

BIOLUMINESCÈNCIA: LLUM A PARTIR DE LA VIDA

ESTUDI DE L'ALGA *Pyrocystis fusiformis*

Nur Vives Serrat

2n batxillerat B

Tutora: Nuri Pavón

Institut Pla de l'Estany

Banyoles, 3 d'octubre de 2023

AGRAÏMENTS

Aquest treball no hagués pogut ser possible sinó hagués estat perquè he comptat amb el suport de diverses persones, que m'han ajudat en els diferents problemes i àrees que ha comportat el projecte.

En primer lloc, vull agrair a la meva tutora, la Nuri Pavón, per haver-me recolzat durant tot el procés, proporcionar-me ajuda, atenció i eines en tots els entrebancs en què m'he anat trobant. Per revisar-me el treball tantes vegades com ha calgut, corregir-me quan m'equivocava i orientar-me en tot el procés. També de l'institut, vull agrair a en Xevi Sala per facilitar-me els elements d'electrònica principals que he anat necessitat pel marc pràctic del treball. També a l'Àngels Felip i a la Lourdes Farrés, per deixar-me en préstec un microscopi i una lupa binocular de l'institut, a més d'altres materials de laboratori, i per resoldre'm tots els dubtes que he tingut respecte la part del treball relacionada amb el microscopi.

En segon lloc, vull donar les gràcies a la Mía Corominas per haver-me deixat rebre les algues a casa seva, que es troba a Perpinyà. Aquest favor em va permetre tirar endavant tot el treball, ja que d'aquesta manera em va ser possible estudiar les algues bioluminescents de primera mà.

En tercer lloc, vull agrair a en Marc Darnés, estudiant d'enginyeria industrial a la UdG i antic alumne de l'institut, per haver-me facilitat tota l'ajuda necessària durant tot el procés relacionat amb electrònica que ha inclòs el meu projecte.

Finalment, però no menys important, vull donar les gràcies al meu germà Nil, per ajudar-me a fer el disseny i la il·lustració de la portada i anar fent totes les modificacions necessàries perquè el resultat m'agradés.



RESUM

Aquest treball de recerca tracta d'un fenomen poc conegut, la bioluminescència, que és la capacitat que tenen alguns organismes per produir llum i sorgeix, gairebé sempre, a partir d'una reacció química. Els organismes que la presenten són molt diversos, tot i que la majoria d'ells són marins. Actualment, s'han dut a terme projectes encaminats a trobar aplicacions d'aquest fenomen pel futur.

El marc pràctic del treball consisteix en un estudi de l'alga *Pyrocystis fusiformis*, un dinoflagel·lat bioluminescent. Per realitzar-lo, per una banda preparo un medi on puguin viure amb totes les condicions necessàries i a més, mitjançant Arduino, faig un control de la temperatura i la humitat durant quatre setmanes. Aquest medi consta de dues caixes amb quatre mostres d'algues a cada una, que segueixen un cicle circadiari diferent gràcies a dues làmpades de cultiu. D'altra banda, estudio la intensitat i el color de la llum de l'alga. Per poder fer això, prèviament realitzo un muntatge d'un aparell de recollida de dades, mitjançant sensors de color i de llum (LDR i luxòmetres). A partir d'aquí començo a prendre valors de cada mostra, la qual excito mitjançant un agitador magnètic per tal de provocar que emeti llum i sempre en el mateix grau. A més, també aconseguixo observar l'alga amb el microscopi.

Finalment, després d'interpretar els resultats elaborant gràfics, principalment arribo a la conclusió que l'alga emet llum, però no prou intensa com per poder associar-li una potència; en el meu cas, probablement perquè he treballat amb molt poca quantitat d'algues.



RESUMEN

Este trabajo de investigación trata de un fenómeno poco conocido, la bioluminiscencia, que es la capacidad que tienen algunos organismos para producir luz y surge, casi siempre, a partir de una reacción química. Los organismos que la presentan son muy diversos, a pesar de que la mayoría de ellos son marinos. Actualmente, se han llevado a cabo proyectos encaminados a encontrar aplicaciones de este fenómeno para el futuro.

El marco práctico del trabajo consiste en un estudio del alga *Pyrocystis fusiformis*, un dinoflagelado bioluminescente. Para realizarlo, por un lado preparo un entorno donde puedan vivir con todas las condiciones necesarias y además, mediante Arduino, hago un control de la temperatura y la humedad durante cuatro semanas. Este entorno consta de dos cajas con cuatro muestras de algas a cada una, que siguen un ciclo circadiano diferente gracias a dos lámparas de cultivo. Por otro lado, estudio la intensidad y el color de la luz del alga. Para poder hacer esto, previamente realizo un montaje de un aparato de recogida de datos, mediante sensores de color y de luz (LDR y luxómetros). A partir de aquí empiezo a tomar valores de cada muestra, la cual excito mediante un agitador magnético para provocar que emita luz y siempre en el mismo grado. Además, también consigo observar el alga con el microscopio.

Finalmente, después de interpretar los resultados elaborando gráficos, principalmente llego a la conclusión que el alga emite luz, pero no bastante intensa como para poder asociarle una potencia; en mi caso, probablemente porque he trabajado con muy poca cantidad de algas.



ABSTRACT

This research project is about a little-known phenomenon, bioluminescence, which is the ability of some organisms to produce light and arises, almost always, from a chemical reaction. The organisms that present it are very diverse, although most of them are marine. Currently, projects have been carried out to find applications of this phenomenon for the future.

The practical framework of the work consists of a study of the alga *Pyrocystis fusiformis*, a bioluminescent dinoflagellate. To achieve this, on the one hand I prepare a medium where they can live with all the necessary conditions and, through Arduino, I control the temperature and humidity for four weeks. This medium consists of two boxes with four algae samples in each, which follow a different circadian cycle thanks to two crop lamps. On the other hand, I study the intensity and color of alga light. To do this, I previously assembled a data collection device using color and light sensors (LDR and luxometers). From here I start taking values from each sample, which I excite by means of a magnetic agitator to cause it to emit light and always to the same degree. In addition, I also manage to observe the alga with the microscope.

Finally, after interpreting the results in graphic preparation, I mainly conclude that the alga emits light, but not intense enough to be able to associate a power with it; in my case, probably because I have worked with very few algae.



ÍNDEX

| | |
|--------------------------------------|----------|
| INTRODUCCIÓ | 5 |
| Objectius | 5 |
| Hipòtesis | 6 |
| Metodologia | 7 |
| | |
| MARC TEÒRIC | 8 |
| 1. Concepte | 8 |
| 2. Reacció química | 9 |
| 2.1 Luciferina i luciferasa | 11 |
| 3. Història | 13 |
| 4. Tipus de bioluminescència | 15 |
| 4.1 Bioluminescència intracel·lular | 15 |
| 4.2 Bioluminescència extracel·lular | 15 |
| 4.3 Simbiosi de bacteris luminiscent | 15 |
| 4.3.1 Quorum sensing | 16 |
| 5. Organismes bioluminescents | 17 |
| 5.1 Bioluminescència marina | 17 |
| 5.1.1 Ostracodes | 17 |
| 5.1.2 Dinoflagel·lats | 17 |
| 5.1.3 Ctenòfors | 18 |
| 5.1.4 Meduses | 19 |
| 5.1.5 Peixos | 20 |
| 5.1.6 Sifonòfors | 21 |
| 5.1.7 Altres organismes | 22 |
| 5.2 Bioluminescència terrestre | 23 |
| 5.2.1 Cuques de llum | 23 |
| 5.2.2 Fongs | 24 |
| 5.2.3 Centpeus | 25 |
| 5.2.4 Coleòpters | 25 |



| | |
|--|-----------|
| 6. Desenvolupament i aplicacions futures | 27 |
| 6.1 Plantes brillants | 27 |
| 6.2 Il·luminació mitjançant bacteris i algues | 28 |
| 6.3 Aplicacions mèdiques i altres | 31 |
| 7. <i>Pyrocystis fusiformis</i> | 33 |
| MARC PRÀCTIC | 38 |
| 1. Medi i cura de les algues | 38 |
| 1.1 Preparació del material | 42 |
| 1.2 Ús d'arduino en les caixes | 44 |
| 1.3 Control de la temperatura i la humitat | 47 |
| 2. Aparell de recollida de dades | 51 |
| 3. Estudi de la llum emesa per l'alga | 54 |
| 3.1 Experiència a partir dels luxòmetres, els LDR i el sensor de color | 54 |
| 3.1.1 Relació entrada analògica-potència | 55 |
| 3.2 Estudi alternatiu sensor de color | 58 |
| 4. Interpretació de resultats | 59 |
| 4.1 Estudi a partir dels luxòmetres, els LDR i el sensor de color | 59 |
| 4.2 Resultats estudi població d'algues 400 mL | 63 |
| 4.3 Resultats estudi alternatiu amb el sensor de color | 64 |
| 5. Observació al microscopi | 66 |
| CONCLUSIONS | 68 |
| BIBLIOGRAFIA | 72 |
| 1. Blogs i pàgines web | 72 |
| 2. Articles | 75 |
| 3. Treballs autopublicats a internet | 78 |
| 4. Patents | 78 |
| 5. Vídeos | 78 |
| 6. Imatges | 79 |
| ANNEX | 85 |



INTRODUCCIÓ

Aquest treball de recerca té el seu origen en la fascinació que sento pel curiós i espectacular fenomen conegut com a “mar d’estrelles”, el qual es pot observar des d’alguns llocs del planeta. Aquesta meravella és possible gràcies a la bioluminescència, per la qual cosa vaig fer una petita recerca. Després d’aprendre’n més detalls, vaig pensar que seria un bon tema pel meu TdR i alhora una oportunitat per estudiar-la de més a prop. A més, també volia investigar si realment es podria aprofitar pel nostre ús quotidià aquesta habilitat que tenen alguns éssers vius, ja que a mesura que anava buscant informació, pensava cada vegada més en una làmpada que en comptes de funcionar mitjançant electricitat ho fes a partir de la bioluminescència. Per aquests motius he decidit endinsar-me en aquesta part de la biologia tan excepcional, i li he volgut donar més visibilitat a través d’aquest treball.

OBJECTIUS

El meu **primer objectiu** en aquest treball és **comprovar si realment seria viable dissenyar un sistema d’il·luminació basat en la bioluminescència**, és a dir, que no necessiti electricitat per tal de produir llum.

El meu **segon objectiu** és **estudiar**, en el marc teòric, **la reacció gràcies a la qual sorgeix la bioluminescència i també estudiar organismes que realitzin aquest procés**. Llavors, partint d’aquesta recerca, assolir el meu **tercer objectiu**, en el qual **vull dur a terme el marc pràctic**, pel qual hauré de **trobar els recursos que facin falta, per mantenir amb vida un organisme bioluminescent** proporcionant-li totes les condicions necessàries perquè pugui viure. A partir d’aquest objectiu anterior, em marco un **quart objectiu**, **fer un estudi d’una alga bioluminescent**. Per tal que la seva realització sigui possible, haig de **controlar el cicle circadiari** de l’alga, poder **analitzar la intensitat i color de la seva llum** i aconseguir **observar-la al microscopi** per estudiar la seva morfologia i concentració inicial.

A més, vull **redactar aquest treball** de tal manera que els seus **lectors l’entenguin i puguin ampliar el seu coneixement en aquest àmbit**, que sol ser desconegut per la majoria de gent.



HIPÒTESIS

Per dur a terme aquest treball faig les següents hipòtesis de partida:

- Pel primer objectiu les meves hipòtesis són:
 - Crec que podré trobar una utilitat a aquesta reacció bioquímica en la nostra vida diària.
 - Crec que és possible idear una làmpada que funcioni mitjançant la bioluminescència.

- Pel segon objectiu tinc aquestes hipòtesis:
 - Penso que podré estudiar a fons aquest fenomen, de quina manera es produeix i de quines maneres es pot manifestar.
 - Crec que podré classificar els diferents organismes bioluminescents que existeixen i detallar-ne les característiques.

