

Efectos de la irradiancia, salinidad y fase de cultivo sobre la producción de clorofila *a* y carotenoides totales por las microalgas *Muriellopsis* sp. y *Chlorella sorokiniana*

Effects of irradiance, salinity, and culture phase on chlorophyll *a* and total carotenoid production by the microalgae *Muriellopsis* sp. and *Chlorella sorokiniana*

Dialys Bastardo-Vera¹ , Roraysi Cortez² , Rafael Pinto³ , Miguel Guevara⁴ , Elvira Hernández¹ 

¹Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente. Cumaná, Sucre, Venezuela.

²Centro Nacional de Investigación de Pesca y Acuicultura CENIPA.

³ Laboratório de Biotecnologia Ambiental e Ecotoxicologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

⁴Instituto Superior de Formación Docente Salome Ureña (INFODOSU) Santo Domingo, Dominican Republic.

Correspondencia: Dialys Bastardo-Vera **E-mail:** dialysbastardo58@gmail.com

Original article | Artículo original

Palabras clave

biotecnología
microalgas
irradiancia
salinidad
chlorophyta

RESUMEN | La producción de pigmentos fotosintéticos por microalgas constituye una fuente relevante de compuestos antioxidantes con alto valor comercial. En este estudio se evaluó el efecto de la irradiancia, la salinidad y la fase de crecimiento sobre la acumulación de clorofila *a* y carotenoides totales en las microalgas de agua dulce *Muriellopsis* sp. y *Chlorella sorokiniana*. Ambas especies fueron cultivadas bajo condiciones controladas de laboratorio, utilizando dos niveles de irradiancia (1000 y 10000 lux) y tres salinidades (0, 10 y 15 ‰), considerando las fases exponencial y estacionaria del crecimiento. En *Muriellopsis* sp., los mayores contenidos de clorofila *a* se registraron en la fase exponencial a 1000 lux, particularmente a 15 ‰ ($0,141 \pm 0,014$ mg/L) y 10 ‰ ($0,088 \pm 0,012$ mg/L). En *C. sorokiniana*, los valores más elevados se observaron en la fase estacionaria tanto a 10000 lux y 0 ‰ ($0,535 \pm 0,034$ mg/L) como a 1000 lux y 15 ‰ ($0,0059 \pm 0,0021$ mg/L). En cuanto a los carotenoides totales, *Muriellopsis* sp. alcanzó los mayores valores en la fase estacionaria a 10000 lux, mientras que *C. sorokiniana* presentó máximos en la misma fase a ambas irradiancias bajo 15 ‰. Los resultados evidencian que la irradiancia y la salinidad interactúan con el estado de crecimiento, generando respuestas fisiológicas diferenciadas, lo que sienta bases para la optimización de sistemas de cultivo microalgal con aplicaciones potenciales en acuicultura, particularmente en la producción de biomasa y pigmentos funcionales para la nutrición y el fortalecimiento fisiológico de organismos cultivados.

Keywords

biotechnology
microalgae
irradiance
salinity
Chlorophyta

ABSTRACT | The production of photosynthetic pigments by microalgae constitutes a relevant source of antioxidant compounds with high commercial value. In this study, the effect of irradiance, salinity, and growth phase on the accumulation of chlorophyll *a* and total carotenoids was evaluated in the freshwater microalgae *Muriellopsis* sp. and *Chlorella sorokiniana*. Both species were cultured under controlled laboratory conditions, using two irradiance levels (1000 and 10000 lux) and three salinities (0, 10, and 15 ‰), considering the exponential and stationary growth phases. In *Muriellopsis* sp., the highest chlorophyll *a* contents were recorded in the exponential phase at 1000 lux, particularly at 15 ‰ (0.141 ± 0.014 mg/L) and 10 ‰ (0.088 ± 0.012 mg/L). In *C. sorokiniana*, the highest values were observed in the stationary phase at both 10000 lux and 0 ‰ (0.535 ± 0.034 mg/L), and at 1000 lux and 15 ‰ (0.0059 ± 0.0021 mg/L). Regarding total carotenoids, *Muriellopsis* sp. reached the highest values in the stationary phase at 10000 lux, whereas *C. sorokiniana* showed maximum values in the same phase at both irradiance levels under 15 ‰. The results show that irradiance and salinity interact with the growth state, generating distinct physiological responses, providing a basis for optimizing microalgal cultivation systems with potential applications in aquaculture, particularly in the production of biomass and functional pigments for the nutrition and physiological enhancement of cultured organisms.

INTRODUCCIÓN

La utilidad biotecnológica de los cultivos de microalgas las convierte en un recurso estratégico, debido a la demanda de biomoléculas empleadas en biocombustibles, nutraceuticos y compuestos farmacéuticos (Fernández-Linares *et al.* 2012). Ecológicamente, las microalgas generan oxígeno y constituyen la base de las redes tróficas acuáticas. Comercialmente, son fuente natural de proteínas, lípidos, polisacáridos, vitaminas y pigmentos fotosintéticos; sin embargo, a pesar de su estudio extenso, el conocimiento sobre los factores ambientales que regulan la síntesis de pigmentos sigue siendo limitado (Croce y Van Amerongen 2014).

