



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Programa de Magíster en Ciencias con mención en Botánica

“Optimización de la acumulación de metabolitos de interés comercial en la microalga roja *Porphyridium cruentum*”

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias
con mención en Botánica

PABLO ANDRES CASTRO VARELA
CONCEPCIÓN-CHILE
2014

Profesor Guía: Dra. Patricia Gómez Vergara
Dpto. de Botánica. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Resumen General

Porphyridium cruentum (S.F. Gray) Nägeli, 1849 es una microalga perteneciente a la división Rhodophyta (algas rojas). Sus células son esféricas, con un diámetro de entre 4 a 6 μm , sin flagelos, con un cloroplasto de disposición central, un pirenoide, y contiene principalmente ficoeritrina y ficocianina como pigmentos accesorios. No presenta una pared celular como tal, sino que está rodeada por una membrana compuesta de polisacáridos sulfatados. Esta especie tiene gran potencial biotecnológico debido a que acumula varios compuestos de interés comercial tales como: ácidos grasos poliinsaturados (ácido eicosanopentanoico (20:5 ω 3) y ácido araquidónico (20:4 ω 6), polisacáridos de naturaleza sulfatada (con aplicación en la industria alimenticia y farmacéutica), pigmentos como la ficoeritrina (que es utilizada como marcador fluorescente) y enzimas de aplicación terapéutica como la superóxido dismutasa; sin embargo, aún no existe suficiente desarrollo en torno a su cultivo comercial. La versatilidad de las microalgas permite modificar la composición de su biomasa, lo cual es posible mediante la modificación de las condiciones de cultivo y a través de técnicas de mejoramiento genético. El nitrógeno se ha descrito como un macronutriente limitante en los cultivos microalgales, por lo que su concentración y fuente es actualmente sujeto de estudio en la optimización de cultivos. Por otro lado, la composición bioquímica de varias especies de microalgas ha sido exitosamente mejorada mediante técnicas de mutagénesis al azar-selección. En esta investigación se analizó el efecto de la fuente (nitrato, urea y amonio) y concentración de nitrógeno (139mgN /l) (correspondiente a la concentración del medio Jones) y 417mgN/l (triple respecto al medio Jones) para elevar la calidad nutricional de *P.cruentum*; así como determinar la factibilidad de lograr una producción adecuada a mediana escala, que puedan proyectarse hacia la factibilidad económica del cultivo de esta especie a nivel industrial. Adicionalmente se estandarizó y aplico un programa de mejoramiento genetico con el fin de generar mutantes mejorados, simultáneamente, en su capacidad de acumular PUFAs y ficoeritrina.

La cepa en estudio mostró diferencias significativas en el contenido de lípidos y proteínas expresados por biomasa seca, volumen de cultivo y por célula en altas concentraciones de nitrato y urea. El mayor contenido de proteínas totales (47,6%), lípidos totales (4,6%) y la mayor proporción de PUFAs (ARA:28,3%; EPA: 22,2% respecto a los ácidos grasos totales) se observaron cuando se cultivó con urea al triple de la concentración de nitrógeno (14,8mM). Por otro lado, el extracto acuoso preparado con esta biomasa mostró un mayor poder antioxidante (7,84

[C]trolox($\mu\text{mol/ml}$), que el extracto orgánico (1,05 [C]trolox($\mu\text{mol/ml}$)). Posteriormente, estas condiciones de cultivo se escalaron a sistemas de fotobiorreactor tubular de 300 l, al aire libre, en un rango de temperaturas de 12 a 16°C e irradiancias de 600 a 800 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ lográndose, en estas condiciones, mayores producciones de ficoeritrina (15,4 mg de ficoeritrina/g de biomasa seca), lípidos (7,5% por biomasa seca) y EPA (41,3% de los ácidos grasos totales), que las obtenidas en volúmenes de 1 l y en condiciones de cultivo controladas.

Por otro lado, el mejoramiento genético de *P. cruentum* a través de mutagénesis al azar/selección, utilizando radiación UV-C (254nm) como mutágeno y el herbicida Cerulenina en presencia de luz tenue como agentes de selección, permitió seleccionar al mutante B-7. Este mutante, mostró una doble capacidad de incrementar la acumulación de PUFA's (ARA: 27%; EPA: 33,8% de los ácidos grasos totales) y el contenido de ficoeritrina a 11,7mg de ficoeritrina/ g biomasa seca (que corresponde a 1,19 veces el valor obtenido por la cepa silvestre). Por otro lado se evaluó la actividad antioxidante en el extracto acuoso del mutante B-7, observándose un mayor poder antioxidante (11,9 [C]trolox($\mu\text{mol/ml}$), en comparación con la cepa silvestre (7,59 [C]trolox($\mu\text{mol/ml}$)).

Los resultados obtenidos de esta tesis constituyen un importante avance en el manejo biotecnológico de *P. cruentum*, al demostrarse que es posible mejorar su contenido de ficoeritrina y PUFA's mediante manipulación de las condiciones de cultivo y/o mejoramiento genético; además se propone como una cepa escalable a cultivos masivos en condiciones climáticas poco usuales para esta actividad.