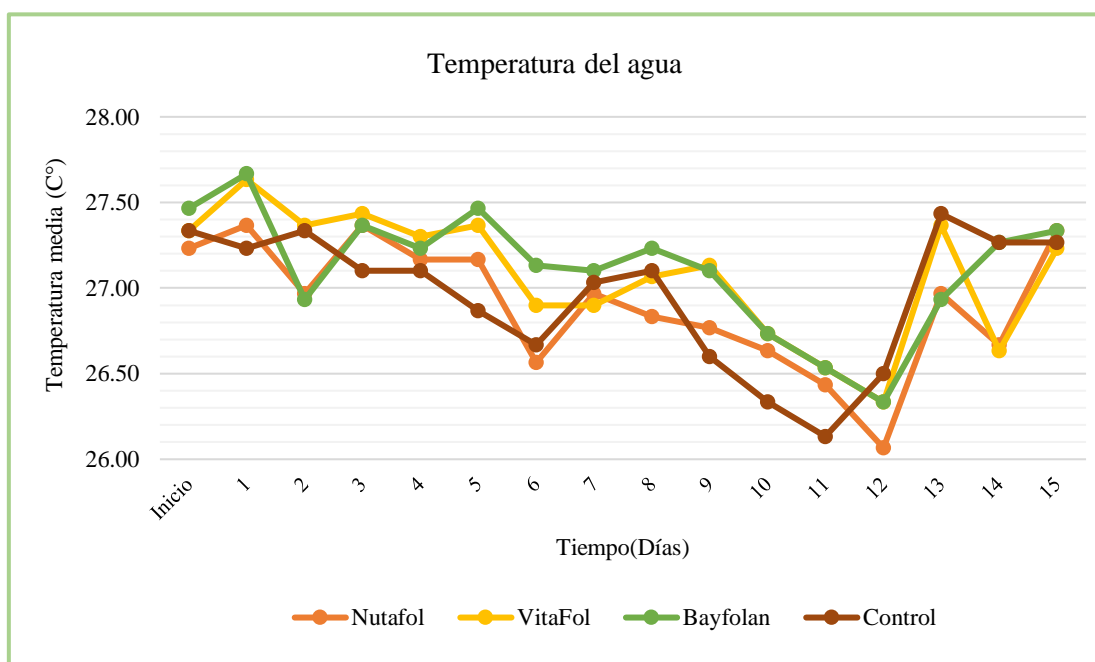


Tabla 11

pH diario promedio en cada tratamiento, en el cultivo de D. salina, en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C. Lambayeque

Tiempo (días)	Nutafol	VitaFol	Bayfolan	Control
Inicio	7,33	7,17	7,17	7,33
01	7,17	7,33	7,33	7,17
02	7,33	7,17	7,33	7,33
03	7,33	7,33	7,33	7,17
04	7,17	7,33	7,17	7,33
05	7,33	7,33	7,33	7,33
06	7,33	7,33	7,33	7,17
07	7,17	7,33	7,33	7,33
08	7,33	7,33	7,33	7,33
09	7,33	7,33	7,50	7,17
10	7,17	7,33	7,17	7,33
11	7,33	7,33	7,33	7,33
12	7,33	7,33	7,50	7,17
13	7,17	7,33	7,17	7,33
14	7,33	7,33	7,33	7,33
15	7,17	7,33	7,17	7,17

Tabla 12

Salinidad diaria promedio en cada tratamiento, en el cultivo de D. salina en el Laboratorio de producción de microalgas - Bioperu vida - S.A.C- Lambayeque