Entre los pigmentos microalgales destacan la clorofila *a* y los carotenoides, responsables de la captura de energía lumínica y de la protección celular (Croce y Van Amerongen 2014). La clorofila *a*, pigmento clave en fotosíntesis, permite la absorción y transferencia de energía hacia los centros de reacción, y es determinante en el crecimiento y productividad celular (Sathasivam y Ki 2018). Los carotenoides son pigmentos accesorios que complementan la captura de luz, protegen frente al estrés oxidativo y poseen aplicaciones industriales en farmacéutica, nutraceutica y cosmética (Gong y Bassi 2016, Silva *et al.* 2020). Su acumulación se considera una estrategia adaptativa para mantener la homeostasis cuando la capacidad fotosintética óptima se ve superada, aunque se dispone de información limitada sobre cómo estos mecanismos son modulados simultáneamente por factores ambientales y la fase de crecimiento, especialmente en microalgas de agua dulce (Ren *et al.* 2021).

La irradiancia influye fuertemente en la síntesis de pigmentos; niveles altos suelen incrementar carotenoides secundarios con función fotoprotectora y, a veces, reducir clorofila *a* como mecanismo de fotoaclimatación (Coulombier *et al.* 2020, Díaz-MacAdoo *et al.* 2022, Sirohi *et al.* 2022). La salinidad también afecta la fisiología microalgal, se ha determinado que niveles moderados pueden estimular carotenoides y otros antioxidantes, mientras que salinidades elevadas pueden limitar la fotosíntesis y reducir la clorofila, dependiendo de la especie y la interacción con otros factores ambientales (Sirohi *et al.* 2022, Assobhi *et al.* 2024). Estudios aplicados buscan optimizar biomasa y metabolitos modulando luz, salinidad, nutrientes, pH y temperatura (Bermúdez *et al.* 2002, Mostafa y Hashem 2025).

En este contexto, el presente estudio se propone evaluar cómo la irradiancia y salinidad interactúan con la fase de crecimiento en *Muriellopsis* sp. y *Chlorella sorokiniana*, con el objetivo de dilucidar su efecto combinado sobre la dinámica de síntesis de pigmentos y las respuestas fotoaclimativas. Los resultados de esta investigación buscan aportar evidencia científica que permita optimizar los protocolos para obtener respuestas fisiológicas frente al estrés ambiental, el cual representa una oportunidad para mejorar la producción de compuestos de alto valor agregado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de las microalgas

Las microalgas utilizadas en esta investigación fueron *Muriellopsis* sp. y *Chlorella sorokiniana* las cuales se mantienen en el Banco de Germoplasma de algas de la Universidad de Oriente, Venezuela, bajo condiciones controladas de laboratorio ($23 \pm 1^\circ\text{C}$, 1000 lux, fotoperiodo de 12:12) en medio f/2 Guillard (Guillard 1975).

Condiciones de cultivo

Las microalgas se cultivaron por cuadruplicado durante 30 días en matraces de 1000 mL de capacidad, utilizando agua destilada y medio f/2 ($0,88 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrógeno; Guillard 1975), a $23 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7,8 y fotoperiodo 12:12 h luz: oscuridad. Se evaluaron dos irradiancias (1000 y 10000 lux) y tres salinidades (0, 10 y 15 ‰). La iluminación fue suministrada mediante luz blanca artificial. Los cultivos se mantuvieron en condiciones unialgales y se agitaron manualmente dos veces al día.

Parámetros de crecimiento

La densidad celular se evaluó cada 24 h mediante la toma de muestras de 1 mL por triplicado en cada tratamiento, fijadas con 50 μL de solución de Lugol al 10%. El recuento celular se realizó mediante microscopía óptica utilizando una cámara de Neubauer (0,1 mm de profundidad).

Muestreos y cuantificación de pigmentos

Una vez que los cultivos alcanzaron las fases exponencial y estacionaria, se realizó la cosecha total de la biomasa mediante centrifugación a 4000 rpm durante 10 min. Las biomásas obtenidas se mantuvieron congeladas hasta la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y carotenoides totales).

Para la determinación de clorofila *a* y carotenoides totales, se colocaron 20 mg de biomasa fresca en un homogenizador de tejidos (Potter), al que se añadieron inicialmente 2 mL de acetona al 90% hasta obtener una suspensión homogénea. Posteriormente, se agregaron 8 mL adicionales de acetona al 90%, y las muestras se mantuvieron durante 24 h a 4 °C en oscuridad para favorecer la extracción de los pigmentos.

