

Efecto de la irradiancia en el crecimiento y coloración de la cianobacteria marina *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont, 1892

Effect of irradiance on the growth and coloration of the marine cyanobacterium *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont, 1892

Alejandra Torres Ariño^{1,2}, Marco Antonio Hernández de Dios³, Guadalupe Carrasco López²

¹Instituto de Industrias, ²Laboratorio de Biotecnología de Microalgas. Universidad del Mar, Puerto Ángel, San Pedro Pochutla, Oaxaca, México.

³Programa de Doctorado en ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mar Bermejo No. 195. Col. Playa Palo de Santa Rita, 23090, La Paz, Baja California Sur.

Correspondencia: Alejandra Torres Ariño,  E-mail: cyanodarla@gmail.com

Artículo original | Original article

Palabras clave

Cambio color
Foto-aclimatación
Densidad óptica
Luz
Peso
Pigmentos

RESUMEN | Se aisló a la cianobacteria marina *Spirulina subsalsa* con una coloración poco usual de color vino-rojiza, rica en ficoeritrina, lo que es el primer registro en costas mexicanas (especialmente para Oaxaca). Se caracterizó su crecimiento con base en el peso húmedo, la concentración de clorofila *a*, extraída con acetona al 90%, y la determinación de su espectro de absorción a los 36 días en medio ASNIII bajo diferente intensidad y calidad de luz, empleando papel celofán como filtro. El incremento por peso húmedo fue apenas perceptible en todas las condiciones evaluadas, observándose mayor variación al inicio que al final del ensayo. La clorofila *a* y su espectro mostraron un incremento, mayor con los filtros rojo y azul, menor con amarillo, verde y blanca (control), en donde los espectros de absorción de la clorofila *a* incluyeron longitudes de onda de luz azul y rojo anaranjado, con picos en aproximadamente 450-475 nm y 650-675 nm y un hombro característico de los carotenoides a 450-500 nm. El color de la biomasa varió según el filtro, por lo que la luz en cuanto a cantidad (intensidad) y calidad (longitud de onda) inciden en la calidad de la biomasa producida por dicha cianobacteria. Además, su cambio de coloración se mostró con base en el filtro empleado y evidencia su potencial para obtención de pigmentos para las industrias acuícola y biotecnológica.

Keywords

Colour change
Light
Optical density
Pigments,
Photoacclimation
Weight

ABSTRACT | The marine cyanobacterium *Spirulina subsalsa* was isolated with an unusual wine-reddish coloration, rich in phycoerythrin, which is the first record in Mexican coasts (especially for Oaxaca). Its growth was characterized based on wet weight, the concentration of chlorophyll *a*, extracted with 90% acetone, and the determination of its absorption spectrum at 36 days in ASNIII medium under different intensity and quality of light, using cellophane paper as a filter. The increase by wet weight was barely perceptible in all the tested conditions, with greater variation at the beginning than at the end of the trial. Chlorophyll *a* and its spectrum showed an increase, greater with the red and blue filters, less in yellow, green and white (control), where the absorption spectra of chlorophyll *a* included wavelengths of blue and red-orange light, with peaks at approximately 450-475 nm and 650-675 nm and a characteristic shoulder of carotenoids at 450-500 nm. The color of the biomass varied according to the filter, so that the light in terms of quantity (intensity) and quality (wavelength) affected the quality of the biomass produced by such cyanobacterium. In addition, its color change was shown based on the filter used and shows its potential to obtain pigments for the aquaculture and biotechnology industries.

INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias o cianoprocariontes, son organismos procariontes fotoautótrofos capaces de realizar la fotosíntesis oxigénica (Singh *et al.*, 2011), cuentan con una larga historia evolutiva, dada su gran adaptabilidad, habitando diferentes ambientes, desde terrestres y acuáticos hasta los hábitats que cuentan con las condiciones más extremas, incluyendo una alta exposición a la radiación solar y largos periodos de desecación (Torres-Ariño, 2001; Pelato-Sánchez, 2011; Singh *et al.*, 2011; Morone *et al.*, 2019).

Las cianobacterias contienen una alta cantidad de pigmentos y presentan características espectroscópicas que les permiten aprovechar todo el intervalo PAR de la luz (Saini *et al.*, 2018), además de la clorofila *a*, contienen la presencia de pigmentos auxiliares de recolección de luz, las ficobilinas (ficocianina y ficoeritrina), capaces de absorber la radiación solar en la región del espectro visible en el que la clorofila muestra baja absorción (Bogorad, 1975; Tandeau de Marsac, 1977; MacColl, 1998; Mur *et al.*, 1999; Torres-Ariño, 2001; Carrasco-López, 2008).

La combinación entre la clorofila *a* y las ficobiliproteínas y carotenoides le dan su color azul verdoso característico, aunque también presentan una gama variable de coloraciones que van desde rojas, violetas, amarillas o cafés y hasta negruzcas, dicha coloración está en función de las condiciones ambientales y es causada por alteraciones en las proporciones de los pigmentos fotosintéticos (Canter-Lund y Lund, 1995; Torres-Ariño, 2001, 2004). Tal combinación y estrategias de modificar la cantidad de uno u otro les permiten crecer en profundidades y ambientes poco comunes. Una particularidad de las cianobacterias es la adaptación cromática definida como la capacidad que tienen algunas cianobacterias de modificar la proporción de sus pigmentos dependiendo de las condiciones de luz exteriores.

La producción de pigmentos está relacionada con una baja intensidad luminosa, efecto del ensombrecimiento a elevadas densidades celulares (Hernández-Enríquez, 2007), mientras que a baja intensidad luminosa (0 a $30 \mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$) se ejerce un efecto directo y estadísticamente significativo sobre la síntesis de proteínas; sin embargo, cuando es excesiva, ocasiona la fotoinhibición del proceso fotosintético con ulterior degradación de los pigmentos fotosintéticos, fenómeno conocido como blanqueamiento. No obstante, se ha demostrado que existe un mecanismo de fotoprotección y fotoadaptación hacia un incremento y disminución de la intensidad luminosa y cambio de longitud de onda de la luz, basados en la variación del contenido y relación entre pigmentos fotosintéticos (Canter-Lund y Lund, 1995; Torres-Ariño, 2001, 2004).