- Pel tercer objectiu faig les següents hipòtesis:
 - Crec que podré proporcionar a un organisme bioluminescent totes les condicions necessàries perquè pugui viure i fer créixer la seva població.

- Pel quart objectiu les meves hipòtesis són:
 - Penso que podré controlar el cicle circadiari de l'alga mitjançant làmpades de cultiu.
 - Crec que podré mesurar la intensitat de la llum de l'alga utilitzant una aplicació de mòbil, amb la qual hauré fet proves prèvies per determinar la fiabilitat dels seus resultats.
 - Penso que podré estudiar la morfologia i concentració inicial de l'alga mitjançant observacions sota al microscopi.



METODOLOGIA

Aquest treball està dividit en dues grans parts i, per tant, seguiré dues metodologies molt diferents.

A la part teòrica principalment faré molta recerca d'informació, sobretot per internet, visitant blogs, llegint articles i consultant treballs d'altra gent publicats a la xarxa. A partir d'aquests coneixements, ja sintetitzats, he pogut elaborar el marc teòric, en el qual es troba tota la informació referent a la bioluminescència, la seva reacció, la seva història, els tipus que té, els organismes bioluminescents, les aplicacions futures i l'alga que estudiaré al marc pràctic.

Per la realització del marc pràctic, he visitat sobretot la web PyroFarms, on vaig comprar les algues, per l'apartat respecte la cura de les algues. Per poder dur a terme tota la part d'electrònica i Arduino, he consultat principalment el canal de YouTube "Bitwise Ar", concretament videos pertanyents a una llista de reproducció que consisteix en un curs d'Arduino des de zero. Per guardar les dades obtingudes, tant de temperatura i humitat com de l'estudi de l'alga, i per elaborar els gràfics corresponents, he utilitzat l'Excel. Tota la part d'electrònica, tant el muntatge com la programació, s'ha fomentat en Arduino i tots els seus elements corresponents. Per dissenyar els circuits elèctrics que he muntat, he utilitzat el Canva i el Fritzing. A més, he fet els dissenys per la impressió 3D (quasi bé tots es troben als annexos) mitjançant el programa Autodesk Inventor.

Cap al final del treball trobem les conclusions, fetes a partir del marc teòric i sobretot del marc pràctic; seguides de la bibliografia, on es troben totes els tipus de fonts d'informació que he anat consultant al llarg d'aquest treball, a més de les fonts de les imatges utilitzades.

Per últim hi ha els annexos, que inclouen tots els dissenys 3D no mostrats al marc pràctic i tots els programes utilitzats, a més de dos codis QR, un que dirigeix cap a una carpeta amb tots els documents Excel utilitzats per fer els gràfics, que contenen totes les dades recollides dins el marc pràctic; i un altre que correspon a una carpeta amb tots els dissenys 3D amb el format d'edició, per si algú que tingués un programa de disseny 3D se'ls volgués descarregar i poder-los examinar bé o modificar al seu gust.



MARC TEÒRIC

1. CONCEPTE

El mot “bioluminescència” prové del grec i del llatí, així doncs, és híbrid. La paraula grega de la qual origina és *bios* (que significa vida) i la llatina és *lumen* (que vol dir llum). La bioluminescència és un procés que alguns éssers vius realitzen a partir del qual emeten llum. Aquesta producció de llum és possible gràcies a una reacció química que duen a terme els organismes bioluminescents. Aquest fenomen es dona sobretot en les espècies aquàtiques, especialment les que viuen al mar, per tant, aquest fenomen gairebé no es troba en aigües dolces; tot i això, també es troba en espècies terrestres, com per exemple les cuques de llum o alguns fongs bioluminescents.

La bioluminescència ha experimentat una evolució en els diferents organismes al llarg del temps, fet que ha conduït a què les reaccions químiques que produeixen aquest fenomen siguin tan diverses com els organismes que tenen la capacitat de portar-les a terme.



2. REACCIÓ QUÍMICA

La bioluminescència és el resultat d'una reacció química en la qual intervenen oxigen, la proteïna luciferina, l'enzim luciferasa i la molècula d'energia ATP (el nucleòtid trifosfat d'adenosina). En aquest procés la luciferina és oxidada per l'oxigen i la funció de la luciferasa és catalitzar aquesta reacció, és a dir, accelerar-la. La molècula ATP proporciona l'energia que la reacció necessita per obtenir l'estat excitat de la luciferina, que passa a un estat inestable de major excitació energètica (oxiluciferina excitada) i després es torna a estabilitzar mentre emet radiació en la regió visible¹ de l'espectre electromagnètic en forma de fotons de llum, que es produeixen gràcies a l'ATP utilitzat. L'emissió d'aquesta llum genera com a producte principal oxiluciferina i com a producte secundari, diòxid de carboni. Aquesta reacció és exotèrmica, ja que desprèn energia. Els enzims són proteïnes que participen en reaccions químiques que solen alliberar energia en forma de calor, però en el cas de la bioluminescència l'energia s'allibera en forma de fotons de llum. La llum produïda per aquesta reacció química, a diferència de la llum que utilitzem en la nostra vida quotidiana, no desprèn calor.

Així doncs, els reactius d'aquesta reacció són la luciferina, l'oxigen i l'ATP i, mitjançant la luciferasa, s'obtenen com a productes luciferina oxidada, llum i diòxid de carboni. Aquesta reacció es produeix d'una manera diferent en cada organisme, ja que tant la luciferina com la luciferasa són grups de compostos, que poden tenir diferents fórmules concretes segons l'organisme al qual pertanyin. Tot i que el procés no és el mateix per tots els éssers vius, la majoria comparteix la mateixa reacció base.



Fig. 1 Estructura de la reacció química de la bioluminescència.

No obstant això, algunes reaccions no inclouen la luciferasa, sinó a un compost anomenat fotoproteïna. Aquesta es combina amb luciferina i oxigen, tot i que necessiten un altre element, sovint un ió de calci, per tal que es produeixi la reacció. Fa poc temps que es van descobrir les fotoproteïnes, així que els biòlegs i els químics encara estan estudiant les seves propietats

¹ La regió visible de l'espectre electromagnètic engloba de 400 a 700 nm.



químiques. Les primeres que van ser estudiades són les de les meduses, anomenades GFP (green fluorescent protein).

Aquesta reacció es podria produir sense la luciferasa, però a causa de les funcions biològiques que té aquest fenomen, dit d'una altra manera, els diferents motius pels quals els organismes bioluminescents l'utilitzen, la bioluminescència s'ha de generar en un període de temps molt curt, en qüestió de segons; per això, fa falta la luciferasa, que permet que la reacció es doni d'una manera molt més ràpida. Aquesta reacció es produeix en menys d'un mil·lisegon i es manté mentre l'organisme roman excitat.

La llum produïda pot ser de diversos colors, aquests venen determinats per l'estructura de la luciferasa; segons les diferents espècies d'animals, la composició química de la luciferina i la luciferasa és diferent, per la qual cosa la bioluminescència es manifesta d'una manera diferent en cada organisme. L'ull humà és capaç de diferenciar els diferents colors del resultat de la reacció segons la longitud d'ona de la llum. Tot i això, s'ha de tenir en compte que la capacitat de l'ull humà només diferencia la part visible de l'espectre electromagnètic, és a dir, no diferencia freqüències més baixes que les de l'infraroig ni més elevades que les de l'ultraviolat, sinó en aquest interval. Gran part de les reaccions bioluminescents desprenen llum blava, com és el cas dels organismes marins.

La bioluminescència s'activa per diferents estímuls que poden ser químics (bombes d'ions a través de les membranes cel·lulars) o mecànics (moviment de sensors tàctils) que passen al sistema nerviós, on s'interpreten com a impulsos elèctrics. El tipus i la força de l'estímul influeix en la intensitat i la duració de la producció de llum. En alguns organismes aquest impuls desencadena la reacció en unes cèl·lules especialitzades anomenades fotòcits. Aquestes cèl·lules poden estar localitzades en òrgans més complexos, que s'anomenen fotòfors. Aquests òrgans, a més de tenir fotòcits, també tenen altres estructures similars com pigments i filtres de color.

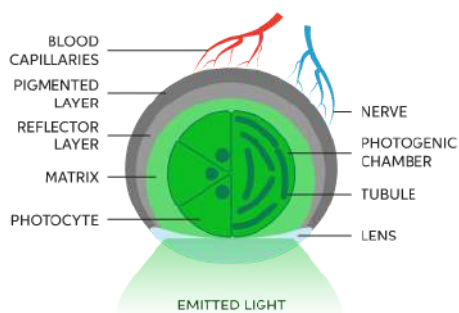


Fig. 2 Fotòcit.

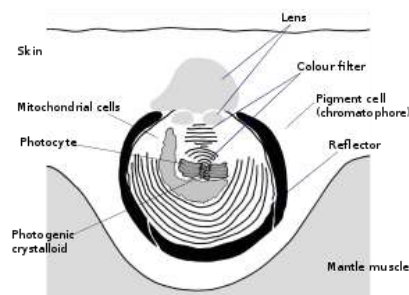


Fig. 3 Fotòfor.



2.1 LUCIFERINA I LUCIFERASA

La luciferina és un àcid carboxílic complex i el seu terme engloba tot un grup de compostos heterocíclics, diferents entre ells, però que comparteixen certes característiques que els fan pertànyer a aquest grup, una de les més importants és l'emissió de llum. Per tant, són un conjunt de proteïnes que s'oxiden en presència de l'enzim luciferasa donant com a resultat oxiluciferina i energia lumínica. També tenen la capacitat d'emmagatzemar molta energia.

No es coneix quants tipus diferents de luciferina existeixen, però els exemplars més comuns que s'han estudiat són els següents:

La **luciferina bacteriana** és una riboflavina-5-fosfat que és oxidada en associació amb una llarga cadena aldehida, oxigen i una luciferasa.

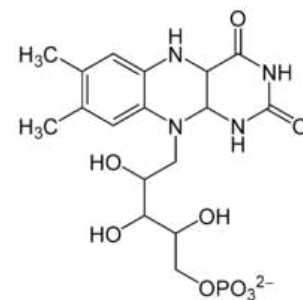


Fig. 4 Luciferina bacteriana.

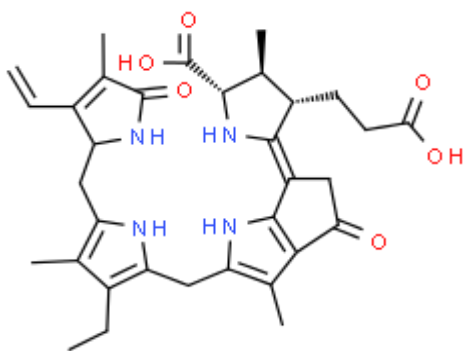


Fig. 5 Luciferina dels dinoflagel·lats.

La **vargulina** o luciferina *Cypridina* és la que es troba en ostracode *Cypridina hilgendorffii* o també conegut com a *Vargula hilgendorffii*, tot i que també l'utilitza algun altre peix. S'ha demostrat que els ostracodes sintetitzen aquest compost a partir dels següents aminoàcids: triptòfan, isoleucina i arginina.

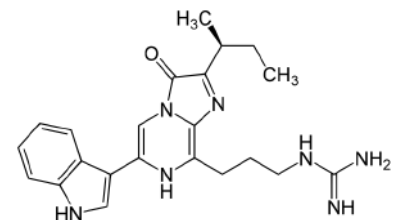


Fig. 6 Vargulina.



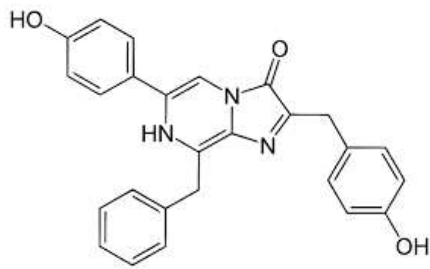


Fig. 7 Coelenterazina.