Tiempo (días)	Nutafol	VitaFol	Bayfolan	Control
Inicio	36,00	36,00	36,00	36,00
01	36,00	36,00	36,00	36,00
02	36,00	36,00	36,00	36,00
03	36,00	36,00	36,00	36,00
04	36,00	36,00	36,00	36,00
05	36,00	36,00	36,00	36,00
06	36,00	36,00	36,00	36,00
07	36,00	36,00	36,00	36,00
08	36,00	36,00	36,00	36,00
09	36,00	36,00	36,00	36,00
10	36,00	36,00	36,00	36,00
11	36,00	36,00	36,00	36,00
12	42,00	39,67	40,67	39,67
13	42,00	42,00	42,00	41,33
14	43,33	43,67	45,00	43,33
15	42,00	44,00	43,00	42,00

Discusión

En este estudio se aceptó la hipótesis establecida referente al medio de cultivo Bayfolan, donde se obtuvo el mayor crecimiento y producción de *D. salina*, lo cual fue corroborado con el análisis de varianza y prueba Tukey; lo cual se debería a que los componentes de este medio satisfacen mejor los requerimientos nutritivos de esta alga, que se evidencia al presentar la mayor velocidad de crecimiento específico, menor tiempo de generación y el menor tiempo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento, en contraposición a los medios Nutafol, VitaFol y control que presentaron, menor velocidad de crecimiento, mayor tiempo de generación y mayor tiempo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento; asimismo, si bien todos los medios empleados en la experiencia, contienen Nitrógeno, Fósforo y Potasio, que son beneficiosos para el desarrollo de la microalga, sus proporciones fueron mayores en Nutafol y VitaFol (NPK 20-20-20) en comparación con el Bayfolan (NPK 11-8-6) que fue el más específico con las cantidades de NPK al obtener el mejor crecimiento poblacional; concordando con Vanthoor, Cordoba, Arredondo, Lozano, Garcia y Rodriguez (2014) quienes indicaron que el fertilizante conformado por nitrógeno, así como fósforo, al igual que el potasio, generando el desarrollo de la cepa equivalente a otros medios comerciales; Rahardini, Helmiati y Triyatmo (2018) que sostuvieron que el N y el P suelen ser factores limitantes para el crecimiento de las microalgas, que además de macro y micronutrientes, también necesitan vitaminas para apoyar su crecimiento; y Guillard (1973) y Herrero, Cid y Abalde (1991) que sostienen que el medio Guillard es adecuado para el cultivo de las microalgas marinas por el aporte de macro y micronutrientes.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, coinciden con Arenas, Rodríguez, Vega, Juantorena y Sebastian (2015), quienes cultivaron *Verrucodesmus verrucosus* bajo diferentes medios de cultivo (lixiviados orgánicos de elefante, lombriz, borrego, agua residual y bayfolan forte); logrando la máxima densidad celular en el medio Bayfolan y el agua residual con 14 000 000 cel/ml; Zevallos (2017), quien cultivó *Ankistrodesmus sp*, *Tetraselmis striata* y *Stichococcus sp*. con dos medios (F/2 Guillard y Bayfolan); siendo la máxima densidad celular en el medio Bayfolan con concentraciones de $5,55 \times 10^6$ cél/mL; $7,85 \times 10^6$ cél/mL y $6,35 \times 10^6$ cél/mL, respectivamente; Mercado (2016), quien cultivó *Scenedesmus Obliquus var. Dimorphus* (TURPIN) bajo tres medios (Bayfolan, Guillard, BG-11), a temperatura de 22 °C y pH=8; obteniendo la máxima densidad celular con el medio Bayfolan Forte con 3 451 500 unidades celulares; y Mamani (2018), que cultivó *Chaetoceros gracilis* bajo cuatro medios (Kelpway, Panteranito, Bayfolan y F/2 Guillard),

a una temperatura de $20 \pm 0,5$ °C, con una intensidad lumínica de 3000 Lux, pH promedio de 8,30 y salinidad 33,2 UPS, alcanzando la máxima densidad celular con Bayfolan: $1,75 \times 10^6$ cél/ml.