Seguidamente, se centrifugó (Gemmy, Plc-05) a 3500 rpm durante 5 minutos, para separar el extracto de pigmentos, al cual se le midió las absorbancias en un espectrofotómetro (KYNTTEL, UV1700) UV-Visible a 630 nm (A630), 645 nm (A645) y 665 nm (A665) para clorofila *a*, 450 nm (A450) para carotenoides totales. La cuantificación se realizó mediante las ecuaciones de (Sharma *et al.* 2014 y Butnariu *et al.* 2006):

Clorofila *a*

$$\text{Chl } a \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{C \times V_e}{V_c}$$

Donde:

$$C = 11,6(A_{665}) - 1,31(A_{645}) - 0,14(A_{630}).$$

V_e = volumen del extracto (ml)

V_c = volumen del cultivo (ml)

Carotenoides totales

$$\text{Car. tot. (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{A_{490} \times V_e \times f \times 10}{2500}$$

Donde:

V_e = volumen del extracto.

V_c = volumen del cultivo.

f = factor de dilución.

2500 = coeficiente de extinción.

10 = conversión de unidades

Análisis de los resultados

Los contenidos de pigmentos (clorofila *a* y carotenoides totales) de las dos microalgas sometidas a los diferentes tratamientos se analizaron a través de un análisis de varianza de tres factores (salinidad, irradiancia y fase de cultivo). En ambos casos se comprobó la normalidad y homogeneidad de los datos, mientras que, el nivel de significancia de las pruebas se estableció en ($P < 0,05$), siguiendo recomendaciones de Sokal y Rohlf (2003) empleando el paquete estadístico STATGRAPHICS 4.0.

RESULTADOS

Crecimiento celular de las microalgas

El crecimiento celular de ambas microalgas no mostró diferencias significativas ($P > 0,05$) entre irradiancias, salinidades ni sus interacciones. Sin embargo, se observaron mayores densidades celulares a 0 ‰ y 10000 lux en ambas especies.

Contenido de clorofila *a*

El contenido de clorofila *a* en *Muriellopsis* sp. y *Chlorella sorokiniana* durante la fase de crecimiento fue el factor más relevante para ambas especies (*Muriellopsis* sp.; $P=0,0213$; *C. sorokiniana*; $P=0,0160$), mientras que la irradiancia y la salinidad no tuvieron efectos significativos de manera independiente.

En *Muriellopsis* sp., los mayores contenidos se observaron durante la fase exponencial a 1000 lux, con salinidades altas: 15‰: $0,141 \pm 0,014$ mg/L; 10 ‰: $0,088 \pm 0,012$ mg/L.

En relación con *C. sorokiniana*, los máximos valores de clorofila *a* se registraron en la fase estacionaria, tanto a 10000 lux en agua dulce (0 ‰: $0,535 \pm 0,034$ mg/L) como a 1000 lux con alta salinidad (15‰: $0,0059 \pm 0,0021$ mg/L).

Contenido de carotenoides totales

En *Muriellopsis* sp., los carotenoides totales mostraron tendencia a aumentar durante la fase estacionaria bajo 10000 lux, alcanzando máximos de 0,969–1,551 mg/L según la salinidad, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

En *C. sorokiniana*, la salinidad tuvo un efecto significativo ($p=0,0019$), con los valores más altos de carotenoides totales en la fase estacionaria a 15 ‰, tanto a 1000 lux ($1,598 \pm 0,067$ mg/L) como a 10000 lux ($1,655 \pm 0,095$ mg/L).