La **coelenterazina** està present en moltes espècies marines, pertanyents a grups com per exemple els dels ctenòfors o el de les meduses. Sovint es troba unit com a cromòfor (conjunt d'àtoms d'una molècula responsable del seu color) a fotoproteïnes com la *Aequorina* (pertanyent a les meduses luminescents, com ara les del gènere *Aequorea*), obelina o la simplectina.

La **luciferina de les cuques de llum**, que també trobem a la resta de coleòpters, es tracta d'un benzotiazol. Comparada amb altres sistemes de luciferina-luciferasa, aquesta és una unió relativament estable. Aquest sistema requereix ATP com a cofactor.

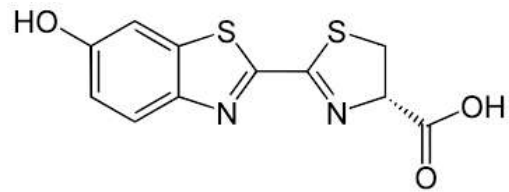


Fig. 8 Luciferina de les cuques de llum.

El terme luciferasa, com ja he comentat, engloba a un grup d'enzims, els quals són diferents segons a la luciferina sobre la qual actuen. Per aquest motiu parlem de sistemes luciferina-luciferasa. La funció de les luciferases és accelerar la reacció que es dona entre la luciferina i l'oxigen. Aquesta gran varietat de luciferines i luciferases que existeix actualment és degut a l'evolució tan diferent que han tingut aquestes molècules a cada organisme. Per aquest motiu, la recerca sobre les luciferases encara no està gaire explorada.



3. HISTÒRIA

La llum sempre ha tingut un paper important en les supersticions de les diferents cultures al llarg de la història. Ha estat present en el folklore de la Polinèsia, Escandinàvia i Sibèria, així com en els mites tradicionals dels antics navegants. Sovint les històries de llums o focs misteriosos vistos sobre l'aigua, camps o muntanyes s'atribuïen a Déus o dracs. S'han trobat antics escrits religiosos de l'Índia o la Xina ja parlaven de les cuques de llum. Es creu que els registres més antics de les cuques de llum venien d'aquestes antigues civilitzacions de l'est.

Els grecs i els romans van ser els primers a aprofundir el seu coneixement sobre els organismes bioluminescents, començant així a definir les característiques que trobaven en aquests éssers vius, concretament en els fongs, cuques de llum i cefalòpodes bioluminescents. En el segle IV aC, Aristòtil va descriure 180 espècies marines. A més, va observar que la llum de les cuques de llum o de cucs es distingia de la llum d'una vela perquè no desprenia calor, va ser el primer a referir-se a la bioluminescència amb el terme "llum freda".

En el segle I, l'erudit Plini el Vell (23-79), que va realitzar estudis i investigacions de fenòmens naturals, etnogràfics i geogràfics, va observar l'existència de certes meduses i alguns crustacis que emetien llum, bioluminescents, a la costa de Nàpols, i va documentar-los en la seva obra *Naturalis historia*. Aquest coneixedor va plantejar una aplicació pràctica amb la llum d'aquests organismes: va impregnar un pal amb la viscositat d'una medusa (que era humida i brillant), de manera que aquest pal tingués la utilitat d'una torxa.

En el segle XV els viatgers parlaven d'un fenomen el qual van anomenar "mar en flames". Cristòfol Colom va identificar llums misterioses a l'aigua abans d'arribar a San Salvador.

En el segle XVI, la bioluminescència va entrar a la literatura, com per exemple en la famosa obra de Shakespeare, Hamlet, que va referir-se a les cuques de llum com a "foc ineficaç". A més, possiblement la bioluminescència ha canviat la història del món actual, ja que l'any 1634, els exploradors anglesos van confondre les llums que emetien uns escarabats bioluminescents, d'una espècie coneguda com a escarabat de foc, per les llums d'un campament espanyol, i per aquest motiu van decidir evitar desembarcar a Cuba. El primer llibre que va parlar de la bioluminescència i de la quimioluminescència va ser publicat l'any 1555 per Conrad Gesner.



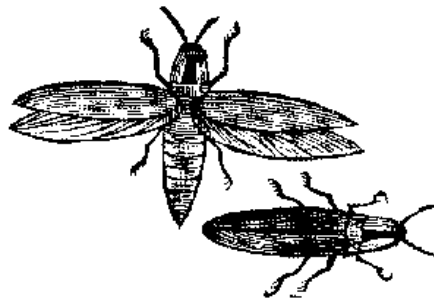


Fig. 9 Els escarabats bioluminescents que pertanyen al gènere *Pyrophorus*, que podrien haver enganyat els exploradors anglesos, vistos en una placa per Thomas Muffet, qui va ser un naturalista i metge anglès.

L'any 1667 es va començar a estudiar aquest fenomen des d'una percepció més científica. El naturalista, físic i químic irlandès Robert Boyle (1627-1691), considerat com el primer químic modern, va oferir una primera explicació del fenomen, tot i que realment només va ser un intent científic per aclarir el misteri d'aquesta "llum viva". Aquest científic va realitzar una observació de fongs bioluminescents i, a partir d'aquesta, va descobrir que aquests deixaven de desprendre llum quan eren introduïts en un recipient sense aire. S'ha de tenir en compte que l'oxigen encara no s'havia descobert, però actualment sabem que la bioluminescència en realitat necessitava oxigen en concret i no aire, ja que és necessari per l'oxidació de la luciferina. Tot i això, Boyle va demostrar que la bioluminescència no era possible sense estar en presència d'aire.

En el segle XIX, en Raphael Dubois va dur a terme un experiment en el qual va extreure els dos principals components de la reacció bioluminescent, els quals va anomenar "luciferina" i "luciferasa".

Un dels científics més destacats en aquest àmbit en el segle XX va ser un professor de l'universitat de Princeton, E. Newton Harvey (1887-1959). Va passar gran part de la seva vida buscant la presència de la luciferina i la luciferasa en pràcticament tots els organismes luminescents que trobava.

En relació amb l'origen de la bioluminescència, William McElroy i Howard Seliger, de l'universitat Johns Hopkins d'Estats Units, van formular una hipòtesis sobre aquest qüestió, concretament en referència a la luminescència bacteriana: durant les tres primeres quartes parts de la història biològica de la Terra els organismes predominants eren els bacteris anaeròbics. L'arribada dels cianobacteris va alterar el medi dels primers, ja que al fer la fotosíntesi alliberaven oxigen, que resultava nociu pels anaeròbics. Per tant, aquests per tal que la toxicitat que aquest gas té en ells no els perjudicés, podrien haver experimentat adaptacions metabòliques, entre les quals podríem trobar la bioluminescència.



4. TIPUS DE BIOLUMINESCÈNCIA

Existeixen tres tipus diferents de bioluminescència: la intracel·lular, extracel·lular i la dels bacteris simbiòtics.

4.1 BIOLUMINESCÈNCIA INTRACEL·LULAR

Aquest tipus de bioluminescència és generada per les cèl·lules especialitzades que hem vist abans, els fotòcits, que es troben en el cos tant d'organismes pluricel·lulars, com ara les cuques de llum, com d'unicel·lulars, per exemple els dinoflagel·lats. La reacció bioluminescent es produeix a dins la cèl·lula. Els organismes que pertanyen a aquest grup poden emetre la llum a través de la pell o bé la poden intensificar mitjançant lents o cristalls reflectants. Alguns éssers vius que podem trobar dins d'aquest tipus de bioluminescència són les cuques de llum, alguns peixos, els dinoflagel·lats i els calamars.

4.2 BIOLUMINESCÈNCIA EXTRACEL·LULAR

La bioluminescència extracel·lular es caracteritza, com el mateix nom indica, per què la reacció que es produeix entre la luciferina i la luciferasa té lloc a fora l'organisme. Una vegada sintetitzats, els dos components s'emmagatzemen en diferents glàndules de la pell o sota d'aquesta. Així doncs, quan arriba el moment, les dues molècules són expulsades de forma simultània a l'exterior, mesclant-se entre si, el que comporta que es produeixin núvols lluminosos. Aquest tipus de bioluminescència està present en alguns cefalòpodes abissals i en molts crustacis.

4.3 SIMBIOSI DE BACTERIS LUMINESCENTS

Els organismes que l'experimenten no són bioluminescents per si sols, sinó gràcies a una relació de simbiosi que estableixen amb bacteris luminescents, en la qual es necessiten mútuament per viure. Aquest tipus de bioluminescència només es pot trobar en animals marins, com són els celenterats (les actinies, cnidaris que pertanyen a la família dels hídrids, coralls, anemones i pòlips), mol·luscs, equinoderms, cucs i peixos (principalment els abissals, aquells que habiten a grans profunditats). Aquest és el fenomen de bioluminescència més estès en el regne animal. Els organismes que el presenten tenen unes petites veixigues anomenades fotòfors, on hi guarden bacteris luminescents, les quals realitzen la reacció química explicada prèviament. Hi ha espècies que poden controlar la quantitat de llum que emeten i fins i tot la



poden neutralitzar, gràcies a diverses estructures especialitzades. En la majoria de casos els òrgans lluminosos estan connectats al sistema nerviós, per la qual cosa l'animal pot determinar la quantitat de llum que s'emet.

Dos dels bacteris luminescents marins més estudiats són el *Vibrio harveyi* i el *Aliivibrio fischeri*. Aquests dos bacteris poden estar associats a animals marins. El primer es pot trobar acoblat a l'intestí d'alguns organismes aquàtics, tot i que també pot estar lliure a l'oceà com a microorganisme. El segon, a més d'habitar en els mateixos llocs que el primer, també viu com a simbiot dels òrgans productors de llum en diversos peixos i calamars.

La bioluminescència bacteriana es dona gràcies a uns gens que es denominen gens Lux. Podem trobar gens estructurals que codifiquen proteïnes que intervenen, directament o indirectament, en la reacció gràcies a la qual es produeix llum. Tot i això, també cal destacar que en molts casos, la bioluminescència mitjançant la simbiosi de bacteris luminescents depèn de la densitat de la població, és a dir, només es produeix llum quan hi ha una quantitat alta de bacteris. Aquest sistema de regulació s'anomena quorum sensing.

4.3.1 QUORUM SENSING

Aquest mecanisme va ser descrit per primera vegada l'any 1970 per Nealson i Hastings. Aquests dos científics van observar que el bacteri *Vibrio fischeri* no produïa llum fins que la seva població arribava a una certa densitat cel·lular.

Es va percebre que els bacteris alliberaven al medi unes substàncies denominades autoinductors, unes molècules que poden detectar altres bacteris propers al que les genera, cosa que els permet comunicar-se entre ells. Per tant, serveixen de senyal química per induir l'expressió genètica col·lectiva. Quan la densitat bacteriana és molt alta, augmenta la concentració d'aquestes substàncies, que es posen en contacte amb els bacteris. Així doncs, s'inicia un procés genètic que regula la producció de l'enzim luciferasa i, per tant, la bioluminescència.

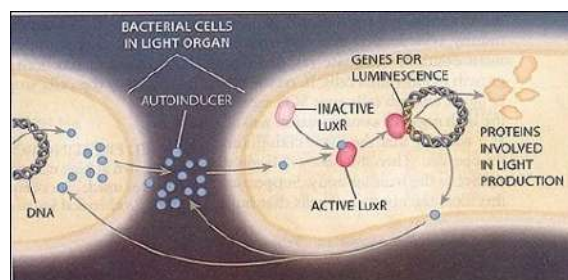


Fig. 10 Procés genètic simplificat de la bioluminescència en bacteris simbiotes, la qual depèn del quorum sensing.



5. ORGANISMES BIOLUMINESCENTS

Per explicar els principals éssers vius que tenen aquesta capacitat de produir llum, primerament els classificaré en dos grans grups: bioluminescència marina i terrestre.