Por otro lado, en lo que se refiere al desarrollo algal, fue muy similar entre el medio Nutafol y control hasta el onceavo día que alcanzaron el máximo; mientras que los medios Vitafol y Bayfolan lograron su máximo desarrollo algal el décimo día, con mayores valores para el segundo de los nombrados, por las razones ya expuestas anteriormente. Este tiempo de diez días, para alcanzar su máximo desarrollo algal de *D. salina* es menor a aquellos logrados por Suárez, López y Borowitz (1999), que cultivaron *D. salina* con dos medios: el orgánico conformado con glicerol, acetato de sodio y agua residual y Johnson modificado, obteniendo la mayor densidad celular en el medio orgánico con 1.00×10^6 cél mL⁻¹ a los 19 días de cultivo; Yahaut y Mota (2006), cultivaron *D. salina*, *Tetraselmis chuii*, *Isochrysis galbana* con el medio Erd Schreiber, obtuvieron la máxima densidad celular de *D. salina* 4.58×10^6 cél mL⁻¹ en el día 42 de cultivo, *Tetraselmis chuii* 2.58×10^6 cél mL⁻¹ en el día 35 de cultivo e *Isochrysis galbana* 9.69×10^6 cél mL⁻¹ en el día 42 de cultivo; y contradictorio con respecto a Araneda, Tapia y Gómez (1992), quienes al cultivar dos cepas de *D. salina* en cuatro medios de bajo costo (KHP ($KNO_3, H_2PO_4, NaCl$); NHP ($NaNO_3, H_2PO_4, KCl, NaCl$); CHP ($(NH_2)_2CO, H_2PO_4, NaCl$) y KSP ($KNO_3, CaH_4 (PO_4)_2, NaCl$)), encontraron que el medio KSP fue el más eficiente para la Cepa de Laguna la Rinconada con 8.40×10^5 cél mL⁻¹ en el día 8 de cultivo y para la Cepa de Salar de Atacama con 9.20×10^5 cél mL⁻¹ en el día 13 de cultivo.

Con respecto a los parámetros de crecimiento, se aprecia una aparente relación inversa entre la máxima velocidad de crecimiento específico que fue mayor en el medio Bayfolan y el menor tiempo de generación logrado en este mismo medio, sin embargo, esto no es así porque al acortarse el tiempo de generación, la velocidad de crecimiento específico se maximiza. De igual manera, esta aparente relación inversa se observa entre la máxima densidad poblacional y el tiempo de generación, ya que al disminuir el tiempo de generación las células se multiplican rápidamente con lo que los valores de máxima densidad poblacional se hacen mayores.

El análisis de la curva de crecimiento de la microalga *D. salina*, permitió evidenciar la ausencia de la fase de adaptación, observándose la fase exponencial y estacionaria en todos los tratamientos, hecho que estaría indicando que se habría colocado la dosis adecuada de inóculo y que los nutrientes de los medios de cultivo utilizados habrían cubierto

satisfactoriamente los requerimientos de la microalga, de manera que empezaron con celeridad su crecimiento exponencial.

Los parámetros físico-químicos del agua de cultivo de los diferentes tratamientos observaron valores muy similares durante el proceso de cultivo y ello es un indicador de su homogeneidad, así como de la no interferencia de los mismos con el factor motivo de la experiencia de cultivo.

La temperatura del agua, en general, varió de 26 °C a 27 °C, las cuales coinciden con los rangos de temperatura de Moncayo (2014), que cultivó *Dunaliella sp.* con una temperatura de 25°C ± 2°C., Fimbres, Mercado, Murguía y López (2010), que cultivaron *Dunaliella sp.* con una temperatura de 26 ± 1 C° y López y Pantoja (2016), que cultivaron *D. salina* con una temperatura 26,20 a 26,63 °C; asimismo, se encuadran en el amplio rango de tolerancia del género *Dunaliella* que según García, Manzano, Moreno y Guerrero (2000), está entre 20 °C y 40 °C e igualmente con el rango establecido por Abu, Al y Dangly (2010), para dos cepas de *D. salina* que está entre 20 °C y 32 °C.