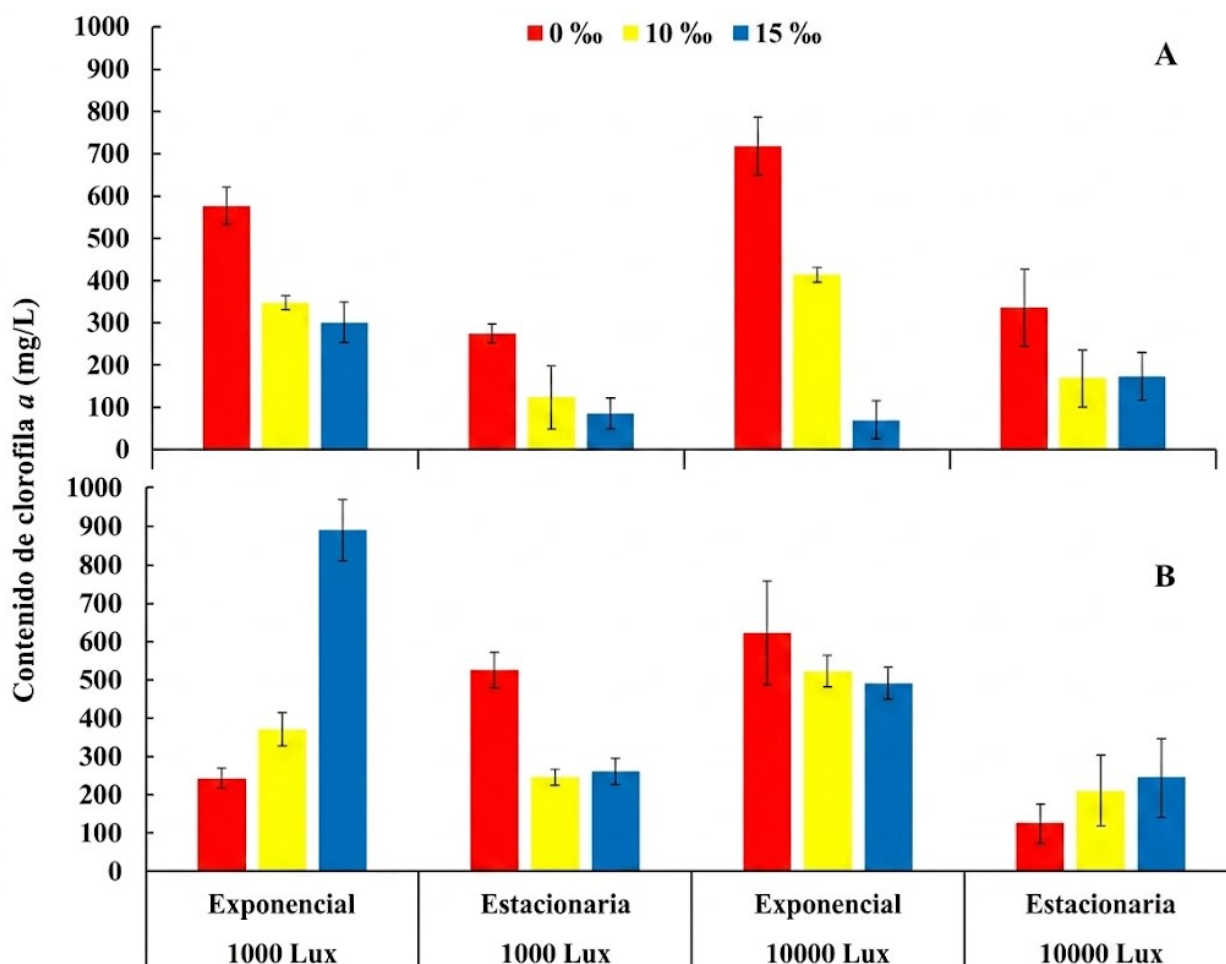


Figura 1. Contenido de clorofila *a* (mg/L) de *Muriellopsis* sp. (A) y *Chlorella sorokiniana* (B) en fase exponencial y fase estacionaria, cultivadas a tres salinidades (0,10 y 15 ‰) y dos intensidades lumínicas (1000 y 10000 lux).

Figure 1. Chlorophyll *a* content (mg/L) of *Muriellopsis* sp. (A) and *Chlorella sorokiniana* (B) during the exponential and stationary phases, cultivated at three salinities (0, 10, and 15 ‰) and two light intensities (1000 and 10000 lux).