El uso de filtros de papel celofán se ha empleado (color del filtro verde-azul) para el desarrollo de cianobacterias y evitar el blanqueamiento durante su cultivo (Pérez-Linares, 2003), así como para demostrar su acción como membrana en el fenómeno osmótico de transporte celular (Buenfil-Gómez *et al.*, 2011), en la extracción de pigmentos fotosintéticos de cianobacterias bentónicas (amarillo y verde) con el fin de minimizar la eventual degradación de pigmentos fotosintéticos (Nieto-Panqueva, 2012), así como filtros para evaluar el efecto de una sola variable como la incidencia de luz de diferentes colores o longitudes de onda sobre la formación de biopelículas fototróficas (Robledo-D'Angelo, 2017).

La cianobacteria del género *Spirulina* es común encontrarla en ambientes extremos, salobres o marinos, mayormente en ambientes eutróficos, donde pueden formar densas poblaciones (Tomaselli *et al.*, 1995; Torres-Ariño, 2001), una de sus especies más comúnmente encontrada es *Spirulina subsalsa*, la cual se caracteriza por una pigmentación azul-verdosa por la presencia de la ficobilina C-ficocianina, el principal pigmento captador de luz, de la mayoría de las cianobacterias.

Para este trabajo se ha aislado una especie marina de *Spirulina subsalsa* con una coloración poco usual de color vino-rojiza rica en ficoeritrina cuyo registro sólo ha sido reportado en un lago salobre en Italia y como tapete microbiano en fondos del mar Báltico (Tomaselli *et al.*, 1991; Włodarska-Kowalczyk *et al.*, 2014), siendo la primera vez para costas mexicanas.

Debido a que la coloración y crecimiento están en función de la luz (calidad- longitud y cantidad-intensidad), el objetivo del presente fue evaluar el efecto de usos de filtros para modificar la intensidad luminosa en el crecimiento y variación de pigmentos (coloración) en esta cepa. La intención es que nuestros resultados contribuyan al entendimiento de la fotoadaptación de esta cepa y se pueda seleccionar la intensidad donde se obtenga una mayor coloración y concentración de las ficobilinas para futuras investigaciones en acuicultura y biotecnología

MATERIALES Y MÉTODOS

Spirulina subsalsa (cepa México, clave BA-3, Fig. 1) fue aislada en la Bahía Arrocito, Bahías de Huatulco, Oaxaca en 2003 y se ha mantenido en la colección de cianobacterias y microalgas del Laboratorio de Biotecnología de Microalgas de la Universidad del Mar, campus Puerto Ángel, Oaxaca, México en medio ASNIII (Rippka *et al.*, 1979). Cultivos líquidos (100 mL en botellas de 250 mL de capacidad total), en sistema estático se mantuvieron durante 15 días a $25\pm 1^\circ\text{C}$ en medio de agua de mar sintético ASNIII (37 ups, pH de 7,5) y fueron los preinóculos para inicio del experimento. Los cultivos (por triplicado) se mantuvieron con agitación manual tres veces al día e iluminación de $279 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($33,67 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) obtenida a partir de lámparas de luz fría de 39 W, posicionada de manera unidireccional por debajo de los cultivos.

Se adecuaron espacios de 1 m^2 , perfectamente sellados cada uno en donde se cubrió la luz blanca de 39 W con papel celofán empleado como filtro de color azul ($143 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ o $14,35 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), verde ($244 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ o $33,50 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), blanco (sin cubrir, $279 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ o $33,67 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), rojo ($5 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ o $0,69 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y amarillo ($312 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ o $56,41 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) a razón de que sólo recibieran esa intensidad y calidad de luz, siendo la luz blanca el tratamiento control (Fig. 1). El preinóculo se obtuvo del cultivo en botellas de cristal con capacidad total de 250 mL con 100 mL de medio ASNIII y 10 mL de inóculo con un tiempo de incubación de 20 días para asegurar la transferencia en fase de cultivo exponencial, estas se agitaron manualmente tres veces al día. El experimento se llevó por triplicado (18 tubos de ensayo para cada condición con agitación suave con vortex tres veces al día) y durante 36 días de cultivo, Se emplearon tubos de ensayo (25x200 mm de diámetro y largo) con capacidad máxima de 70 mL, en donde se inocularon 10 mL de inóculo en 40 mL de medio ASNIII.

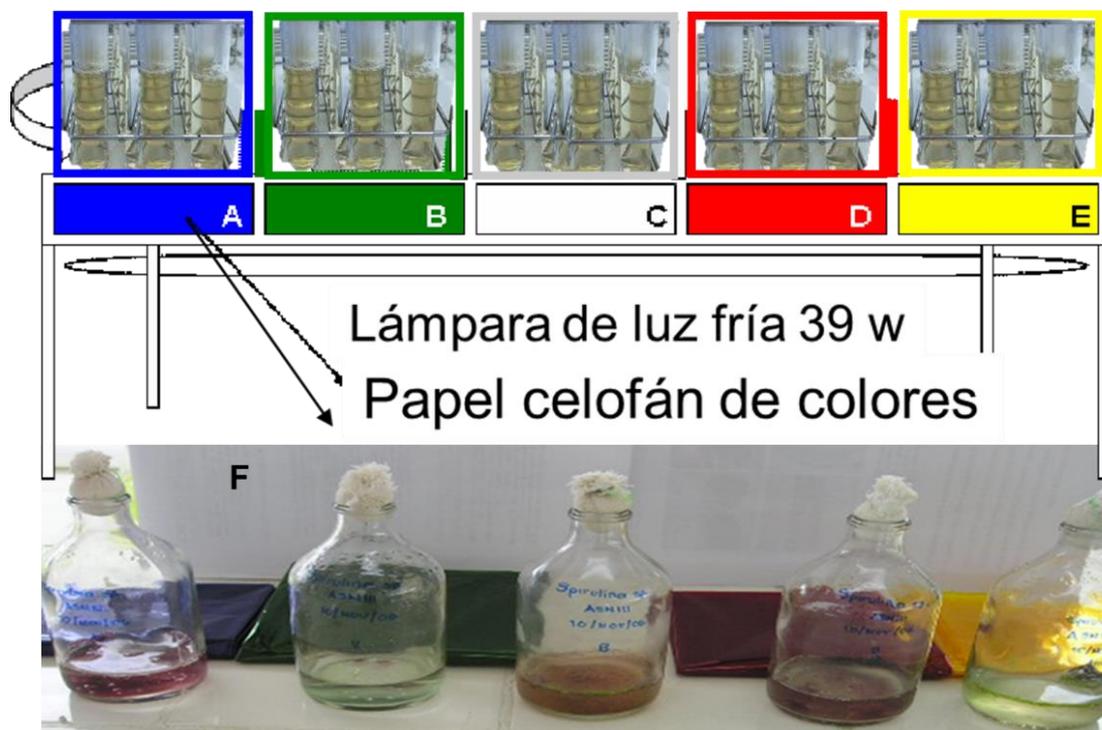


Figura 1. Representación del diseño de acomodación para la exposición a diferentes intensidades de luz de un cultivo de la cianobacteria *Spirulina subsalsa* en medio ASNIII. A) Azul, B) Verde, C) Blanca (control), D) Roja, E) Amarilla y F) Las botellas muestran la coloración al final del experimento.