Los niveles de pH registrados entre 7,1 y 7,5 tienen concordancia con Aguilar (1995), que cultivó *D. salina* en un pH de 7,5; Moncayo (2014), quien cultivó *Dunaliella sp.* a un pH 7,5; encontrándose también en el rango de óptimo crecimiento de 7 a 9 que para *Dunaliella sp.* consideran Ben y Avron (1989), quienes afirman que, los pH superiores o inferiores a estos intervalos reducen la tasa de desarrollo alrededor de dos tercios. Sin embargo, no coinciden con Tejeda, Henao, Alvear y Castillo (2015), quienes encontraron que *D. salina* alcanzó una máxima concentración celular con 8,5 pH, mientras que *Chlorella sp.* presentó una máxima concentración celular con 7,5 pH.

En cuanto a la salinidad tenemos que se mantuvo uniforme con 36 UPS llegando hasta 45 UPS en los últimos días de cultivo teniendo concordancia con García, López, Medina, García y Fimbres (2020), quienes cultivaron *Dunaliella tertiolecta* bajo tres salinidades (35, 45 y 55 UPS) y se obtuvo la máxima densidad celular con 35 UPS.

Las concentraciones salinas del agua de los tratamientos fueron iguales en todos tratamientos hasta el día 11 (36 UPS), para de ahí incrementarse hasta el final del cultivo hasta 44 - 45 ups; siendo que el máximo desarrollo algal fue logrado el día diez en los medios Bayfolan y Vitafol y el día once en los medios Nutafol y control, hecho que estaría indicando que esta es la salinidad adecuada para el cultivo del alga en estos medios; lo cual estaría concordando con García, López, Medina, García y Fimbres (2020), quienes cultivaron

Dunaliella tertiolecta bajo tres salinidades (35, 45 y 55 ups), obteniendo la máxima densidad celular con 35 ups.

Conclusiones

1. El medio de cultivo afectó el rendimiento poblacional de *D. salina*, obteniendo la mayor velocidad de crecimiento específico, el mínimo tiempo de generación, así como la mayor cantidad de células en la fase exponencial: $4,03\text{E}+06 \text{ cél mL}^{-1}$ en el medio Bayfolan.
2. En la curva de crecimiento de la microalga *D. salina* no se presentó la fase de adaptación, apreciándose solo las fases exponencial y estacionaria.
3. Los parámetros físico - químicos del agua fueron muy similares entre los tratamientos y se encontraron dentro de los niveles adecuados para el desarrollo de *D. salina*.

Recomendaciones

1. Realizar el cultivo de *D. salina* con diferentes concentraciones del medio Bayfolan para determinar el nivel adecuado que optimiza su rendimiento poblacional.
2. Realizar el cultivo de *D. salina* con otros fertilizantes considerando el medio Bayfolan como testigo.