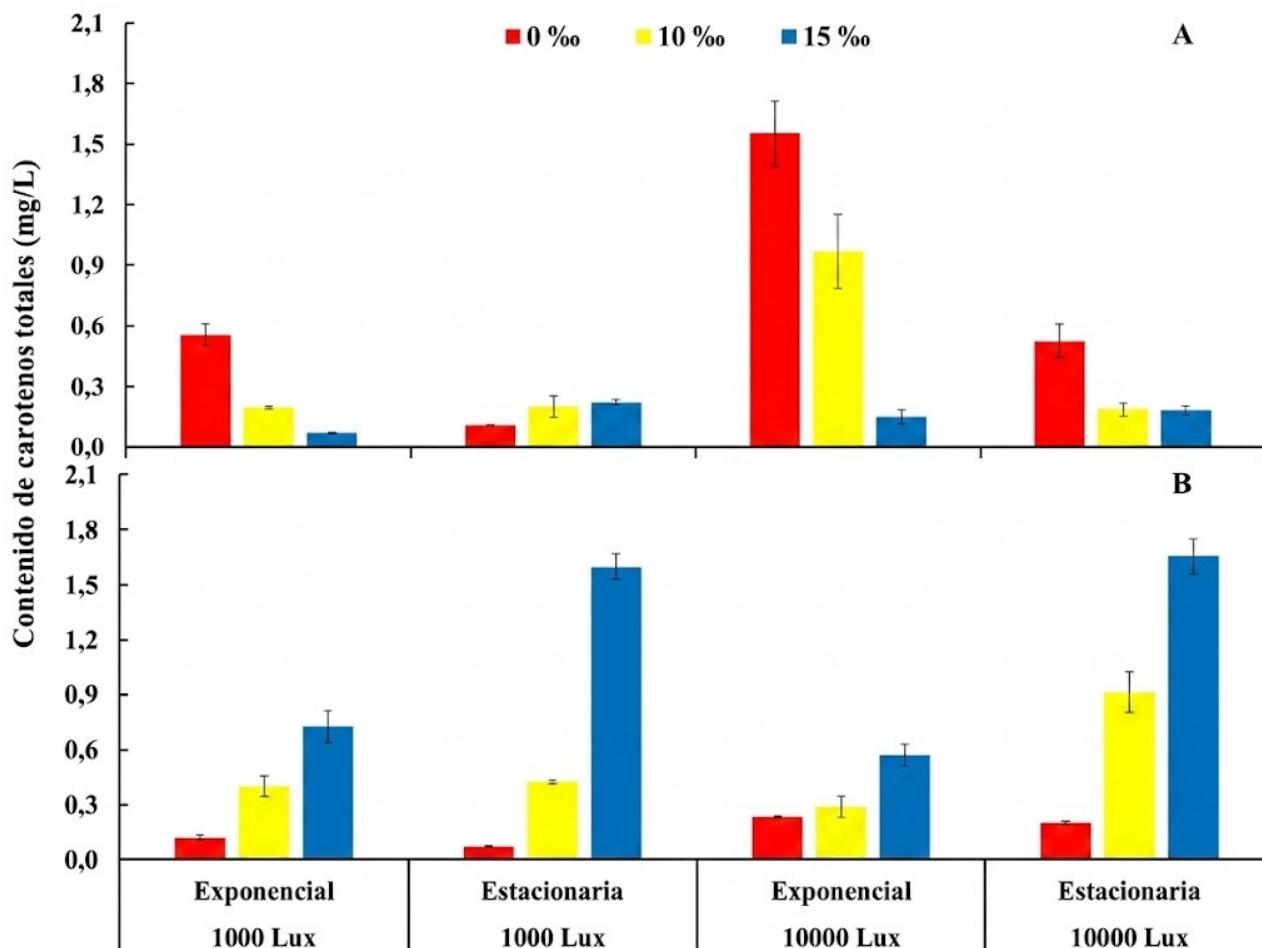


Figura 2. Contenido de carotenos totales (mg/L) de *Muriellopsis* sp. (A) y *Chlorella sorokiniana* (B) en fase exponencial y fase estacionaria, cultivadas a tres salinidades (0,10 y 15‰) y dos intensidades lumínicas (1000 y 10000 lux).

Figure 2. Total carotenoid content (mg/L) of *Muriellopsis* sp. (A) and *Chlorella sorokiniana* (B) during the exponential and stationary phases, cultivated at three salinities (0, 10, and 15 ‰) and two light intensities (1000 and 10000 lux).

DISCUSIÓN

Crecimiento celular

El crecimiento de *Muriellopsis* sp. y *Chlorella sorokiniana* aunque no se detectaron diferencias significativas entre especies, se observaron tendencias de disminución del crecimiento con el incremento de la salinidad. Se observó una disminución progresiva del crecimiento a medida que aumentó la salinidad, lo que podría estar asociado a una redistribución de recursos metabólicos bajo condiciones de estrés osmótico hacia mecanismos de ajuste fisiológico, reduciendo la inversión en proliferación celular. Esta respuesta es consistente con otros estudios que señalan cómo variables a la luz, salinidad y composición del medio, las cuales influyen de manera conjunta sobre el crecimiento de microalgas (*Amphidinium carterae*, *Tetraselmis* sp. y *Dunaliella* sp.) bajo diferentes irradiancias y salinidad (Astocondor *et al.* 2017, De Jaeger *et al.* 2018, Hotos y Avramidou 2021).

En este estudio, los resultados de máximos valores de crecimiento a 0 ‰ en ambas irradiancias, especialmente a 10000 lux, señalan que la irradiancia constituye un factor predominante en la promoción de crecimiento cuando el estrés salino es mínimo. Esto coincide con trabajos que muestran que el incremento de intensidad lumínica promueve la densidad y biomasa en *Chlorella*, aunque la respuesta máxima y el umbral dependan de la especie y condiciones experimentales (Metsoviti *et al.* 2020). Un comportamiento similar se ha observado en la clorofita marina *Dunaliella salina*, donde condiciones hipersalinas y alta irradiancia disminuyen el crecimiento celular (Guevara *et al.* 2016).

Los incrementos de luz aumentan el crecimiento microalgal hasta un umbral fotoinhibidor, aunque la magnitud del efecto y el umbral dependen de la especie (Chavan *et al.* 2014, Chia *et al.* 2018).

Clorofila *a* y carotenoides totales

En ambas especies estudiadas, la mayor producción de clorofila *a* se presentó en la fase exponencial, mientras que los carotenoides totales alcanzaron sus picos en la fase estacionaria. Este patrón es consistente con la distinción funcional entre metabolitos primarios como la clorofila *a*, necesarios para la supervivencia y eficiencia fotosintética durante fases de crecimiento activo y metabolitos secundarios como carotenoides cuya biosíntesis se intensifica en fases posteriores o bajo condiciones de estrés (Sirohi et al. 2022).

En *Muriellopsis* sp. (Fig. 1) se evidenció que los valores más altos de clorofila *a* se presentaron indistintamente tanto a baja como a alta irradiancia, pero siempre asociados principalmente a baja salinidad, con un valor intermedio significativo a 10 ‰. Este comportamiento sugiere que la salinidad actúa como factor modulador más determinante que la irradiancia dentro del intervalo evaluado.