Cada seis días se retiraron al azar tres tubos para delimitar el incremento en biomasa mediante la determinación de peso húmedo (a razón de que dicha biomasa se empleó para los análisis) y clorofila *a* (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007), además del espectro de absorción (380 nm a 700 nm) obtenido a con un Espectrofotómetro UV-Vis (marca Beckman DU 530) mediante la extracción previa con acetona al 90%. La extracción de pigmentos se llevó a cabo a baja intensidad de luz y en frío para evitar la degradación de

estos. Se registró el cambio de color en el cultivo al final del experimento en una botella que se dejó en cada condición /Fig. 1). Asimismo, cada tres días se registró la cantidad luminosa con un irradiómetro portátil, modelo Sper Scientific y los datos obtenidos en pies candela fueron transformados para fines de comparación con otros autores.

Se realizó un análisis exploratorio previo de los datos de peso húmedo, concentración de clorofila *a*, concentración de carotenoides y absorbancia de los diferentes tratamientos, para observar si cumplían con los supuestos de normalidad y homocedasticidad, dados los supuestos se procedió a realizar la prueba paramétrica análisis de la varianza (ANOVA) de una vía ($\alpha= 0,05$) para corroborar si existen diferencias estadísticamente significativas entre la media de los tratamientos. A los tratamientos con diferencias significativas en el ANOVA, se les realizó un análisis de comparación múltiple de Tukey ($\alpha= 0,05$). Se utilizó el programa *StatSoft STATISTICA 10*.

RESULTADOS

La *Spirulina subsalsa* aislada se caracteriza macroscópicamente por formar una maraña de tricomas entrelazados de coloración vino-púrpura en cultivo y microscópicamente por tener tricomas aislados, 2,3-2,5 μm de ancho, contenido celular de color verde vino-rosado homogéneo a verde azulado pálido, bajo ciertas condiciones de cultivo. Sus giros son yuxtapuestos, densos y regulares, con una separación de 1-2 (-2,9) μm , 2-3 a 3,5 (-4,7) μm de altura (Fig. 2).

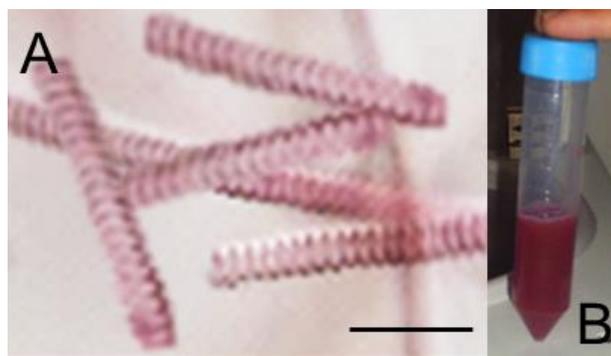


Figura 2. Aspecto y color de la cianobacteria marina *Spirulina subsalsa*. A) Filamentos con espirales apretados característicos vistos en microscopía campo claro 60X. B) Coloración vino-rosado en cultivo. Barra = 5 μm .

La variación del incremento de biomasa por peso húmedo mostró un incremento ligero para las cinco condiciones de cultivo. En la Fig. 3 se muestran los valores de peso húmedo obtenidos a 36 días de cultivo. Los datos a lo largo del experimento variaron más al inicio que al final. No se observó un crecimiento poblacional considerable, aunque en todas las condiciones (diferentes filtros) se incrementó al día 18 de cultivo, a partir del cual decreció. En el filtro blanco presentó un decremento en el día 12, reestableciéndose para el día 18 de cultivo. Aunque hubo diferencias en la coloración final del cultivo (Fig. 1), el crecimiento poblacional por peso húmedo no presentó resultados significativos.

Los resultados del ANOVA de un factor entre grupos señala que no hay una diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) entre las medias de los tratamientos de los filtros respecto al peso húmedo ($F_{(4, 25)}=0,52$, $p>0,05$) (Fig. 3), mostrando poca variación de los datos obtenidos entre los tratamientos.

El crecimiento poblacional a partir del incremento en la absorbancia del conjunto de longitudes de onda que absorbe un pigmento durante su espectro de absorción (380-700 nm) se observa en la Fig. 4, en donde el aumento en cada condición (filtro) fue cada 6 días durante 36 días del experimento. Los espectros de absorción de la clorofila *a* incluye longitudes de onda de luz azul y rojo anaranjado, como se indica con sus picos de aproximadamente 450-475 nm y 650-675 nm y un hombro (un área amplia de la curva sin formar un pico bien definido) característico de los carotenoides a 450-500 nm, que sugiere un incremento de los mismos y que podría relacionarse con la coloración rojiza-marrón al final del experimento.