5.1 BIOLUMINESCÈNCIA MARINA

La major part dels fenòmens bioluminescents s'observen en medis aquàtics, donat que un gran nombre d'espècies marines són capaces de dur a terme aquesta reacció química que els permet emetre llum. De fet, de tots els grups d'éssers vius bioluminescents coneguts, més de quatre cinquenes parts són marins. Arran de la gran varietat d'aquests organismes que existeix, avui dia encara que no s'han pogut estudiar tots amb detall; així i tot, fins ara els principals grups que han sigut descoberts són els següents.

5.1.1 OSTRACODES

Els ostracodes són un grup molt extens de crustacis microscòpics, que comprèn unes 13 mil espècies; a més, es calcula que han existit unes 65 mil espècies fòssils pertanyents a aquest grup. Amb relació a la seva anatomia, presenten una bivalva que, segons l'espècie, pot ser tova o altament calcificada. Quan aquesta closca es tanca, cobreix totes les parts toves de l'animal, de tal manera que li donen un aspecte semblant al d'una cloïssa.



Fig. 11 Ostracode.

Hi poden haver dos motius pels quals emeten llum. Per una banda, poden emetre llum amb l'objectiu de trobar parella, com si fossin cuques de llum marines. Per l'altra, la bioluminescència es produeix, de manera immediata, quan són ingerits pels seus depredadors, ja que es defensen generant llum i posant així al descobert l'animal que els ataca. Per tant, utilitzen la seva capacitat bioluminescent com a mecanisme de defensa.

5.1.2 DINOFLAGEL·LATS

El seu nom prové del moviment que fan els seus dos flagels, similar al d'una ona. Quasi tots els organismes que es classifiquen en aquest grup són algues unicel·lulars que presenten un parell de flagels, que són molt petits.

Engloben aproximadament un miler d'espècies, la major part de les quals són marines. Són els segons productors primaris més importants del mar. Tot i que podem trobar més varietat



d'espècies en mars càlides, és en aigües fredes on es produeixen desenvolupaments massius d'aquests organismes. Aquest fet és el causant de les mareas vermelles, que tenen diverses conseqüències, com per exemple la mort dels peixos, provocada per toxines que segreguen algunes espècies.

Molts dinoflagel·lats presenten plaques poligonals de cel·lulosa que formen una cuirassa. En aquesta s'hi poden observar dos solcs, el sulcus (que és longitudinal) i el cingulum (que és transversal). Tots dos flagels neixen a la zona intersecció d'aquests dos solcs. Un dels flagels segueix la direcció que marca el cingulum i proporciona a la cèl·lula un moviment rotatiu; mentre que l'altre, que segueix la línia del sulcus, permet que l'alga es pugui desplaçar cap

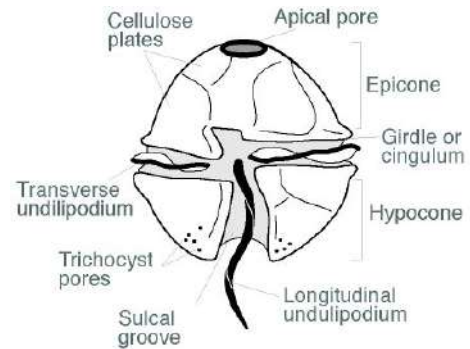


Fig. 12 Parts d'un dinoflagel·lat.

endavant. Els dos flagels junts provoquen un desplaçament seguint una trajectòria helicoidal.

Els principals pigments fotosintètics d'aquest grup d'organismes són la clorofil·la A, combinada amb carotens i xantofil·les. Aquests els poden donar uns colors groguencs o vermellorsos.

La seva reproducció sol ser asexual per divisió binària, tot i que també són capaços de reproduir-se sexualment. A més, poden presentar estats de vida latent (*cists*) amb una paret molt resistent i sense flagels.

Utilitzen la bioluminescència com una alarma, i una vegada un grup d'ells s'il·lumina, tots els seus veïns fan el mateix. Aquesta s'activa amb el moviment mecànic, és a dir, quan noten l'agitació de les onades al seu voltant.

Només alguns d'aquests organismes són bioluminescents, tanmateix, no són poques les espècies que tenen aquesta capacitat d'emetre llum. El tipus de bioluminescència que produeixen és intracel·lular.

5.1.3 CTENÒFORS

Els ctenòfors són animals planctònics (excepte algunes espècies que viuen en el substrat) quasi transparents, que viuen a la franja marina que va des de la superfície fins als tres mil metres de profunditat.

La seva principal característica és que tenen unes cèl·lules exclusives anomenades col·loblasts, que estan localitzades a les ramificacions dels seus tentacles, concretament en les seves



ramificacions. Aquestes cèl·lules tenen grànuls enganxifosos i surten cap a fora quan noten contacte. D'aquesta manera, quan alguna presa s'apropa a un ctenòfor, es queda atrapada als seus tentacles gràcies als col·loblasts.

Tot i que tenen un cos gelatinós, a vegades presenten tentacles i tenen altres característiques semblants, els ctenòfors no són meduses. Per exemple, una característica que els diferencia és que els ctenòfors no són urticants ni verinosos, ja que presenten col·loblasts en comptes de cnidoblasts, que són les cèl·lules urticants de les meduses.

A més, aquests animals són hermafrodites, és a dir, un organisme té gònades d'ambdós sexes. Es reproduïxen per fecundació externa, un gàmeta d'un organisme surt a través d'un conducte cap a la boca i d'aquí cap a l'exterior. Llavors es trobarà amb un gàmeta d'un altre individu i tindrà lloc la fecundació. Això originarà una larva que posteriorment esdevindrà un ctenòfor adult.

Aquests animals es desplacen mitjançant unes petites pales que es disposen en vuit canals distribuïts en el cos de l'animal. És en aquests canals on es produeix la bioluminescència en determinades situacions. En els ctenòfors la producció de llum té lloc en els fotòcits; en aquesta reacció química la luciferina s'uneix a l'ió calci per generar llum.

Aquests animals són capaços de generar ondulacions de llum en els seus cossos per defensar-se dels depredadors.

5.1.4 MEDUSES

Les meduses són animals formats majoritàriament per aigua. Hi ha diversos tipus de meduses bioluminescents, tant algunes de marines com algunes que viuen en aigües dolces. Algunes meduses, per exemple, emeten flaixos intermitents procedents d'unes cèl·lules especialitzades que es troben a l'endoderma, el teixit intern de la medusa. Gràcies al fet que el cos de la medusa és pràcticament transparent, aquesta llum que s'emet és visible des de l'exterior.

La reacció de la luciferina de les meduses es du a terme per ions de calci. Aquests animals, en presència d'oxigen, acumulen una versió peroxidada i estable del reactiu i llavors només necessiten el calci per emetre llum, encara que estiguin sense presència d'oxigen.

Algunes meduses utilitzen la bioluminescència per defensar-se i d'altres la utilitzen per atacar. La *Pelagia noctiluca* és una de les meduses luminescents més conegudes. Encara que viu en



Fig. 13 Ctenòfor.



tots els oceans, abunda més en el mar Mediterrani. Quan es veu amenaçada per algun altre animal, desprèn flaixos de llum i es desplaça ràpidament per allunyar-se del seu depredador.

No totes les meduses desprenen llum mitjançant la bioluminescència, sinó que algunes són fluorescents i, per tant, poden emetre llum gràcies a una proteïna verda fluorescent, la GFP. La fluorescència es produeix a partir de l'absorció de llum d'un color concret (longitud d'ona), seguida de l'alliberament d'aquesta energia en forma de llum d'una longitud d'ona més gran que la que s'havia absorbit. Aquesta proteïna va ser descoberta pel científic japonès Osamu Shimomura, qui gràcies a aquest fet va guanyar el Premi Nobel de Química. L'espècie que aquest científic va estudiar va ser l'*Aequorea victoria*, la GFP de la qual es troba en els seus fotoòrgans.



Fig. 14 *Aequorea victoria*.

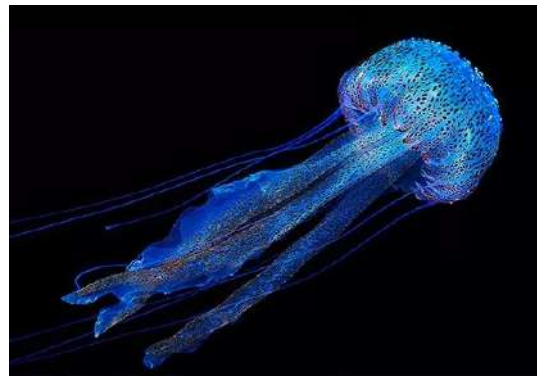


Fig. 15 *Pelagia noctiluca*.

5.1.5 PEIXOS

Per una banda, hi ha peixos que són bioluminescents per si sols, són els que viuen en les zones abissals del mar, les quals es troben a més de 2000 metres de profunditat (per la qual cosa hi ha absència de llum), a pressions majors a 200 atmosferes i a temperatures d'entre -1 a 5 °C. Per aquest motiu, els humans no coneixem del tot les seves característiques. Aquests peixos es caracteritzen per tenir cossos tous i ossos petits; a més, tenen una boca gran per poder capturar les seves preses, que poden ser igual o més grans que ells. Tenen colors singulars i alguns tenen cèl·lules urticants, a través de les quals poden secretar verí.

Els peixos bioluminescents abunden en la capa superior de la zona abissal. La majoria d'aquests pot produir llum gràcies als bacteris bioluminescents que tenen en els fotòfors. Per tant, la seva bioluminescència és possible gràcies a la simbiosi de bacteris luminescents.

Aquests organismes utilitzen la seva capacitat bioluminescent generalment per a obtenir aliment, trobar parella i espantar els seus depredadors. Un exemple n'és el peix llanterna (*Centropryne spinulosa*).



D'altra banda, existeixen peixos que s'alimenten d'un grup d'organismes bioluminescents ja comentat, els ostracodes. Com que aquests quan són ingerits emeten llum, el seu peix depredador s'il·lumina i, per tal de no convertir-se en la presa d'un altre depredador que s'alimenti d'ell, escup els ostracodes, simulant així que escupen una mena de foc lluminós. Un d'aquests peixos és el tetra cardinal.



Fig. 16 Peix tetra cardinal.



Fig. 17 *Centrophryne spinulosa*.

5.1.6 SIFONÒFORS

Els sifonòfors pertanyen a l'ordre dels cnidaris, el qual també inclou els coralls i les meduses. Aquests organismes són hidrozous que formen colònies flotants, similars a les meduses. Tot i estar formats per diferents éssers, es comporten com si fossin una sola entitat, funcionen en un conjunt. Aquest grup engloba aproximadament 175 espècies.

Aquestes colònies estan formades per parts individuals anomenades zooides, les quals incrementen a mesura que el sifonòfor creix i resten connectades. Els zooides comparteixen el mateix material genètic i n'hi ha de diferents tipus, cada un amb una funció diferent. La majoria d'ells cacen les seves preses (crustacis i peixos petits), però també n'hi ha que exerceixen funcions com la ingesta de l'aliment, la reproducció i el desplaçament. El cos de la majoria d'elles és llarg i prim, constituït quasi tot ell per un material gelatinós. Es componen d'una estructura superior, que està plena de gas, gràcies a unes veixigues anomenades pneumatòfor o flotador; i d'una part vertical, que rep el nom d'estoló o sifó, on es troben la resta de zooides. Igual que les meduses, posseeixen un verí molt fort i potent, que desprenen quan noten fregament.

Mentre que la majoria de les espècies d'aquests éssers viuen a la superfície del mar, com per exemple la caravel·la portuguesa, algunes altres viuen al fons marí, a més de 1600 metres de profunditat, la qual cosa repercuteix en la seva alimentació.