Referencias Bibliográficas

- Abu, T., Al, S. y Dangly, J. (2010). Optimum culture conditions required for the locally isolated *Dunaliella salina*. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 1(2), 12-19.
- Aguilar, C. (1995). *Crecimiento y ciclo de vida de la Microalga Dunaliella salina Teodoresco (CLHOROPHYTA, VOLVOCALES) de las Salinas de los Chimus (Ancash) y las Salinas de Chilca (Lima)*. [Tesis de pre-grado, Universidad Ricardo Palma]. Repositorio IMARPE- Institucional. <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe/handle/123456789/2104>
- Aguilar, G., Vega, F., Guerrero, S., Vargas, M. y Badillo, D. (4 de junio de 2022). *PCTI 208. Uso de fertilizantes agrícolas en la producción de la microalga Nannochloropsis salina para su aprovechamiento en acuicultura*. PCTI-Ciencia tecnología e innovación para el desarrollo de México. <https://pcti.mx/articulos/pcti-208-uso-de-fertilizantes-agricolas-en-la-produccion-de-la-microalga-nannochloropsis-salina-para-su-aprovechamiento-en-acuicultura/>
- Araneda, P., Tapia, I. y Gómez, B. (1992). Microalgas del norte de Chile. II. Cultivo en medios de bajo costo de dos cepas de *Dunaliella salina* (Teod. 1905) nativas del Desierto de Atacama. *Estudios Oceanológicos*, 11, 53-59. <https://www.researchgate.net/publication/235255873>
- Arenas, E., Rodríguez, M., Vega, S., Juantorena, A. y Sebastian, J. (junio, 2015). *Doble función de la microalga Verrucodesums verrucosus en el tratamiento de efluentes residuales y producción de lipidos* [Presentación de paper]. XVI Congreso nacional de biotecnología y bioingeniería, Guadalajara, Jalisco, México. https://smbb.mx/congresos%20smbb/guadalajara15/contenidos/IV_ambiental.html
- Augustin, C., Brouillaud, A., Rosso, L. y Carlier, V. (2000). Significance of inoculum size in the lag time of *Listeria monocytogenes*. *Applied Environmental Microbiology*, 66(4), 1706-1710. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1706-1710.2000>
- Ben, A. y Avron, M. (1989). The biotechnology of mass culturing *Dunaliella* for products of commercial interest. *In Algal and Cyanobacterial Biotechnology*, 90-114.
- Borowitzka, M. y Silva, C. (2007). The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. *Journal of Applied Phycology*, 19, 567-590. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9171-x>

- Calderón, A. y Serpa, R. (2003). Efectos del paraquat sobre el crecimiento y la morfología de la microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Ecología Aplicada*, 2(1), 99-102. http://www.scielo.org.pe/scielobase?script=sci_arttext&pid=S1726-22162003000100015
- Castro, G., Valbuena, E., Sánchez, E., Briñez, W., Vera, H. y Leal, M. (2008). Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Revista Científica*, 18 (5), 582-588. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95918509>
- Chitlaru, E. y Pick, U. (1991). Regulation of glycerol synthesis in response to osmotic changes in *Dunaliella*. *Plant Physiology* 96,50-60. <https://doi.org/10.1104/pp.96.1.50>
- Das, S. y Arora, P. (2001). Halophiles. *Encyclopedia of life sciences*, 1-9. <http://www.els.net>.
- Dos Santos, A. (2007). *Estudio del Comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos* [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona]. Repositorio Institucional Universidad Autónoma de Barcelona. <http://hdl.handle.net/10803/5691>
- Escuredo, R. (2014). *Evaluación de la biomasa producida por la microalga Haematococcus sp. y la inducción a la carotenogénesis bajo diferentes condiciones de cultivo* [Tesis de maestría, CICESE]. Repositorio Institucional CICESE. <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/126/1/235331.pdf>
- Fimbres, D., Mercado, L., Murguía, Á. y López, J. (2010). Crecimiento y biomasa de *Dunaliella* sp. cultivada en medios limitantes en nitrógeno. *Biotecnia*, 12(3), 58 - 66. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971159006>
- García, J., López, J., Medina, D., García, N. y Fimbres, D. (2020). Efecto del estrés por nitrógeno y salinidad en el contenido de b-caroteno de la microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Biotecnia*, 22(2), 13–19. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i2.1241>
- García, M., Manzano, C., Moreno, J. y Guerrero, G. (2000). *Biotecnología del cultivo de Dunaliella salina en el litoral Andaluz*. Pesca y Acuicultura N°16/00. Consejería de Agricultura y Pesca, 1-163. https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Biotecnolog%C3%ADa%20del%20cultivo%20de%20Dunaliella%20salina%20en%20el%20Litoral%20Andaluz_BAJA.pdf