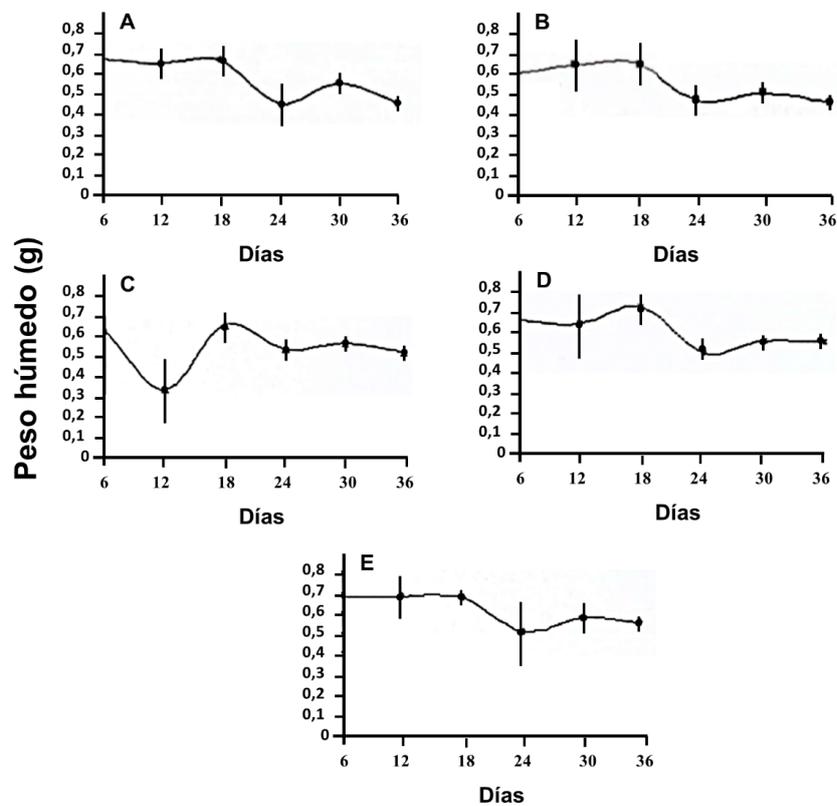


Figura 3. Curvas de acumulación con respecto a la biomasa por peso húmedo en la cianobacteria *Spirulina subsalsa* en medio de cultivo ASNIII ante diferente intensidad de luz. A) Filtro Azul, B) Verde, C) Blanco, D) Rojo y E) Amarillo. Valores promedio (n=3).

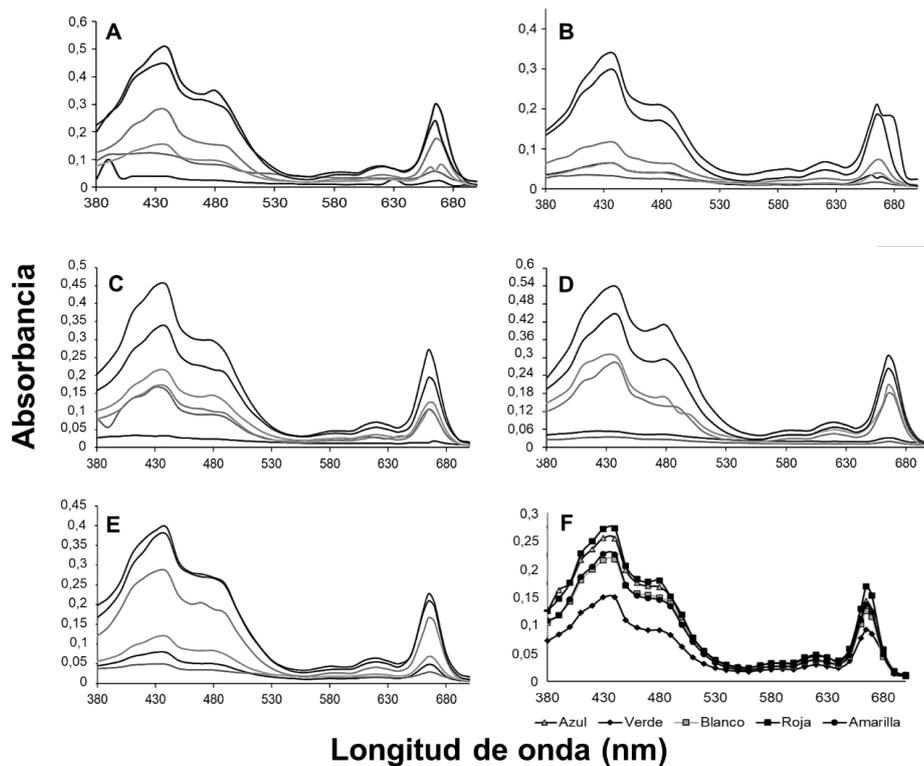


Figura 4. Incremento de la cantidad de pigmentos conforme un barrido de 380-700 nm de un cultivo de *Spirulina subsalsa* en medio ASNIII a diferente intensidad de luz y 36 días de cultivo. A) Azul, B) Verde, C) Amarillo, D) Rojo, E) Blanca y F) Valores promedio de todos los tratamientos (n=3).

En los resultados de crecimiento por el incremento de clorofila *a* determinada a 665 nm, se observó que este pigmento se comportó de diferente manera durante el experimento (Fig. 5). El día cero representa el inicio del experimento a partir del cual se registró el incremento en la cantidad de clorofila *a*. La clorofila *a* bajo el filtro blanco se incrementó hasta el día 24 y luego decreció y fue el menor dato. Por su parte, en el filtro verde se presentó una disminución (día 6) para luego incrementar al final del experimento, pero siempre por debajo de los filtros rojo y azul, mientras que, en el filtro amarillo, el decremento se dio en el día 18 y retomó su aumento al final del experimento, por debajo del rojo y en igual cantidad algunos días con el azul.

Además, la condición roja siempre estuvo en incremento desde el inicio hasta el final. Los valores máximos en los filtros rojo (3,93 $\mu\text{g/mL}$), azul (3,0 $\mu\text{g/mL}$), amarillo (2,70 $\mu\text{g/mL}$), verde (2,20 $\mu\text{g/mL}$) fueron en el día 36 y blanca (2,19 $\mu\text{g/mL}$) el día 24 del experimento. Las diferencias significativas de los tratamientos por día ($p < 0,05$) se dieron en los días 30 y 36 del experimento entre los filtros rojo, azul, amarilla, verde, respecto al blanco (Fig. 5).

Por último, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes filtros respecto a las concentraciones de clorofila *a* ($F_{(4, 30)} = 1,32$, $p < 0,05$). Por lo tanto, los tratamientos presentan una cuasi homogeneidad en la distribución de los datos (Fig. 6).