La majoria de sifonòfors s'alimenten utilitzant els seus tentacles com si fossin una teranyina, esperant que la seva presa s'hi enganxi, però els que viuen a les profunditats utilitzen un altre



mètode per aconseguir aliment (ja que al fons marí els peixos i altres organismes són escassos). Els tentacles d'aquests presenten cèl·lules urticants que estan adjuntades a una "tija" central transparent. Al final d'aquesta, hi ha un "esquer" vermell que creix provenint d'un centre blanc. Aquest està format per material bioluminescent. A mesura que "l'esquer" madura, el material blanc va sent envoltat per un material vermell fluorescent. Per tant, la llum blava emesa en el centre de "l'esquer" permet l'emissió de la llum vermella, mitjançant l'excitació del material lluminós. Un exemple d'aquests sifonòfors són els del gènere *Erenna*. Aquesta llum vermella és poc comuna en el medi aquàtic, ja que no pot arribar gaire lluny i a més, rarament s'han trobat animals marins que puguin percebre-la.



Fig. 18 Caravel·la portuguesa.



Fig. 19 Sifonòfor pertanyent al gènere *Erenna*.



Fig. 20 "Esquers" del sifonòfor *Erenna*.

5.1.7 ALTRES ORGANISMES

A més, hi ha altres classes d'organismes concrets que són bioluminescents, entre aquests trobem:

- Radiolaris luminescents: Són uns protozous ameboides que viuen en colònies sobre esquelets de silici i es troben com a plàncton a l'oceà.
- Bacteris lluminosos: Dos dels grups de bacteris bioluminescents més comuns són els pertanyents al gènere *Vibrio* i al gènere *Photobacterium*, que solen establir una relació de simbiosi amb un altre organisme, colonitzant òrgans especialitzats productors de llum (fotòfors) d'alguns peixos o calamars marins. Això suposa un benefici pel bacteri, ja que així s'assegura l'aliment i un hàbitat segur. A més, hi ha alguns bacteris que només emeten llum quan hi ha una alta densitat de població bacteriana, ja que utilitzen el sistema de comunicació química anomenat "quorum sensing" (explicat al punt 4.3.1).



- També hi ha espècies concretes de calamars, gambes, cucs i cogombres de mar bioluminescents.

5.2 BIOLUMINESCÈNCIA TERRESTRE

Entre els éssers vius terrestres trobem menys exemples que en els marins, tot i això, algunes espècies són capaces d'emetre llum com les que explicaré seguidament. Tot i això, a més d'aquestes, també existeix alguna espècie de cargol o papallona capaces d'emetre llum.

5.2.1 CUQUES DE LLUM

Són un dels exemples de bioluminescència més coneguts i es veuen sobretot a l'estiu. Aquests insectes són un tipus d'escarabats que pertanyen a la família dels lampírids (*Lampyridae*). La majoria tenen ales, característica que les distingeix d'altres animals luminiscents de la mateixa família, coneguts com a cucs de llum, que estan formats per un conjunt d'òrgans que tenen la capacitat d'emetre llum.



Fig. 21 Cuca de llum.

Existeix una gran varietat d'espècies de cuques de llum (unes dues mil aproximadament), les quals viuen en medis càlids i templats. També els encanta la humitat, per la qual cosa es poden trobar a regions humides d'Àsia i d'Amèrica.

Aquests insectes tenen òrgans lumínics especials a sota l'abdomen, anomenats llanternes. La reacció bioluminescent en les cuques de llum sorgeix de la següent manera: primer, s'utilitza energia química (ATP) per transformar la luciferina en luciferil adenilat i seguidament s'utilitza oxigen per transformar el luciferil adenilat en oxiluciferina. L'oxigen utilitzat és desviat prèviament cap a les seves

cèl·lules de llum (localitzades a les llanternes i encapsulades en un exoesquelet translúcid) per les traquèoles. Aquesta reacció segueix la mateixa pauta que en els altres éssers

vius, doncs és possible gràcies a l'enzim luciferasa i s'allibera CO_2 i llum a 560 nm (color verd). A més, la bioluminescència en les cuques de llum inclou un seguit de reaccions regeneradores que reconverteixen la oxiluciferina en luciferina per tal que el cicle pugui començar de nou.

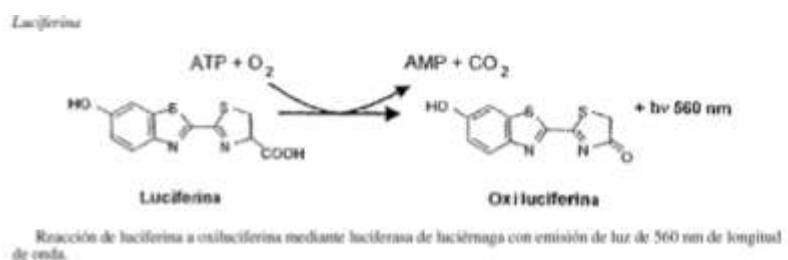


Fig. 22 Reacció de la bioluminescència en les cuques de llum.



La llum que emeten és generalment intermitent i brilla d'una manera concreta a cada espècie. La forma en què emeten la llum és una senyal que les ajuda a trobar parella; tot i això, encara no es sap com regulen el procés d'apagar i encendre la llum. També es creu que utilitzen la bioluminescència com a mecanisme de defensa, la qual és recolzada pel fet que les larves també es puguin il·luminar.

5.2.2 FONGS

Fa 2.000 anys, Aristòtil va descriure per primer cop l'emissió de llum d'un tros de fusta podrida i, encara que en aquell moment no se'n tingués consciència, aquesta es produïa a causa d'un fong. Per tant, tenen un paper important en la història de la bioluminescència, ja que s'han documentat diverses vegades casos de llum produïda per ells. Generalment habiten a boscos localitzats a regions càlides i tropicals.

Els fongs bioluminiscent emeten una llum intensa de color verd i tots produeixen espores blanques. Són estacionals i tendeixen a florir durant les temporades de pluja i la majoria només duren un o dos dies abans de perdre la brillantor. Per tal d'emetre llum, els fongs realitzen la reacció bioluminescent ja explicada.

Es desconeix el paper de la bioluminescència en els fongs, però existeixen varies hipòtesis fisiològiques i ecològiques que tracten d'explicar la funció que té la bioluminescència en aquests organismes. Algunes proposen que els fongs possiblement utilitzen la bioluminescència per tal d'atraure dispersors d'espores, atracció de depredadors de fungívors, atracció de "fertilitzants" (que ajuden al desenvolupament del fong, com ara els excrements d'animals) o senyalització de toxicitat.

Alguns científics també han valorat la teoria que potser la bioluminescència no suposa cap avantatge pels fongs, donat que dins una mateixa espècie hi ha individus que tenen aquesta capacitat i altres que no.

Els fongs bioluminiscent més comuns són el *Panellus stipticus*, que viu a les branques dels arbres;

l'*Armillaria mellea*, que és de color taronja i és un

dels fong bioluminiscent més escampats, ja que es troba des d'Amèrica del Nord fins a Àsia; i els fongs pertanyents al gènere *Mycena*, que es caracteritzen per tenir una brillantor intensa.



Fig. 23 *Panellus stipticus*.



Fig. 24 *Mycena illuminans*.



5.2.3 CENTPEUS

Les espècies de centpeus bioluminescents conegudes són les que pertanyen al gènere *Motyxia*, tot i això, s'han trobat altres centpeus capaços de desprendre llum, però aquests són fluorescents, és a dir, emeten llum a causa d'una substància que ha absorbit llum o una altra radiació electromagnètica. Els centpeus d'aquest gènere són originaris de Califòrnia i l'espècie més comuna és la *Motyxia sequoiae*.

Són animals detritívors, majoritàriament s'alimenten de plantes mortes i fullaraca dels boscos. Alhora són la presa de molts altres animals, entre els quals trobem mamífers i escarabats, però presenten alguns mecanismes de defensa per tal de sobreviure. Un d'aquests és la producció d'àcid cianhídric (HCN), que s'allibera a través d'unes espores als costats de l'animal quan es senten molestats. La secreció d'aquest àcid pot produir danys seriosos a la pell tant dels humans com de petits vertebrats (mamífers o ocells) que s'intenten alimentar d'ells, tot i que algunes espècies depredadores han aconseguit desenvolupar una resistència a aquesta substància.



Fig. 25 *Motyxia sequoiae*.

A més, però, presenten un altre mètode de defensa que utilitzen contra els depredadors nocturns. Aquesta és la producció de llum, concretament forta i de color blau clar. Aquesta no pot tenir cap funció en la comunicació entre individus, ja que les espècies d'aquest gènere estan cegues. Un experiment ha demostrat que les espècies de centpeus bioluminescents pateixen menys atacs per part dels seus depredadors que les que no brillen. Sembla que l'ona de llum blava que produeixen és molesta per un dels seus principals depredadors nocturns, els escarabats, perquè els seus ulls són molt sensibles a aquesta.

La bioluminescència d'aquests animals implica una fotoproteïna que conté un cromòfor amb una porfirina com a grup funcional. El mecanisme fotogènic bàsic és bastant similar al de les meduses. Aquesta s'emet a l'exoesquelet de l'animal, per tant, passa a través de tot el cos de l'animal. També és contínua durant tota la nit, així que la bioluminescència està relacionada amb el ritme circadiari, encara que és més intensa quan se senten molestats.

5.2.4 COLEÒPTERS

Aquest grup d'organismes inclou les cuques de llum, les quals ja he explicat prèviament, ja que són una família molt més coneguda que la resta que aquest grup engloba.



Es tracta de diferents espècies d'escarabats que presenten la luciferina i l'enzim luciferasa, les quals els atorga la capacitat de ser bioluminescents. Per tant, gràcies a aquesta reacció els escarabats poden emetre llum d'una àmplia gamma de tons, que depenen del pH del medi. Per exemple, els coleòpters emeten llum vermella en presència de pH àcid o d'altres temperatures.

La funció de la bioluminescència més coneguda en els coleòpters és la d'atraure parella, com és

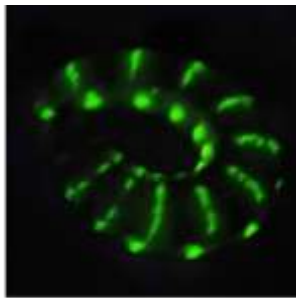


Fig. 26 Escarabat de la família *Phengodidae*.

el cas de la família dels lampírids, les cuques de llum. Altres famílies de coleòpters luminescents són l'*Elateridae* o la *Phengodidae*. La primera està formada per larves d'elatèrids, dins les quals es coneixen sobretot l'escarabat clic, les lluernes i escarabats soldats. Una de les hipòtesis sobre la funció de la bioluminescència en aquests animals és l'atracció de preses, ja que l'any 1938 es va demostrar que insectes petits com tèrmits o formigues són atrets cap a zones lumíniques, fet aprofitable per part d'aquestes larves. Tot i això, la hipòtesi més acceptada és que són éssers aposemàtics, és a dir, presenten marques o coloració que avisen als seus depredadors de la seva perillositat.

En la segona família, les femelles dipositen els ous en grups de 50 unitats com a màxim i de forma circular. Aquests presenten bioluminescència després d'un mes de ser posats, emetent així una llum intensa. Es creu que la finalitat d'aquesta acció és aposemàtica, ja que un sol ou no espantaria els depredadors, en canvi, el conjunt de bastants ous junts sí que crea aquest efecte. Hi ha poques espècies d'aquesta família que tinguin larves bioluminescents, les que poden emetre llum es caracteritzen per presentar les emissions de tons vermellorsos en la regió cefàlica, fet que suggereix la hipòtesi que la seva funció és la il·luminació i la supervivència. La primera els facilita buscar aliment en zones fosques i la segona es proposa perquè els artròpodes, els depredadors d'aquestes larves, no detecten visualment el color vermell, de manera que tampoc detectaran les emissions lluminoses de les larves. Les femelles posseeixen diversos òrgans per emetre llum, amb finalitat aposemàtica. A diferència d'aquestes, no tots els mascles són bioluminescents i els pocs que ho són utilitzen aquesta propietat per defensar-se.