En relación con la fase exponencial bajo alta irradiancia, al menos en las dos primeras salinidades, los valores elevados de clorofila *a* pueden explicarse como una respuesta fotoadaptativa transitoria. En estas condiciones, el incremento de luz favorece inicialmente una mayor síntesis del aparato fotosintético lo que permite sostener la tasa de crecimiento, antes de que ocurran limitaciones por estrés lumínico u osmótico. Sin embargo, este efecto no se mantiene de forma proporcional a la salinidad más alta, donde el incremento deja de ser evidente, lo que sugiere una interacción no lineal entre irradiancia y estrés salino.

Este comportamiento concuerda con lo observado en *Dunaliella* spp., donde la exposición a baja luz induce incremento de clorofila *a* como mecanismo de optimización de captura lumínica, mientras que incrementos de irradiancia pueden estimular respuestas compensatorias temporales dependiendo del estado fisiológico de la célula (Guevara et al. 2016, Aizpuru y González-Sánchez 2024).

En *C. sorokiniana*, se observó un patrón similar, con mayores contenidos de clorofila *a* bajo baja irradiancia y alta salinidad, mientras que bajo alta irradiancia se evidenció un ligero incremento a bajas salinidades, sin diferencias claras entre tratamientos intermedios. Este comportamiento puede explicarse por una reasignación del metabolismo hacia la síntesis de pigmentos fotosintéticos durante la fase exponencial cuando las condiciones favorecen inicialmente el crecimiento, pero comienzan a generar restricciones progresivas asociadas al estrés lumínico o iónico (Rodríguez et al. 2014).

De manera general, la irradiancia y la salinidad modularon el contenido de clorofila *a*, con incrementos de luz favoreciendo mayores contenidos de este pigmento en diversas microalgas, como *Chlorella* sp., *Ankistrodesmus falcatus* y *Nannochloropsis* sp., donde las respuestas fotoadaptativas y la tolerancia salina dependen de cada especie (Rearte et al. 2024).

En cuanto a los carotenoides totales, *Muriellopsis* sp. no presentó variaciones significativas frente a los factores evaluados, lo que sugiere una regulación relativamente estable de la carotenogénesis bajo las condiciones experimentales ensayadas.

En contraste, *C. sorokiniana* mostró un incremento significativo del contenido de carotenoides con el aumento de la salinidad, en concordancia con respuestas reportadas en microalgas verdes sometidas a estrés iónico, donde se favorece la acumulación de pigmentos fotoprotectores como β -caroteno y xantofilas asociados a la mitigación del estrés oxidativo (Sirohi et al. 2022). Asimismo, los valores observados durante la fase exponencial bajo alta irradiancia, particularmente en las primeras dos salinidades, sugieren que, en condiciones de baja y moderada salinidad, las células conservan capacidad de aclimatación fisiológica suficiente para sostener temporalmente la actividad fotosintética y la síntesis de pigmentos antes de que los efectos del estrés se manifiesten de forma más evidente.

La acumulación de carotenoides a altas salinidades y en ambas irradiancias en *C. sorokiniana* coincide con estudios en *Spirulina platensis* y *A. falcatus*, donde se atribuye a mecanismos de fotoprotección frente a luz intensa (Kumar et al. 2011) y a la síntesis de pigmentos fotoprotectores como xantofilas, diadinoxantinas y diatoxantinas (Ben-Amotz & Avron 1982, Borowitzka et al. 1984, Rad et al. 2015).

Respuestas similares a estrés salino han sido reportadas en *Chlorella zofingiensis* y otras especies de *Chlorella*, donde salinidades elevadas estimulan la biosíntesis de carotenoides, aumentando la proporción de carotenoides frente a clorofila *a*,

lo que acentúa la importancia de la salinidad como modulador de rutas secundarias del metabolismo fotosintético (Mora *et al.* 2005).

La acumulación diferencial de clorofila *a* y carotenoides totales en función de irradiancia, salinidad y fase de crecimiento refleja adaptaciones fisiológicas frente a estrés ambiental que pueden explotarse para diseñar estrategias de cultivo optimizadas. Manipular variables ambientales en sistemas controlados permite maximizar la producción de pigmentos de alto valor agregado, lo cual es crucial para aplicaciones industriales, nutraceuticas y cosméticas. La comprensión de estas respuestas también aporta bases para el desarrollo de procesos sostenibles que integren la producción de metabolitos de alto valor con la eficiencia productiva de bioprocesos microalgales (Ren *et al.* 2021).

Esta investigación refleja el potencial de *Muriellopsis* sp. y *C. sorokiniana* como recursos microalgales de interés para la acuicultura, debido a su capacidad de mantener crecimiento y producción de pigmentos bajo distintas condiciones de irradiancia y salinidad. La presencia de clorofila *a* y carotenoides, particularmente compuestos fotoprotectores como β -caroteno y xantofilas, representa una fuente de biomoléculas bioactivas que pueden favorecer el desarrollo de organismos acuáticos al mejorar la respuesta antioxidante, la supervivencia, el crecimiento y la calidad fisiológica de larvas y juveniles cultivados. Asimismo, estos pigmentos contribuyen al fortalecimiento del sistema inmune, la protección frente al estrés ambiental y la pigmentación en especies de interés comercial, lo que resalta el valor biotecnológico de ambas microalgas como potenciales ingredientes funcionales en sistemas acuícolas sostenibles.