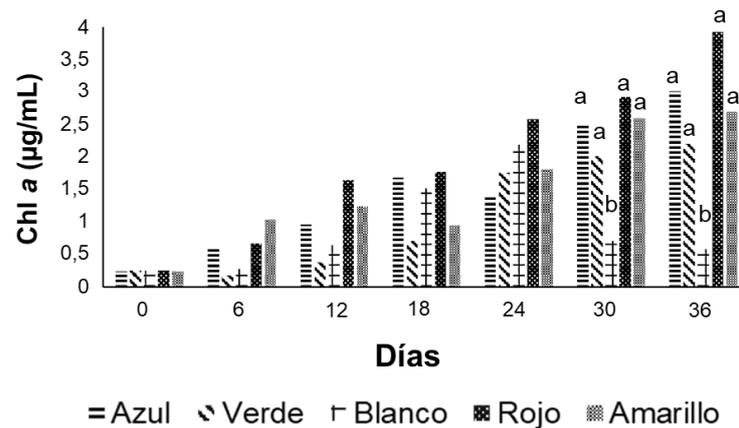


Figura 5. Contenido de clorofila *a* ($\text{Chl } a_{665\text{nm}}$) durante el crecimiento poblacional de *Spirulina subsalsa* en medio ASNIII a diferente intensidad de luz, obtenido a partir de un filtro con papel de celofán, a los 36 días de cultivo. Valores promedios ($n=3$).

La concentración de carotenoides (Fig. 6) reportados para los diferentes filtros muestra una diferencia significativa ($F_{(4, 175)} = 3,3$, $p < 0,05$), la prueba *post-hoc* Tukey demostró que el filtro verde es significativamente diferente al filtro azul ($p < 0,05$) y rojo ($p < 0,05$), mostrando que el uso del filtro verde genera una menor concentración de carotenoides.

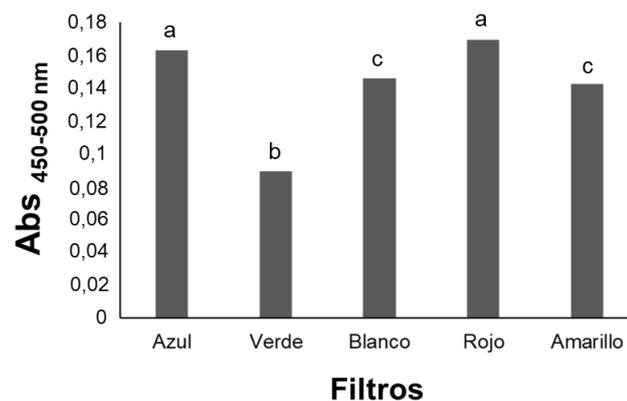


Figura 6. Valor promedio de absorbancia de los carotenoides (450-500 nm) en cada uno de los filtros empleados con la cianobacteria *Spirulina subsalsa*. Valores promedios ($n=6$).

Los mayores incrementos de carotenoides se obtuvieron en los filtros rojo y azul, seguido del blanco, amarillo y verde (Fig. 7). La concentración de carotenoides respecto a los días para cada filtro mostró diferencias significativas: filtro azul ($F_{(5, 30)}=72,7$, $p<0,05$), filtro verde ($F_{(5, 30)}=74,2$, $p<0,05$), filtro blanco ($F_{(5, 30)}=89,585$, $p<0,05$), filtro rojo ($F_{(5, 30)}=77,1$, $p<0,05$) y filtro amarillo ($F_{(5, 30)}=66,9$, $p<0,05$).

La prueba *post-hoc* Tukey mostró que en el filtro azul no hubo diferencias ($p>0,05$) entre el día 6 vs. 0 y 18, así como entre los días 30 y 36. El filtro verde no presentó diferencias ($p>0,05$) entre día 0 vs. 6, 18 y 24, de igual forma entre los días 18 vs. 6 y 24. Para el filtro blanco los días que no presentaron diferencias ($p>0,05$) fueron los días 0 vs. 6 y 18, 6 vs. 18 y, 30 vs. 36. Los días que no presentaron diferencias ($p>0,05$) entre sí para el filtro rojo fueron 0 vs. 6 y 18 vs. 24. Por último, el filtro amarillo no presentó diferencias ($p>0,05$) entre los días 6 vs. 18 y 24 vs. 6 y 18. Es importante mencionar que para todos los tratamientos el día 12 fue el único con diferencia significativa ($p<0,05$) respecto a los demás días (Fig. 7).

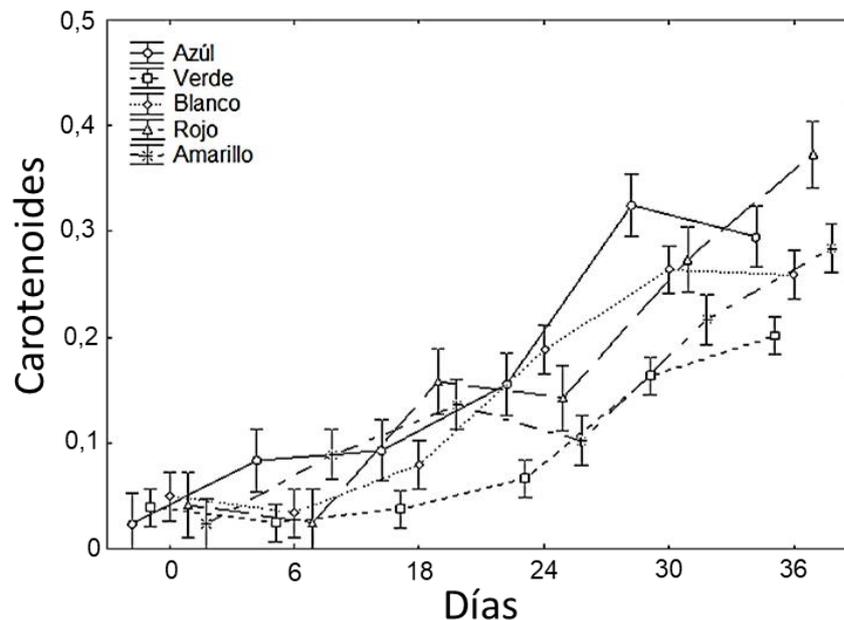


Figura 7. Comparación de los filtros empleados con la presencia de los carotenoides (Abs 450-500nm) con la cianobacteria *Spirulina subsalsa*.