Dins aquest grup destaca un coleòpter polípag conegut com a Tucu Tucus, que pertany al gènere *Pyrophorus*, i té dues taques petites de color verd groguenc que s'il·luminen per enganxar els seus depredadors. Aquest escarabat habita en zones humides amb molta vegetació.



Fig. 27 Coleòpter del gènere *Pyrophorus*.



6. DESENVOLUPAMENT I APLICACIONS FUTURES

Actualment, ens trobem amb dues problemàtiques relacionades entre si, entre altres: la contaminació lumínica i la despesa energètica. De fet, s'estima que es destina un 19% de la producció d'energia en la il·luminació. A partir d'aquí, sorgeixen diferents projectes que es basen en la bioluminescència com a possible solució futura, donat que els avantatges que ens ofereix inclouen que no transmet calor ni implica una despesa energètica.

Algunes aplicacions que s'estan valorant són: la possibilitat d'il·luminar exteriors, senyals de tràfic o aparadors; la il·luminació de plantes quan necessitin aigua; la detecció de la contaminació bacteriana d'aliments; o bé la identificació de malalties segons el seu recorregut.

6.1 PLANTES BRILLANTS

Per una banda, l'any 2013, un grup d'investigadors d'Estats Units van iniciar un projecte anomenat Glowing Plant, el qual va anar seguit d'una campanya per poder recaptar els diners suficients per poder-lo dur a terme. Aquest grup de científics destaquen que la il·luminació que utilitzem actualment desprèn molt més de diòxid de carboni que els cotxes, per tant, no és sostenible. En canvi, la biologia sí, per la qual cosa plantegen fer, a partir d'ADN de cuques de llum i una planta que el rebrà, plantes bioluminescents, mitjançant biologia sintètica.

Tot i això, la idea d'una planta que brilli no és recent, ja que es porta valorant des del 1986, quan un grup d'investigadors va fer la primera planta brillant, però amb la necessitat d'addició de luciferina. L'any 1989 el sistema de gens luciferina-luciferasa de les cuques de llum va ser seqüenciat. El 2010, a l'Universitat Estatal de Nova York es van afegir aquests gens a una planta per tal que sintetitzin luciferina, donant com a resultat una planta capaç d'emetre llum tènue. Aquest mateix any també el grup iGem de l'Universitat de Cambridge va crear uns bacteris capaços d'emetre molta llum gràcies al reciclatge de luciferases. És doncs a partir d'aquests avenços en la investigació de la bioluminescència que aquest grup d'investigadors ha tingut la motivació per crear aquest projecte.

Primer de tot, per fer aquestes plantes, han dissenyat les seqüències d'ADN utilitzant el programa Genome Compiler. Llavors, gràcies als diners recaptats, imprimeixen aquest ADN a l'empresa Cambrian Genomics. Finalment, traspassen aquest ADN a la planta que volen transformar (en el seu laboratori). El primer objectiu que tenia aquest treball era transformar la planta del tabac en bioluminescent, ja que són les plantes més comunes a l'hora de fer estudis genètics.



D'altra banda, algunes universitats japoneses també estan realitzant una recerca enfocada en les plantes brillants, la qual van mostrar al CES 2022 (Consumer Electronics Show), una de les fires comercials més importants del món d'alta tecnologia. El govern japonès té molt present la problemàtica de l'escalfament global; de fet, l'octubre del 2020 va declarar el seu objectiu d'haver reduït a zero l'emissió de qualsevol gas que causi l'efecte hivernacle per l'any 2050. El que van fer aquestes universitats és adaptar les propietats dels organismes bioluminescents, utilitzant els gens d'un bacteri luminescent i d'una medusa brillant, de manera que els van incorporar a la planta del tabac, fent que les seves fulles poguessin brillar. El grup de recerca va afirmar que després de que hagin fet uns quants avenços amb plantes tolerants a la sequera, esperaven aconseguir un arbre brillant en dos anys. Així doncs, aquí entra la idea d'il·luminar carrers amb arbres lluminosos (concretament volen treballar amb aurons), de manera que poguessin substituir les faroles, causant així un gran impacte positiu. Malgrat tot, es necessita un progrés molt més gran per aconseguir això, donat que amb el nivell de recerca actual, la intensitat de la llum emesa encara no és prou potent.

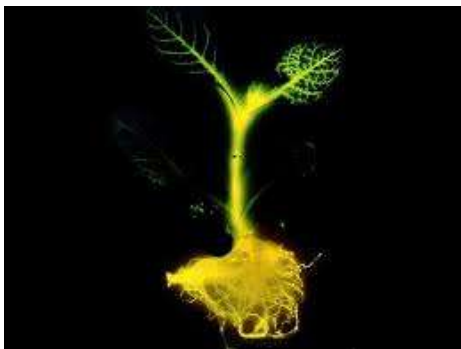


Fig. 28 Planta del tabac bioluminescent.



Fig. 29 Arbres brillants mostrats al CES.

6.2 IL·LUMINACIÓ MITJANÇANT BACTERIS I ALGUES

Alguns projectes valoren la idea d'il·luminar espais exteriors o elements que formin part d'aquests amb organismes bioluminescents, principalment amb el bacteri *Aliivibrio fischeri* o amb l'alga *Pyrocystis fusiformis*. Aquest bacteri és un dels principals causants que molts organismes marins siguin luminescents, ja que es troba present en ells. A França, l'empresa Glowee desenvolupa el projecte Glowpolis, que té com a objectiu implementar elements de mobiliari urbà capaços d'emetre llum requerint un subministrament elèctric quasi bé nul. Aquest projecte ja es va posar en pràctica a una ciutat localitzada a 50 km de París, Rambouillet, i la capital francesa podria ser la pròxima en il·luminar-se sense electricitat.





Fig. 30 Mobiliari urbà bioluminescent.

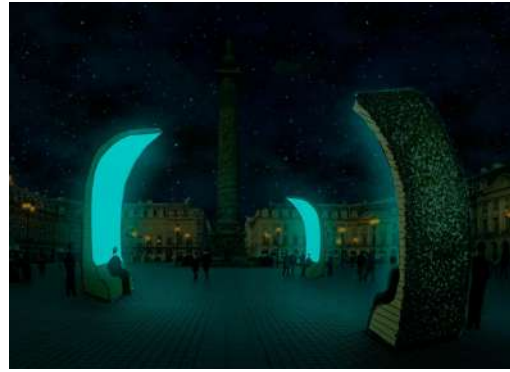


Fig. 31 Bancs il·luminats mitjançant bioluminescència.

Per aconseguir això, Glowee ha investigat el control del bacteri *Aliivibrio fischeri*, que es troba en medis marins, principalment en aigües subtropicals, i és bioluminescent. El seu projecte treballa amb altres bacteris, a més d'aquest, que són inofensius pels humans i aplicant modificacions (no genètiques) per tal de millorar la seva capacitat bioluminescent.

La tecnologia bioluminescent que utilitzen consisteix en contenir els bacteris en una solució aquosa, en un recipient transparent, juntament amb un gel ric en nutrients per tal de reproduir l'ecosistema en el que viuen. Aquest gel està compost d'oxigen i sucres, de manera que puguin dur a terme la reacció bioluminescent i desprendre llum. A la llarga, el consum necessari d'aquesta solució bioluminescent es limitaria al consum d'aigua per tal de proporcionar oxigen, la subministració d'aliment pel bacteri i la producció de dispositius bioluminescents.

L'any 2016, l'empresa va presentar unes bombetes capaces d'emetre llum mitjançant aquesta tècnica. L'inconvenient que tenien, però, és que s'apagaven al cap de tres dies.

Actualment l'empresa ja ha anat provant la seva tecnologia amb escenaris reals i en alguns elements de mobiliari urbà. Tenen objectius com ara produir una il·luminació més intensa i cobrir un espectre de llum més gran, el qual està limitat pel bacteri utilitzat. Un altre gran objectiu que tenen és oferir una il·luminació constant, ja que els bacteris, com tots els éssers vius, són sensibles a la temperatura, per la qual cosa la seva bioluminescència es veu alterada en funció de la meteorologia.

Glowee va tenir la idea de començar aquest projecte quan al 2013 a França es va aprovar una llei que prohibia als petits comerços tenir els aparadors il·luminats durant les primeres hores del matí, de tal manera que es reduís la contaminació lumínica i la despesa energètica. Segons els fundadors d'aquesta empresa, utilitzant la bioluminescència com a font lumínica, es podria reduir apreciablement el consum elèctric i alhora es canviaria la forma en què utilitzem i produïm llum, que és un dels objectius de l'empresa. Altres avantatges que comporta l'ús d'aquests bacteris és una emissió molt més baixa de diòxid de carboni i la fàcil adaptació d'allà



on es vulguin instal·lar. L'empresa francesa té en ment tres usos diferents on incorporar aquests bacteris: a instal·lacions de curta durada, aparadors de botigues i locals comercials i a façanes d'edificis urbans.

Un altre projecte similar a aquest ens queda més a prop, ja que és realitzat per l'Universitat de Sevilla i la Universitat de Columbia. Aquest s'anomena Bioluminescent Devices (dispositius bioluminescents), l'autor del qual és Eduardo Mayoral, i planteja dissenyar i fabricar dispositius que emetin llum sense consum elèctric a partir de la manipulació de poblacions de microorganismes bioluminescents. D'aquesta manera, es vol aprofitar la capacitat d'aquests éssers vius d'emetre llum de manera natural, evitant el consum energètic que requereix la il·luminació artificial i la producció de làmpades.



Fig. 32 Ciutat il·luminada amb bombetes de Glowee.

Per tal d'aconseguir això, es cultiven poblacions de l'espècie de bacteris *Aliivibrio fischeri* i de l'alga *Pyrocystis fusiformis* i es dissenyen diferents estructures geomètriques amb materials biodegradables que continguin aquestes poblacions. La primera espècie, que pertany al regne de les moneres, és heteròtrofa i s'alimenta de substàncies com l'agar, tot i que també pot sobreviure alimentant-se de matèria orgànica en descomposició. Aquests bacteris produeixen bioluminescència quan la seva població aconsegueix una densitat significativa, ja que sorgeix a partir del mecanisme quorum sensing. Aquesta espècie també segueix un ritme circadiari, és a dir, hi ha períodes en què l'organisme produeix llum i altres en els que no ho fa. En general, durant la nit hi ha bioluminescència i durant el dia pràcticament no emeten llum.

El bacteri va ser utilitzat per realitzar un experiment de laboratori en el qual es volia comprovar les propietats bioluminescents d'aquest. Així doncs, es van preparar diferents tubs amb poblacions d'aquesta espècie bacteriana i altres que contenien agar, per tal de desenvolupar diferents cultius que es van anar dividint en poblacions menors quan emetien llum. Les van sotmetre a unes condicions òptimes pel seu desenvolupament, que són una temperatura entre 18 i 20°C (gràcies a una incubadora) i un subministrament continu d'agar. Quan es va obtenir una quantitat considerable de poblacions que emetessin una intensitat de llum perceptible per l'ull humà, es van introduir a diferents geometries per veure quines eren les més adequades per contenir-les i per començar a reflexionar sobre els possibles usos que s'hi podria donar.



Es va dur a terme un procés similar amb l'alga *Pyrocystis fusiformis*, que és heteròtrofa i fotosintètica alhora, i també emet llum en cicles circadianis quan sent estímuls mecànics. En aquest segon experiment, es van preparar recipients de 50 mL que contenien poblacions de l'alga, nutrients i sals minerals. Durant varis dies, se'ls va subministrar llum durant cicles de dotze hores per tal de que creixessin i s'habituessin al seu cicle circadià. Posteriorment, es van subdividir les mostres en altres per augmentar la població d'algues, a més de provar diferents geometries amb l'objectiu de seleccionar les més adequades per contenir les poblacions i donar-los un ús.