- Ginzburg, M. y Ginzburg, B. (1985). Ion and glycerol concentrations in 12 isolates of *Dunaliella*. *Journal Experimental Botany*, 36(168),1064-1074. <https://www.jstor.org/stable/23688516>
- Guillard, R. (1975) Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. Culture of Marine Invertebrates Animals, 29-60. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3
- Herrero, C., Cid, A. y Abalde, J. (1991). Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media. *Aquacultural Engineering* 10(2),99-110. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(91\)90003-3](https://doi.org/10.1016/0144-8609(91)90003-3)
- López, J. y Pantoja, E. (2016). *Crecimiento poblacional y contenido de β -caroteno de Dunaliella salina cultivada en laboratorio a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 ml.L⁻¹) de extracto de lodo proveniente de un cultivo de Argopecten purpuratus* [Tesis de pre-grado, Universidad Nacional del Santa]. Repositorio Institucional UNS. <https://doi.org/http://repositorio.uns.edu.pe/handle/UNS/2578>
- Lluís, J., José F., Mínguez, M., Pavés V., Montañez, A. y Díaz, R. (1 de agosto del 2021) *¿Por qué las microalgas son fundamentales para el futuro de la humanidad? Verde y azul*. <https://verdeyazul.diarioinformacion.com/por-que-las-microalgas-son-fundamentales-para-el-futuro-de-la-humanidad.html>
- Mamani, L. (2018). *Determinación de la productividad de la microalga Chaetoceros gracilis cultivada con fertilizantes inorgánicos y el medio f/2 Guillard* [Tesis de pre-grado, Universidad Nacional de Moquegua]. Repositorio Institucional UNAM. <http://repositorio.unam.edu.pe/handle/UNAM/80>
- Massyuk, N. (1973). *Morphology, Taxonomy, Ecology and Geographic Distribution of the Genus Dunaliella Teod. and Prospects for its Potential Utilization*. Naukova Dumka, Kiev.
- Mercado, E. (2016). *Cultivo de la microalga Scenedesmus Obliquus var. Dimorphus (TURPIN) para la obtención de biomasa y lípidos* [Tesis de maestría, Universidad Ricardo Palma]. Repositorio Institucional URP. <http://repositorio.urp.edu.pe/handle/urp/973>

- Moncayo, S. (2014). *Evaluación del efecto de la salinidad y concentración de nitrógeno en la producción de lípidos totales en la microalga (Dunaliella sp.)* [Tesis de pre-grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional de la Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/7085>
- Montoya, C y Acosta, A. (2021). Crecimiento de *Tetraselmis sp.* empleando fertilizante como medio de cultivo. *Revista ION*, 34(2), 53-64. <https://doi.org/10.18273/revion.v34n2-2021005>
- Ortiz, M., Cortés, C., Sánchez, J., Padilla, J. y Otero, A. (2012). Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas. *Orinoquía*, 16(1), 11–20. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-37092012000100002
- Ostle, B. (1994). *Estadística aplicada: Técnicas de la estadística moderna, cuándo y dónde aplicarlas*. Edit. Limusa. <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/UES.18466/Details>
- Parra, O., Gonzalez, M., De La Rossa, V., Cifuentes, A. y Conejeros, M. (1990). Caracterización biológica de una cepa chilena de *Dunaliella salina* potencialmente comerciable. *Arch. Biol. Med. Exp.* 23, 141-146. http://www.biologiachile.cl/biological_research/VOL23_1990/N2/O_O_Parra_et_al.pdf
- Rahardini, RA., Helmiati, S. y Triyatmo, B. (2018). Effect of inorganic fertilizer on the growth of freshwater *Chlorella sp.* *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 139, 1-9. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/139/1/012005>
- Serpa, R. y Calderón, A. (2005). Efecto del estrés por salinidad en cuatro cepas de *Dunaliella salina* Teod. en el Perú. *Ecología Aplicada*, 4(1-2), 128–133. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v4n1-2/a17v4n1-2.pdf>
- Serpa, R. y Calderón, A. (2006). Efecto de diferentes fuentes de nitrógeno en el contenido de carotenoides y clorofila de cuatro cepas peruanas de *Dunaliella salina* TEOD. *Ecología Aplicada*, 5(1 y 2), 93-99. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162006000100013