DISCUSIÓN

A pesar del creciente interés en las cianobacterias, desde distintos enfoques, los estudios en fotobiología son escasos (Fiorda-Giordanino, 2014). La manera como incide la intensidad luminosa sobre el crecimiento de las cianobacterias varía de un género a otro e incluso entre especies, incluso de un mismo género se puede presentar diferente respuesta en el crecimiento al incremento de la irradiancia (Wilmotte, 1988; Jonte *et al.*, 2003, Lesser, 2008; Sommaruga *et al.*, 2009; Kehoe, 2010). En general, los trabajos evalúan intensidad más que calidad de luz. De tal forma, que cada cepa tiene un intervalo de crecimiento óptimo en función de la calidad y la cantidad de irradiancia.

Manrique-Reol (2003), menciona que los pigmentos clorofílicos deben su color verde a su capacidad de absorber las fracciones roja y azul de la luz solar, transmitiendo los demás colores cuya mezcla apreciamos en diversos tonos de verde. Sin embargo, hace referencia que la concentración es muy variable entre especies y sobre todo depende, entre otros factores, del estado nutricional, la edad y la historia lumínica previa.

El empleo de filtros, en este caso hechos de papel celofán, son objetos de materiales transparentes que dejan pasar únicamente los fotones de la luz cuya longitud de onda es la misma que la del color asignado al filtro y detiene los otros, sirvió como una oportunidad para observar cambios en la coloración atípica de esta cianobacteria. Diversos trabajos con cianobacterias, principalmente filamentosas (*Anabaena* sp., *Planktothrix agardhii*, *Nodularia* sp., entre otras), al igual que con la *Spirulina subsalsa* de este trabajo,

presentan un óptimo de crecimiento a bajas (5 y 17 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) o moderadas intensidades luminosas (78 y 95 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), aunque estos datos son por encima de este estudio, sí se relacionan con especies que habitan principalmente sustratos bentónicos. Tandeau de Marsac y Houmard (1993) mencionan irradiancias muy bajas entre 1 y 2 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, este trabajo empleó valores desde 0,683 a 56,410 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, y aunque la *S. subsalsa* presentó crecimiento, este no fue significativo en todas las condiciones evaluadas.

Mur *et al.* (1999) y Fiorda-Giordanino (2014) mencionan que varias cianobacterias son sensibles a periodos prolongados de altas intensidades de luz y temperatura. *Planktothrix agardhii*, inhibe su crecimiento al estar expuesta a 18,05 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, ligeramente por encima de nuestra condición azul (14,24 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). En nuestro caso se evidenció crecimiento, aunque también un incremento de los carotenoides como se observa en los espectros de absorción (Fig. 4), lo que puede indicar que la célula se protege o bien participa en el proceso de transferencia de energía, como se ha visto en otras cianobacterias (Pearl *et al.*, 1983). Además, existen otras con la capacidad de soportar altas intensidades de luz y exposiciones prolongadas a la luz, temperatura y desecación (Torres-Ariño, 2001; Pelato-Sánchez, 2011; Singh *et al.*, 2011; Fiorda-Giordanino, 2014; Morone *et al.*, 2019).

Lo que sí se evidenció (cualitativamente) es un cambio en la coloración en la población de cada condición (Fig. 1), demostrando posiblemente la capacidad cromática de esta especie y la diferencia muy probable se da en la concentración de las ficobiliproteínas dentro del ficobilisoma en respuesta a cambios en la longitud de onda y la intensidad luminosa, pero también se ha visto que se da por una limitación de cualquier nutriente como se ha observado en la cianobacteria marina *Synechococcus* sp., además de un cambio en el crecimiento y su producción de metabolitos (Tandeau de Marsac, 1977; Bryant, 1994; Rosales-Loaiza *et al.*, 2008; Sanfilippo *et al.*, 2016).

En este trabajo la coloración de la biomasa al final del experimento nos sugiere un incremento en la ficoeritrina por la coloración rojo-vino con algunos filtros (rojo y azul), aunque algunos carotenoides pueden también proporcionar coloraciones rojizas-marrones (blanca); y en el caso de la clorofila *a*, la cuantificación mostró que el cultivo de la cianobacteria sometida a altas irradiancias produjo menos clorofila *a*, mientras que las bajas e intermedias produjeron más clorofila *a*, aunque es también reconocido que parece estar regulada por el pH, no es tan directo en la clorofila *a*, como mencionan para *Anabaena* sp. (Morales *et al.*, 2002) pero en este estudio, sólo se ajustó al inicio sin dar seguimiento durante el experimento.

Tomaselli *et al.* (1995), mencionan el mismo hombro de carotenoides a una intensidad (15 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) muy cercana a la del filtro azul (14,35 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en donde encontraron producción de β -caroteno, zeaxantina y mixoxantofila, mientras que a una intensidad superior al de este trabajo con 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, la escala de absorción se incrementó, obteniendo mayor cantidad de Zeaxantina, seguido de β -caroteno y mixoxantofila. El incremento del β -caroteno ya ha sido observado en otras cianobacterias como *Planktothrix agardhii*, *Synechococcus* sp. y *Arthrospira platensis* (Millie *et al.*, 1990; Olaizola y Duerr, 1990; Rosales-Loaiza *et al.*, 2008). Por lo que en esta especie podría indicar que el incremento en los carotenoides está sirviendo como un pigmento accesorio y para fotoprotección (Tomaselli *et al.*, 1995; Torres-Ariño, 2001; Torres-Ariño *et al.*, 2019).

Existe una controversia en cuál irradiancia se dan los valores más altos, mientras algunos trabajos mencionan que, a bajas, otros han probado valores por encima de este trabajo a 78 y 156 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y encontrado incremento en los valores relacionados con la clorofila *a*. Raven (1984) y Rosales-Loaiza *et al.* (2008) han sugerido que el mayor contenido de clorofila *a* puede ser encontrado a niveles intermedios de luz y como se mencionó arriba, las cianobacterias, al menos las unicelulares, presentan una variedad de estrategias que les permiten adaptarse a cambios en el ambiente, dentro de las cuales han desarrollado la capacidad de utilizar un intervalo espectral de luz poco aprovechado por otros grupos del fitoplancton, más específicamente la luz verde (~500-550 nm) que domina en el fondo de la zona eufótica, por medio de la síntesis de ficobiliproteínas (Díaz y Maske, 2000; Torres-Ariño, 2001; Carrasco-López, 2008; Sanfilippo *et al.*, 2016).