Fig. 33 Dispositius bioluminescents utilitzats per senyalitzar un camí.

Les conclusions dels dos experiments impliquen un conjunt d'avantatges i inconvenients respecte l'ús de cada una de les espècies per la fabricació de dispositius lluminosos sense consum elèctric. Per una banda, el bacteri emet llum constantment i no necessita viure en un ambient aquàtic, mentre que l'alga necessita un estímulo mecànic per il·luminar-se i un ambient aquàtic que contingui sals minerals en abundància. Tot i això, l'alga presenta els següents avantatges: l'emissió d'una llum més intensa i la facilitat en la seva manutenció, ja que és fotosintètica. Les possibles aplicacions proposades són la il·luminació ambiental de parcs naturals o espais públics de la ciutat, la construcció de pantalles o cartells de publicitat que emetin llum i informació, i el seu ús per la senyalització de camins o carreteres.

En general, la llum emesa per aquests microorganismes és menys intensa que la llum artificial en ser éssers vius, canvis bruscos en la temperatura o la manca d'aliment els pot causar la mort. No obstant això, no hi ha despesa d'energia per tal d'obtenir llum, tampoc produeixen impacte visual i biològic en el medi ni contaminen o produeixen residus. Per tots aquests motius, aquest projecte és una obertura a una nova línia en l'àmbit de la il·luminació i, juntament amb molts altres, ens ofereix la possibilitat de redirigir el nostre model actual de disseny i producció cap a un altre més ecològic i sostenible mitjançant la biotecnologia.

6.3 APLICACIONS MÈDIQUES I ALTRES

Les proteïnes bioluminescents són eines bioquímiques amb una gran diversitat d'aplicacions dins el camp de la medicina. Poden tenir possibles usos en els sectors d'anàlisi d'expressió de



gens, investigació de nous medicaments o de l'estudi de la dinàmica de les proteïnes. Les luciferases permeten una detecció de sensibilitat alta i tenen unes propietats singulars com ara un alt rendiment quàntic i l'absència de toxicitat quan s'expressen en cèl·lules o organismes diferenciats. Fins ara s'ha fet ús de les proteïnes fluorescentes, les quals s'han sotmès a diferents estudis per alterar-ne les propietats, resultant d'aquests proteïnes mutants amb diferents ones d'emissió. Les proteïnes bioluminescents ens ofereixen una alternativa a les fluorescentes, ja que són més sensibles a la detecció en mostres biològiques.

Un sector en el que s'ha fet ús de la bioluminescència és en el diagnòstic per imatge. Això consisteix en l'emissió de llum de cèl·lules o teixits dissenyats per expressar luciferasa. Aquests s'il·luminen gràcies a la injecció sistèmica del substrat de luciferasa, la luciferina.

La bioluminescència també té un paper important en els estudis enfocats en el càncer. Els últims avenços utilitzen diagnòstic per imatge i un gran panell de línies cel·lulars tumorals que expressen luciferasa per tal de rastrejar la càrrega tumoral en models tumorals ortopèdics, disseminats i de metàstasi. Així doncs, la bioluminescència és molt útil per quantificar la progressió tumoral sistèmica juntament amb tumors sòlids quantificats.

A més, la bioluminescència ens permet realitzar seguiments cel·lulars utilitzant l'expressió de la luciferasa, de manera que les teràpies cel·lulars es poden estudiar *in vivo*, per exemple. També es treballa amb organismes transgènics, en general ratolins, amb els quals es poden fer estudis moleculars amb diagnòstic d'imatge *in vivo* amb una gran varietat d'estadis de diferents malalties. Una altra aplicació mèdica és la introducció de la bioluminescència aplicada en teixits per observar les reaccions que es donen en el nostre organisme, a més de poder identificar danys en aquests.

Per tant, en el camp de la medicina s'ha aconseguit realitzar més fàcilment el seguiment de cèl·lules mitjançant molècules bioluminescents i identificar la ubicació de cèl·lules cancerígenes, agents d'infecció i respostes de les cèl·lules al sistema immunològic. Això ha pogut fer-se perquè les molècules bioluminescents tendeixen a coagular-se en aquestes zones i, gràcies a que la tecnologia bioluminescent permet investigar teixit viu, ha sigut possible diagramar el curs i desplaçament de moltes malalties en ambients vius.

Altres aplicacions que pot tenir la bioluminescència són: la detecció de la contaminació bacteriana d'aliments, identificadors biològics que podrien aplicar-se en tot tipus d'organismes com a control (incloent humans), detectors lluminosos d'espècies bacterianes concretes en entorns determinats, detecció de la contaminació d'un medi observant com aquesta afecta la intensitat de llum (analitzar la puresa de l'aigua).



7. PYROCYSTIS FUSIFORMIS

La part pràctica d'aquest treball de recerca consisteix en un estudi de la bioluminescència present en l'espècie d'alga *Pyrocystis fusiformis*. Aquest ésser viu pertany al regne dels protists, es tracta d'una alga unicel·lular. Tal com el seu nom indica, la seva cèl·lula és fusiforme, una sola pot arribar a mesurar 1000 μm de llargada i 150 μm d'amplada. Predominen en aigües càlides, com ara l'oceà Pacífic, ja que prefereixen temperatures entre els 17 i els 26 $^{\circ}\text{C}$. L'esperança de vida mitjana de l'alga són sis mesos i, en cas que les condicions ambientals siguin les adequades, el seu cicle de replicació podria durar un període curt de només set dies. Es reproduïxen asexualment, és a dir, sense la necessitat de la fusió de gàmetes. Els avantatges d'aquest tipus de reproducció és que tenen la capacitat de mantenir els mateixos gens i es poden reproduir d'una forma més ràpida que els organismes que es reproduïxen sexualment. No obstant això, la reproducció asexual presenta l'inconvenient que comporta molta més dificultat per l'organisme a adaptar-se al medi ambient, ja que la recombinació de gens (que no es dona amb la reproducció asexual) proporciona la variabilitat que és necessària per a l'adaptació dels organismes a un medi. L'alga es reproduïx mitjançant la producció de zoòspores a l'interior de la cèl·lula progenitora, on creixen fins que poden esdevenir una altra cèl·lula independent, que serà la descendència. Aquest procés és semblant a la divisió cel·lular, concretament es tracta d'una divisió binària. La quantitat de temps que tarda aquesta espècie a doblar la seva població és entre set i divuit dies, que és poc comparat amb altres espècies. Això beneficia a la població, ja que l'alga està exposada als depredadors o a canvis bruscos en el medi ambient i ha de ser capaç de reproduir-se ràpidament per tal de no morir com a espècie. Igual que molts altres organismes com ara les plantes, aquesta alga segueix un cicle circadiari, el qual afecta el moviment de la cèl·lula



Fig. 34 *Pyrocystis fusiformis*.

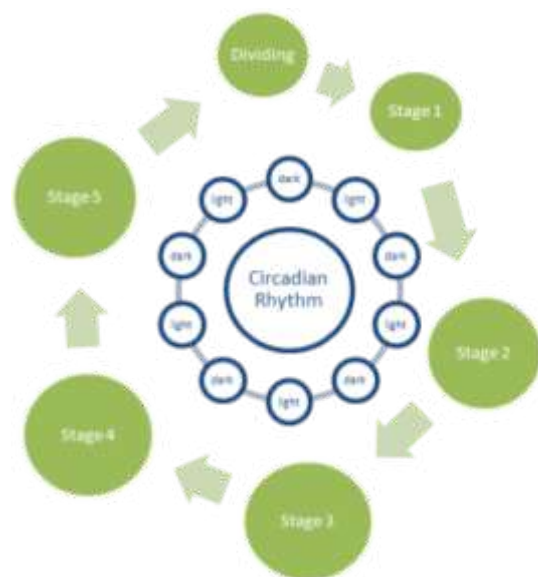


Fig. 35 Cicle circadiari amb relació al cicle cel·lular de l'alga.



i a la posició dels seus cloroplasts. Durant el dia, l'alga es desplaça cap a la superfície i els cloroplasts s'apropen a l'exterior de la cèl·lula. En aquest moment, l'alga realitza la fotosíntesi (a partir d'energia lluminosa s'obté energia química). Durant la nit, en canvi, els cloroplasts tornen cap al centre de la cèl·lula i es posa en acció la bioluminescència, l'emissió de llum (blava en aquest tipus d'organismes) és possible gràcies a l'energia obtinguda durant el dia. En aquesta etapa també és quan es forma el nou individu descendent, ja que el desplaçament dels cloroplasts cap al centre de la cèl·lula permet la formació de les zoospores i la formació d'un nou individu.

Un estudi ha demostrat que menys del 20% de la llum emesa per una sola alga genera radiació tèrmica, d'aquí ve el terme "llum freda". Aquesta llum té molta energia a causa de la seva longitud d'ona d'entre 460 i 560 nm. Les teories proposades per la funció de la bioluminescència en aquesta espècie es basen principalment en l'autoprotecció, és a dir, en l'enviament de senyals d'alerta a través d'emissions de llum blava causades pels canvis en el moviment de l'aigua. Si les condicions mediambientals són les correctes i hi ha una alta densitat d'aquesta alga en una platja, es poden observar aquestes emissions espontànies de llum causades pel trencament de les onades. Això es coneix com el fenomen de "mar d'estrelles".

En aquesta alga, la llum és un producte resultant de la següent reacció: l'enzim luciferasa catalitza la reacció entre la luciferina i l'oxigen, donant com a resultat un producte intermediari suposat pels investigadors. Llavors aquest producte allibera una molècula d'H₂O i oxiluciferina (en estat excitat). El fet que l'oxiluciferina estigui excitada implica que un electró es troba en una òrbita major de la que hauria d'estar i per tant, que hi ha un excés d'energia. Com que l'oxiluciferina està inestable, aquest electró torna a la seva òrbita mentre allibera energia en forma de llum, i així passa a ser oxiluciferina estable.

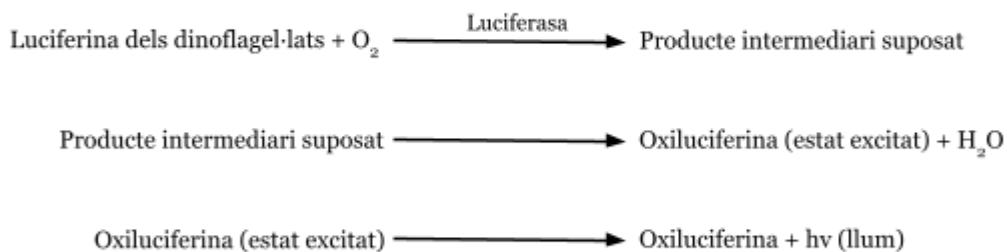


Fig. 36 Reacció bioluminescent bàsica en la majoria de dinoflagel·lats luminiscents.