- Suárez, G., López, T. y Borowitz, M. (1999). Cultivo de *Dunaliella salina* en medio orgánico. *Boletín del centro de Investigaciones Biológicas*, 33(3), 211-225.
<https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/250>
- Suarez, E. (2012). *Técnicas de cultivo de Dunaliella salina (Teoderesco) con propósito acuícola* [Tesis de pre-grado, Universidad Nacional del Callao]. Repositorio Institucional UNAC.
<http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/354/T.639.2.S85.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tejeda, L., Henao, D., Alvear, M. y Castillo, C. (2015). Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas. *Revista Facultad de Ingeniería*, 24(39), 43-54.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-11292015000200005
- Uriarte, I., Farias, A., Hawkins, A. y Bayne, B. (1993). Cell characteristics and biochemical composition of *Dunaliella primolecta* Butcher conditioned at different concentrations of dissolved nitrogen. *Journal Applied Phycology*, 5, 447-453.
https://www.academia.edu/34720012/Cell_characteristics_and_biochemical_composition_of_Dunaliella_primolecta_Butcher_conditioned_at_different_concentrations_of_dissolved_nitrogen
- Vanthoor, M., Cordoba M., Arredondo B., Lozano C., Garcia J. y Rodriguez, M. (2014). Microalgae and Cyanobacteria production for feed and food supplements en R. Guevara, I. Torres (Ed.), *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI* (pp. 253-275). Springer.
https://www.researchgate.net/publication/262676464_Microalgae_and_cyanobacteria_production_for_food_and_food_supplements
- Yahaut, N. y Mota, V. (2006). Efeito do meio Erd Schreiber no cultivo das microalgas *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(2), 149-152.
<https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v28i2.1037>
- Zare, J. (2018). “Uso de ensilado a base de residuos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) como fertilizante orgánico para producción de microalga marina *Tetraselmis suecica*” [Tesis de pre-grado, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio Institucional UNALM.
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3706>

Zepeda, E. (2017). *Crecimiento e inducción a la carotenogénesis de la microalga Dunaliella sp. en diferentes condiciones de cultivo* [Tesis de maestría, CICESE]. Repositorio Institucional CICESE.

<http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/1261>

Zevallos, S. (2017). *Producción de biomasa algal a partir de microalgas locales para la extracción de metabolitos secundarios* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Repositorio Institucional UNSA.

<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6431>



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUÍZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN

ACTA DE SUSTENTACION N° 019-2023-FCCBB-UI

Siendo las 16:00 horas del día 21 de diciembre de 2023, se reunieron los Miembros del Jurado evaluador de la tesis titulada **"Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina* (Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo"**, designados por Resolución N° 191-2021-VIRTUAL-FCCBB de fecha 15 de noviembre de 2021, con la finalidad de evaluar y calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformada por los siguientes docentes:

Dr. Segundo Juan López Cubas
MSc. Clara aurora Cueva Castillo
Lic. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca
MSc. María Victoria Lora Vargas

Presidente
Secretaria
Vocal
Asesora

Acto de sustentación fue autorizado por Resolución N° 328-2023-VIRTUAL-FCCBB/D, de fecha 20 de diciembre de 2023.

La Tesis presentada y sustentada por la **Bachiller ANGIE JULISSA LISBETH NAVARRO DÁVILA** tuvo una duración de 30 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurados; se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de (MUY BUENO) (18.7) en la escala vigesimal.

Por lo que la Bachiller **ANGIE JULISSA LISBETH NAVARRO DÁVILA** queda **APTA** para obtener el título profesional de Licenciada en Biología – Pesquería de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.