CONCLUSIONES

La irradiancia, salinidad y fase de crecimiento modularon diferencialmente la acumulación de clorofila *a* y carotenoides totales en *Muriellopsis* sp. y *C. sorokiniana*.

La fase de crecimiento representó el principal factor asociado a la variación pigmentaria, observándose mayores contenidos de clorofila *a* durante la fase exponencial y una tendencia al incremento de carotenoides en la fase estacionaria.

Chlorella sorokiniana mostró mayor sensibilidad al estrés salino, reflejada en la acumulación significativa de carotenoides, mientras que *Muriellopsis* sp. presentó una respuesta más estable frente a las condiciones evaluadas.

Estos resultados evidencian mecanismos de aclimatación fisiológica con potencial aplicación en la optimización de cultivos microalgales destinados a la producción de biomasa y pigmentos funcionales para aplicaciones biotecnológicas y acuícolas.

Declaración de conflicto de interés de los autores

Los autores declaran que no tienen ningún interés financiero, competitivo, ni relaciones personales que pudieran haber influido en los resultados presentados en este artículo o generar algún conflicto de intereses.

Declaración de contribución de autoría

Dialys Bastardo-Vera: realizó el planteamiento de la hipótesis y objetivos de la investigación, trabajo de laboratorio, análisis de resultados y redacción del manuscrito. Roraysi Cortez: realizó el planteamiento de la hipótesis y objetivos de la investigación, trabajo de laboratorio, análisis de resultados y modelos estadísticos. Rafael Pinto: realizó trabajos de asesorías y verificó los resultados experimentales y contribuyó en sus análisis. Miguel Guevara: realizó trabajos de asesorías y verificó los resultados experimentales y contribuyó en sus análisis. Elvira Hernández : realizó labores de laboratorio y contribuyó en sus análisis.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al grupo de investigación de Cultivo y Biotecnología de Microalgas del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente, por su valiosa colaboración y asesoría para que se llevara a cabo este trabajo.

REFERENCIAS

- Aizpuru A., González-Sánchez A. (2024). Traditional and new trend strategies to enhance pigment contents in microalgae. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 40:272. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04070-3>
- Assobhi B., Ennasry H., Latique S., Kara M., Alaoui Mhamdi M., Bahhou J. (2024). Influence of salinity, nitrogen and phosphorus concentrations on the physiological and biochemical characteristics of two Chlorophyceae isolated from Fez freshwater, Morocco. *Scientific Reports* 14:8259. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58864-4>
- Astocondor M., Mayta H., Egma M., Haydee T., Tarazona R. (2017). Crecimiento poblacional y productividad de la microalga nativa *Chlorella* peruviana bajo diferentes salinidades. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 28(4):976-986.
- Baroli I., Niyogi K. (2000). Molecular genetics of xanthophyll-dependent photoprotection in green algae plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 355(1402):1385-1394.
- Ben-Amotz A., Avron M. (1982). Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: Purification and characterization of β -carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology* 18(4):529-537.
- Bermúdez J., Lodeiros C., Morales E. (2002). Producción de biomasa de la microalga marina *Chroomonas* sp., en función del pH, intensidad luminosa y salinidad. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* 31(1):167-185.
- Borowitzka L., Borowitzka J., Moulton T. (1984). The mass culture of *Dunaliella salina* for fine chemicals: From laboratory to pilot plant. *Hydrobiologia* 116/117(1):115-121.
- Borowitzka M., Siva 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.
- Butnariu M., Sarac I., Pentea M., Samfira I., Negrea A., Motoc M., Çelekli A., Dönmez G. (2006). Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and β -carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22:183-189.
- Chavan K., Chouhan S., Jain S., Singh P., Yadav M., Tiwari A. (2014). Environmental factors influencing algal biodiesel production. *Environmental Engineering Science* 31(11):602-611. <https://doi.org/10.1089/ees.2014.0219>
- Chia S., Chew K., Show P., Yap Y., Ong H., Ling T. (2018). Analysis of economic and environmental aspects of microalgae biorefinery for biofuels production: A review. *Biotechnology Journal* 13(6):1700618. <https://doi.org/10.1002/biot.201700618>
- Coulombier N., Nicolau E., Le Déan L., Antheaume C., Jauffrais T., Lebouvier N. (2020). Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae. *Marine Drugs* 18(2):122. <https://doi.org/10.3390/md18020122>
- Croce R., Van Amerongen H. (2014). Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nature Chemical Biology* 10:492-501. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1555>
- Diaz-MacAdoo D., Mata M., Riquelme C. (2022). Influence of irradiance and wavelength on the antioxidant activity and carotenoids accumulation in *Muriellopsis* sp. isolated from the Antofagasta coastal desert. *Molecules* 27(8):2412. <https://doi.org/10.3390/molecules27082412>
- De Jaeger L., Carreres B., Springer J., Schaap P., Eggink G., Dos Santos M. (2018). *Neochloris oleoabundans* is worth its salt: Transcriptomic analysis under salt and nitrogen stress. *PLoS ONE* 13(4):e0194834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194834>