Es importante revisar los cambios en el contenido de las ficobiliproteínas y con sus variantes, ya que es un sistema de captación de luz complejo. La variedad espectral de estas ha permitido que las cianobacterias colonicen ambientes muy diversos en calidad y cantidad de luz. Se consideran pigmentos accesorios fotosintéticos importantes, dado que su carácter espectral cubre un nicho espectral poco ocupado por pigmentos apolares y por su habilidad para adaptarse cromáticamente, lo cual confiere una ventaja ecológica. Dichos pigmentos les permiten aprovechar al máximo la luz disponible para la fotosíntesis en la columna de agua mediante una mayor absorción efectiva dado que utilizan longitudes de onda que son poco utilizadas por las clorofilas o carotenoides de otros grupos del fitoplancton (Bogorad, 1975; Tandeau de Marsac, 1977; MacColl, 1998; Mur *et al.*, 1999; Torres-Ariño, 2001; Carrasco-López, 2008).

Este es el primer registro para costas mexicanas de dicha cianobacteria inusual obtenida en una proliferación después de un evento de mar de fondo en el 2003. Sin embargo, Tomaselli *et al.* (1995), lo registran para un lago salobre en Italia y Włodarska-Kowalczyk *et al.* (2014), como tapete microbiano en fondos del mar Báltico como la cianobacteria predominante y asociada a otras especies como *Phormidium formosum*, *Pseudanabaena galeata*, *Leptolyngbya* sp., mientras que coincidimos en su asociación con diatomeas de los géneros *Navicula*, *Cocconeis*, *Melosira*, *Coscinodiscus* y en nuestro caso también con una proliferación de *Pseudo-nitzschia* spp.

Włodarska-Kowalczyk *et al.* (2014), mencionan que a una intensidad de luz de $10 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, los tricomas rojos empezaron a cambiar a un color verde azulado, atribuyendo el cambio a la capacidad de contener un amplio intervalo de pigmentos (clorofila *a*, carotenoides y ficobiliproteínas) y a que, en el mar, la columna de agua recibe diferentes condiciones de luz en términos de cantidad (intensidad) y calidad (color), lo que pudimos comprobar aquí con el uso de los diferentes filtros, aunque en la intensidad que mencionan, cercana a la intensidad de nuestro filtro rojo, no hubo tal cambio y el cultivo permaneció vino-rojizo (Fig. 1), los cambios a la coloración azul verdosa, verde limón o inicios de coloración verdosa se dieron con los filtros verde, amarillo y blanco, respectivamente. Es obvio que esta cianobacteria emplea de media a bajas intensidades. Se requiere más investigación para conocer si son componentes de los fondos y a qué profundidad, así como también su temporalidad y cobertura. Si bien son pocos los registros de esta cianobacteria *Spirulina subsalsa* con dicha coloración, la cual cambia según la cantidad y calidad de la luz, por lo que podría ser una opción para estudios ecológicos, biotecnológicos y en acuicultura.

CONCLUSIONES

Las curvas de crecimiento por peso húmedo de *S. subsalsa* presentaron la misma tendencia, aunque los valores mayores fueron obtenidos al exponer el cultivo con el filtro rojo (0,744 g) y azul (0,691 g), seguidos a los expuestos con verde (0,687 g) y amarilla (0,683 g), siendo el menor valor con el filtro blanco como control (0,667 g).

En *S. subsalsa* una baja intensidad luminosa de $0,6934 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($5 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$), obtenida con el filtro rojo, mostró el mayor crecimiento (0,744 g), contenido de clorofila *a* (2,93 $\mu\text{g/mL}$) y de carotenoides al final del experimento, por lo que se propone este filtro para su posterior cultivo.

El desarrollo en bajas y/ o moderadas intensidades luminosas, hace referencia a las condiciones naturales de crecimiento, en donde se sugiere que la cianobacteria de este estudio es de hábitat preferiblemente bentónico, aunque se haya obtenido durante una proliferación suspendida a nivel superficial.

El barrido espectrofotométrico de los cultivos de la cianobacteria *S. subsalsa*, mostró las diferencias en la acumulación de pigmentos con relación a la calidad, cantidad de luz y edad del cultivo, presentando la misma tendencia de acumulación de clorofila *a* y la formación de un hombro característico de los carotenoides, mismo que podría estar ayudando en la captación de luz y en combinación con los otros pigmentos dar la coloración rojiza, violácea y marrón en los filtros rojo, azul y blanco, respectivamente.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado parcialmente por el Programa al Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) y el proyecto interno de la Universidad del Mar (UMAR) ambos a cargo de ATA. A Carlos Alonso Albores Pérez por su apoyo en la obtención de la literatura. A la Universidad del Mar y los laboratorios de Biotecnología de Microalgas y de Investigación por la facilidad de uso de sus instalaciones. A Gabriela Hernández Enríquez por su apoyo técnico y a los revisores anónimos que con sus comentarios mejoraron la calidad del escrito.

REFERENCIAS

- Arredondo-Vega B.O., Voltolina D. (2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, Baja California Sur. México.
- Bogorad L. (1975). Phycobiliproteins and complementary chromatic adaptation. *Annual Review of Plant Physiology*, 26(1), 369–401. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.26.060175.002101>.
- Buenfil-Gómez C., Compeán-García O., Couoh-Solís L., Uribe-Ruiz N. Gómez-Rodríguez E. Pérez-Zapata A. (2011). Manual de prácticas de Biología Moderna. Universidad Autónoma de Campeche, México.
- Bryant D.A. (1994). The molecular biology of cyanobacteria. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland.
- Canter Lund H., Lund J.W.G. (1995). Freshwater algae: their microscopic world explored. Balogh Scientific Books. Biopress Ltd., Bristol, England, United Kingdom.
- Carrasco-López G. (2008). Efecto de la intensidad de luz sobre el crecimiento de la cianobacteria *Spirulina* sp. (BASp-3). Tesis de Ingeniería en Pesquerías con opción en Acuicultura. Instituto Tecnológico de Salina Cruz, Salina Cruz, Oaxaca. México.
- Díaz C., Maske H. (2000). Abundance of coccoid cyanobacteria, hydrographic parameters and the possible underestimation of *in situ* chlorophyll *a* in the northern Gulf of California and the Mexican California current. *Ciencias Marinas*, 26(3), 441–461.
- Hernández-Enríquez G. (2007). Evaluación de la química proximal y toxicidad de *Synechococcus* sp. (Cyanophyta; Orden Croococcales) del Sistema Lagunar Mar Muerto, Oaxaca, México. Licenciatura en Biología Marina, Universidad del Mar, Puerto Ángel, Oaxaca, México.
- Jonte L., Rosales N., Briceño B., Morales E. (2003). La salinidad y la irradiancia modulan el crecimiento de la cianobacteria *Synechocystis minuscula* en cultivos discontinuos. *Multiciencias*, 3(1): 1-13.
- Kehoe D.M. (2010) Chromatic adaptation and the evolution of light color sensing in cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107: 9029-9030.
- Lesser M.P. (2008). Effects of ultraviolet radiation on productivity and nitrogen fixation of the cyanobacterium, *Anabaena* sp. (Newton's strain). *Hydrobiologia* 598: 1-9.
- MacColl R. (1998). Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology*, 124(2–3), 311–334. doi: <https://doi.org/10.1006/jsbi.1998.4062>.
- Manrique-Reol E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, XII(1): 1-11. URL: <http://www.aeet.org/ecosistemas/031/informe4.htm>.