Siendo las 5:00 pm se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.

Firman


Dr. Segundo Juan López Cubas
Presidente


MSc. Clara Aurora Cueva Castillo,
Secretaria


Lic. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca
Vocal


MSc. María Victoria Lora Vargas,
Asesora

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, MSc. María Victoria Lora Vargas, Asesora de Tesis, de la Bachiller Angie Julissa Lisbeth Navarro Dávila.

Titulada:

Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina* (Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo, luego de la revisión exhaustiva del documento constato que la misma tiene un índice de similitud de 19 % verificable en el reporte de similitud del programa Turnitin.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Lambayeque, 05 de enero de 2024.



MSc. María Victoria Lora Vargas
DNI:16647237

ASESORA



Br. Angie Julissa Lisbeth Navarro
Dávila
DNI:72386899

AUTORA

Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina* (Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%	18%	2%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	6%
2	mcf.gsfc.nasa.gov Fuente de Internet	2%
3	csl.noaa.gov Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	1%
6	docplayer.es Fuente de Internet	1%
7	biotecnia.unison.mx Fuente de Internet	1%
8	www.researchgate.net Fuente de Internet	1%
9	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	

Victor Ben W.

1 %

10 cicese.repositorioinstitucional.mx
Fuente de Internet

1 %

11 es.scribd.com
Fuente de Internet

<1 %

12 pmcarbono.org
Fuente de Internet

<1 %

13 repositorio.ug.edu.ec
Fuente de Internet

<1 %

14 repositorio.unam.edu.pe
Fuente de Internet

<1 %

15 dfzljdn9uc3pi.cloudfront.net
Fuente de Internet

<1 %

16 dspace.unitru.edu.pe
Fuente de Internet

<1 %

17 editorial.ucsg.edu.ec
Fuente de Internet

<1 %

18 kipdf.com
Fuente de Internet

<1 %

19 www.scielo.org.co
Fuente de Internet

<1 %

20 Submitted to Submitted on 1693004017254
Trabajo del estudiante

<1 %



21	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
22	oaji.net Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.una.ac.cr Fuente de Internet	<1 %
24	Lesly Tejeda-Benítez, Daniela Henao-Argumedo, Mario Alvear-Alayón, Carlos Rafael Castillo-Saldarriaga. "Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas", REVISTA FACULTAD DE INGENIERÍA, 2015 Publicación	<1 %
25	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1 %
26	documents.mx Fuente de Internet	<1 %
27	www-nds.iaea.or.at Fuente de Internet	<1 %
28	www.tesisenred.net Fuente de Internet	<1 %
29	Cheng, Feng. "Hydrothermal Liquefaction of Microalgae in Batch and Continuous Flow Reactors.", New Mexico State University, 2020 Publicación	<1 %

Escritura manuscrita: Escrito por V

30	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
31	repositorio.upse.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
32	ri.uaq.mx Fuente de Internet	<1 %
33	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Victor Hugo V.



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Angie Julissa Lisbeth Navarro Dávila
Título del ejercicio: Tesis de Pregrado
Título de la entrega: Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina* (Chlorophyceae...
Nombre del archivo: Informe_de_Tesis_-_Angie_Navarro.docx
Tamaño del archivo: 13.49M
Total páginas: 53
Total de palabras: 10,711
Total de caracteres: 58,805
Fecha de entrega: 28-ago.-2023 11:30p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 2153251864

UNIVERSIDAD NACIONAL
"PEDRO RUIZ GALLO"

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE PESQUERÍA Y ZOOLOGÍA

Rendimiento poblacional de *Dunaliella salina*
(Chlorophyceae) en diferentes medios de cultivo.

TESIS
PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA - PESQUERÍA

Presentada por:
Br. Angie Julissa Lisbeth Navarro Dávila

LAMBAYEQUE - PERÚ
2023