- Fazeli M., Tofighi R., Samadi H., Jamalifar H. (2006). Effects of salinity on beta-carotene production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 isolated from the Urmia Salt Lake, north of Iran. *Bioresource Technology* 97:2453-2456.
- Fernández-Linares L., Montiel-Montoya J., Millán-Oropeza A., Badillo-Corona J. (2012). Producción de biocombustibles a partir de microalgas. *Ra Ximhai* 8(3):101-115.
- Gong M., Bassi A. (2016). Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. *Biotechnology Advances* 34(8):1396-1412. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.10.005>
- Guevara M., Pinto R., Villarroel J., Hernández E., Díaz R., Gotera B., Cortez R. (2016). Influencia de la salinidad y la irradiancia sobre el crecimiento y composición bioquímica de una nueva cepa de *Dunaliella salina*, proveniente de las salinas de Araya, Venezuela. *Saber* 28(3):494-501.
- Guillard R. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: Smith W.L., Chanley M.H. (Eds.), *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Publishing Corporation, New York, pp. 29-60.
- Hotos G., Avramidou D. (2021). The effect of various salinities and light intensities on the growth performance of five locally isolated microalgae [*Amphidinium carterae*, *Nephroselmis* sp., *Tetraselmis* sp. (var. red pappas), *Asteromonas gracilis* and *Dunaliella* sp.] in laboratory batch cultures. *Journal of Marine Science and Engineering* 9:1275. <https://doi.org/10.3390/jmse9111275>
- Jianjun H., Nagarajan D., Zhang Q., Chang J., Lee D. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances* 36(1):54-67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
- Kumar K., Dasgupta C., Nayak B., Lindblad P., Das D. (2011). Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource Technology* 102(8):4945-4953. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.054>
- Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). *Brock: Biología de los microorganismos*. 8va ed. Prentice Hall, Madrid. 1064 pp.
- Metsoviti M., Papapolymerou G., Karapanagiotidis I., Katsoulas N. (2020). Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of *Chlorella vulgaris*. *Plants* 9(1):31. <https://doi.org/10.3390/plants9010031>
- Mora R., Moronta R., Ortega J., Morales E. (2005). Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. *Ciencia* 13(2):117-124.
- Mostafa H., Hashem M. (2025). Microalgae as a source of carotenoids in foods, obstacles and solutions. *Phytochemistry Reviews* 24:4295-4337. <https://doi.org/10.1007/s11101-024-10039-9>
- Rad F., Aksoz N., Hejazi M. (2015). Effect of saltiness on the growth and production of β -carotene in isolated *Dunaliella* sp. microalga from Qom Salt Lake of Iran. *International Journal of Biosciences* 6(2):164-171.
- Rearte T., Celis P., Abdala-Díaz R., Castro-Varela P., Marsili S., García C., Cerón-García M., Figueroa F. (2024). Increase in polyunsaturated fatty acids and carotenoid accumulation in the microalga *Golenkinia brevispicula* (Chlorophyceae) by manipulating spectral irradiance and salinity. *Biotechnology and Bioengineering* 121(12):3715-3727. <https://doi.org/10.1002/bit.28831>
- Ren Y., Sun H., Deng J., Huang J., Chen F. (2021). Carotenoid production from microalgae: Biosynthesis, salinity responses and novel biotechnologies. *Marine Drugs* 19(12):713. <https://doi.org/10.3390/md19120713>
- Rodríguez L., Gómez L., Peraza Y. (2014). Evaluación del crecimiento de *Chlorella vulgaris* en diferentes concentraciones de vinaza. *Centro Azúcar* 41(4):75-85.
- Sathasivam R., Ki J. (2018). A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. *Marine Drugs* 16(1):26. <https://doi.org/10.3390/md16010026>

- Sharma K., Li Y., Schenk P. (2014). UV-C-mediated lipid induction and settling, a step change towards economical microalgal biodiesel production. *Green Chemistry* 16:3539-3548.
- Silva S., Ferreira I., Dias M., Barreiro M. (2020). Microalgae-derived pigments: A 10-year bibliometric review and industry and market trend analysis. *Molecules* 25(15):3406. <https://doi.org/10.3390/molecules25153406>
- Sirohi P., Verma H., Singh S., Singh V., Pandey J., Khusharia S., Kumar D., Kaushalendra D., Teotia P., Kumar A. (2022). Microalgal carotenoids: Therapeutic application and latest approaches to enhance the production. *Current Issues in Molecular Biology* 44:6257-6279. <https://doi.org/10.3390/cimb44120427>
- Sokal R., Rohlf F. (2003). *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. 3rd ed. Freeman, New York. 915 pp.