- Millie D.F., Ingram D.A., Dionigi C.P. (1990). Pigment and photosynthetic responses of *Oscillatoria agardhii* (Cyanophyta) to photon flux density and spectral quality. *Journal of Phycology*, 26: 660-666.
- Morales E., Rodríguez M., García D., Loreto C., Marco E. (2002). Crecimiento, producción de pigmentos y exopolisacáridos de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120 en función del pH y CO₂. *Interciencia*, 27(7): 373-378.
- Morone J., Alfeus A., Vasconcelos V., Martins R. (2019). Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals — A new bioactive approach, *Algal Research*, 41: 101541.
- Mur L.R., Skulberg O.M., Utkilen H. (1999). Cyanobacteria in the environment. In: Chorus L., Bartram J. (eds). Toxic cyanobacteria in water: A guide of their public health consequences, monitoring and management. WHO by E and FN Spon, London, England. p: 400-400.
- Nieto-Panqueva C.F. (2012). Cianobacterias bentónicas arrecifales: Evaluación de sus interacciones alelopáticas mediante ensayos in situ en comunidades coralinas Islas del Rosario, Caribe colombiano. Tesis Licenciatura en Biología Marina. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Bogotá, Colombia.
- Olaizola M., Duerr E.O. (1990). Effects of light intensity and quality on the growth rate and photosynthetic pigment content of *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 2: 97-104.
- Pelato-Sánchez M.L. (2011). Las cianobacterias: cooperación *versus* competencia. Disertación Académica. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas Y Naturales de Zaragoza, Zaragoza, España.
- Pearl H.W., Tucker J., Bland P.T. (1983). Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Oceanography*, 28: 847-857.
- Pérez-Linares J. (2003). Caracterización de las secuencias ribosomales 16s (ADNr) de cianobacterias asociadas a eventos de toxicidad. Tesis Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B.C.S., México.
- Raven J.A. (1984). A cost-benefit analysis of photon absorption by photosynthetic unicells. *New Phytologist*, 98(4): 593-625.
- Robledo-D'Angelo O. (2017). Biopelículas fototróficas, ¿qué longitudes de onda lumínica favorecen su desarrollo y diversidad? Ejemplo de enseñanza de fundamentos de ecología microbiana desde una práctica sencilla de laboratorio escolar. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 14(3): 647-652.
- Rosales-Loaiza N., Guevara M., Lodeiros C., Morales, E. (2008). Crecimiento y producción de metabolitos de la cianobacteria marina *Synechococcus* sp. (Chroococcales) en función de la irradiancia. *Revista de Biología Tropical*, 56 (2): 421-429.
- Saini D.K., Pabbi, S., Shukla P. (2018). Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches, *Food and Chemical Toxicology*, 120: 616-624.
- Sanfilippo J.E., Nguyen A.A., Karty J.A., Shukla A., Schluchter W.M., Garczarek L., Partensky F., Kehoe D. M. (2016). Self-regulating genomic island encoding tandem regulators confers chromatic acclimation to marine *Synechococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(21), 6077-6082. doi:10.1073/pnas.1600625113
- Singh R.K., Tiwari S.P., Rai A.K., Mohapatra T.M. (2011). Cyanobacteria: An emerging source for drug Discovery. *Journal of Antibiotic*, (Tokyo), 64(6): 401-412.

- Sommaruga R., Chen Y, Liu Z. (2009). Multiple strategies of Bloom-forming Microcystis to minimize damage by solar ultraviolet radiation in surface waters. *Microbial Ecology*, 57: 667-674.
- Tandeau de Marsac N. (1977). Occurrence and nature of chromatic adaption in cyanobacteria. *Journal of Bacteriology*, 130(1), 82–91.
- Tandeau de Marsac N., J. Houmard. (1993). Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiology Letters*, 104(1-2): 119-189.
- Tomaselli L., Margheri M.C., Sacchi A. (1991). Effects of light on pigments and photosynthetic activity in a phycoerythrin-rich strain of *Spirulina subsalsa*. *Aquatic Microbial Ecology*, 9: 27-31.
- Torres-Ariño, A. (2001). Aislamiento y caracterización de cianobacterias marinas productoras de compuestos de interés biomédico. Tesis de Maestría en Biotecnología Marina. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, Baja California, México.
- Torres-Ariño A. (2004). Uso de cianobacterias en la producción de antibióticos. *Ciencia y Mar*, VIII (23): 43-52.
- Torres-Ariño A., Okolodkov Y.B., Herrera-Herrera N.V., Hernández-Barrera B.L., González-Resendiz L., León-Tejera, H., Gárate-Lizárraga I. (2019). Un listado del fitoplancton y microfitorobentos del sureste del Pacífico mexicano. *Cymbella*, 5(1): 1-97.
- Wilmotte A. (1988). Growth and morphological variability of six strains of *Phormidium cf. ectocarpum* Gomont (Cyanophyceae) cultivated under different temperatures and light intensity. *Archiv für Hydrobiologie/Algological Studies*, 50-53: 35-46.
- Włodarska-Kowalczyk M., Balazy P., Kobos J., Wiktor J., Zajaczkowski M., Moskal W. (2014). Large red cyanobacterial mats (*Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont) in the shallow sublittoral of the southern Baltic. *Oceanologia*, 56(3): 661-666.

Recibido: 10-04-2021
Aprobado: 29-04-2021
Versión final: 29-04-2021