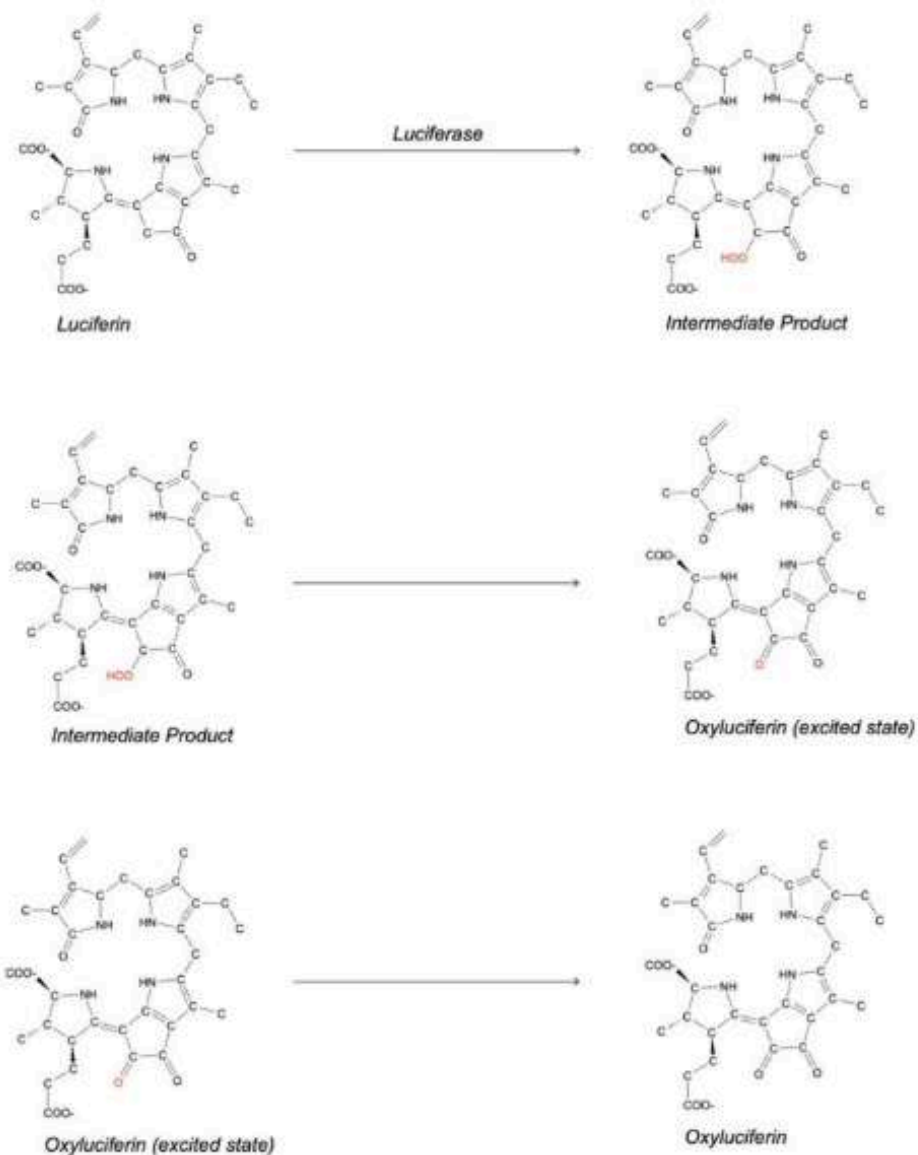


Fig. 37 Canvis estructurals en la luciferina dels dinoflagel·lats durant la seva oxidació.

L'estructura de la luciferina dels dinoflagel·lats és coneguda com un tetrapirrol, ja que està formada per quatre anells aromàtics de cinc àtoms de carboni amb un àtom de nitrogen. Els àtoms de color vermell en la imatge indiquen quines molècules s'afegeixen o s'alliberen del compost durant la bioluminescència. Primer de tot, la luciferasa catalitza la reacció, resultant així a formació d'un producte intermediari mitjançant l'addició d'una molècula d'oxigen. Llavors s'allibera una molècula d'aigua d'aquest producte intermediari donant com a resultat la oxiluciferina excitada. La oxiluciferina passa d'estar excitada a estar estable mentre allibera energia en forma de llum. Finalment, amb l'ajuda d'ATP, la oxiluciferina pot tornar a ser luciferina, tancant així el cicle de la reacció i permetent que comenci de nou.



La reacció bioluminescent en els dinoflagel·lats té lloc a un orgàdul que s'anomena escintiló, el qual es localitza al citoplasma de la cèl·lula. La mitjana del seu diàmetre és d'entre 0,5 i 0,9 μm i s'ha demostrat que tendeix a trobar-se a la perifèria de la cèl·lula. Sense l'actuació de cap força externa, l'orgàdul conté una forma inactiva de luciferasa i un complex molecular format per la luciferina dels dinoflagel·lats i una proteïna vinculant a aquesta, la qual prevé que la luciferina s'oxidi de tal manera que no brilli i això causi danys a la cèl·lula. Si la membrana de la cèl·lula de l'alga nota estimulació mecànica com podria ser el moviment de les onades, es desencadenen una sèrie de processos que acaben donant com a resultat un descens en el pH, des de 8 fins a 6, dins l'escintiló. Aquesta disminució del pH activa la luciferasa i allibera la luciferina del vincle amb la proteïna.

Els successos previs que tenen lloc abans del descens de pH es poden descriure en 4 passos que es poden observar a la imatge. Primer, la membrana cel·lular sent agitació degut a alguna força externa, fet que causa que l'emmagatzematge intracel·lular comenci a alliberar cations de calci, els quals s'acaben acumulant en gran concentració. Els investigadors han trobat que les

proteïnes G, concretament proteïnes vinculants al nucleòtid guanina, estan involucrades en la transició del primer pas al segon. Aquesta família de proteïnes tenen la principal funció de transmetre senyals externs a l'interior de la cèl·lula, ja que els transforma en senyals químics. En aquest cas, aquest senyal es manifesta mitjançant la despolarització de la membrana d'alguns vacúols, i és conseqüència de l'augment de la concentració de cations de calci previ en el citosol. Si la membrana de l'escintiló estigués en contacte físic amb la membrana carregada d'un vacúol podria disminuir el seu pH, de manera que passaria a ser més àcid. Com que l'orgàdul està en contacte físic amb el vacúol, passa un corrent elèctric. Aquest provoca l'activació d'uns canals de

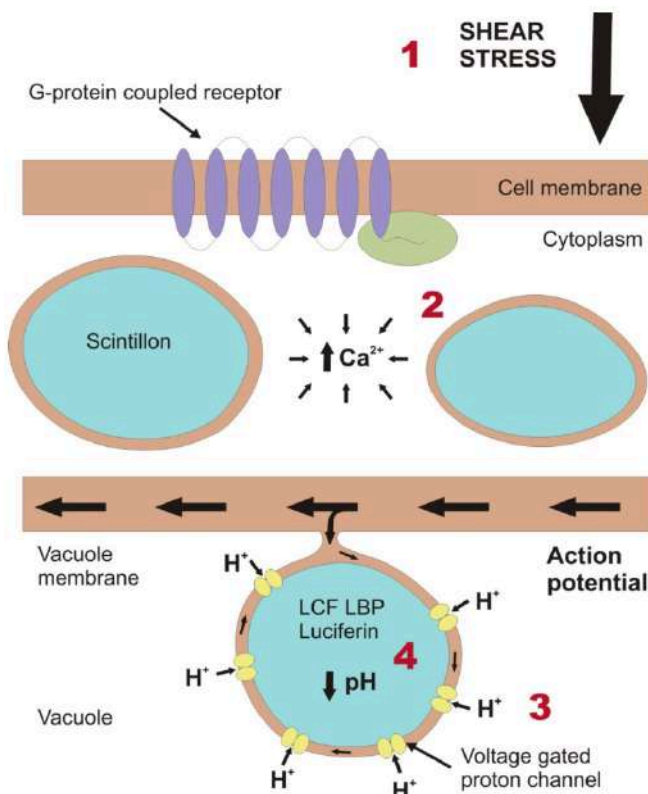


Fig. 38 Representació esquemàtica d'una cèl·lula de l'alga, on es mostren els processos previs a la disminució del pH a l'interior de l'escintiló.



protons dependents de voltatge a la membrana de l'escintilió, que són un tipus de canals iònics molt específics, els quals s'obren i es tanquen segons el potencial de la membrana i el gradient de pH a través d'aquesta. Per tal d'igualar la càrrega elèctrica a dins i fora l'orgànul, aquests canals s'obren per tal d'augmentar l'abundància de protons al seu interior. Com que el valor del pH depèn de la concentració de protons en una solució, l'entrada de protons a dins l'orgànul comporta una disminució del pH al seu interior. Per $\text{pH} < 7$, les reaccions explicades es poden portar a terme, manifestant-se en forma de llum. Alguns protons podrien ser aïllats per tal de formar l'aigua que resulta de la reacció bioluminescent. Malgrat tot, es desconeix el destí de la resta de protons i el mecanisme que permet que els escintilions tornin a tenir el seu pH original.

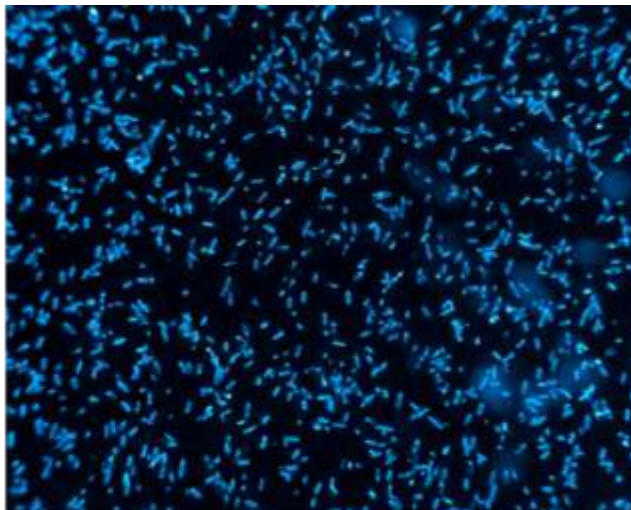


Fig. 39 Algues *Pyrocystis fusiformis* emetent llum.



Fig. 40 Efecte de l'alga *Pyrocystis fusiformis* en el mar.



MARC PRÀCTIC

La part pràctica d'aquest treball consisteix a mantenir en vida l'espècie d'algues bioluminescents *Pyrocystis fusiformis* i estudiar la seva possible aplicació en la il·luminació d'espais. Per tant, vull mesurar la quantitat de llum que aquesta espècie és capaç d'emetre, a més de realitzar algunes observacions sota la lupa binocular.

Per dur a terme aquest projecte, el dividiré en diverses parts: la preparació del medi i la cura de les algues, muntatge de l'aparell de recollida d'una sèrie de dades mitjançant Arduino, estudi de llum de l'alga, interpretació dels resultats i observacions al microscopi.

1. MEDI I CURA DE LES ALGUES

Per preparar l'hàbitat de les algues utilitzo el següent material:

- 2 caixes
- 2 làmpades de cultiu
- 8 recipients de vidre de 100 mL
- 1 recipient de vidre d'1 L
- 2 temporitzadors elèctrics
- 2 sensors de temperatura i humitat DHT11
- 1 pantalla LCD
- Cables jumpers mascle-femella
- 1 polsador
- 1 interruptor
- 1 placa Arduino UNO
- 1 micro SD



Fig. 41 Làmpades de cultiu.



Fig. 42 Temporitzadors elèctrics.





Fig. 43 Vuit recipients de 100 mL amb les caixes. **Fig. 44** Recipient d'1 L amb la solució d'algues.

Cada caixa contindrà quatre recipients, una làmpada i un sensor DHT11.

Els instruments de laboratori dels quals faig ús són:

- 1 pipeta de 10 mL
- 1 proveta de 10 mL
- 1 proveta de 50 mL

He comprat les algues, juntament amb nutrients, a la botiga Pyrofarm, que s'ubica a l'estat de Califòrnia. Vaig tenir la dificultat que no feien enviaments a Espanya, però a altres països europeus sí, com ara França. Vaig provar de buscar altres botigues que venguessin dinoflagel·lats bioluminescents, així que vaig trobar la web Carolina Biological, que ven productes de biologia i de laboratori. Vaig sol·licitar un enviament internacional, però el preu sobrepassava el meu pressupost. Així que vaig tornar a la web Pyrofarm i vaig demanar si podrien enviar a Espanya o a algun punt de recollida a Perpinyà, que no em queda lluny. Em van contestar que si enviaven a la península no tenia els dos mesos de garantia que oferien si les algues arribaven en mal estat. Respecte el punt de recollida, no em van acabar d'entendre, em van dir que havia de posar una adreça. Finalment, una coneguda de la meua família, que viu a Perpinyà, ens va fer el favor de rebre-les a casa seva, i un cop van arribar ens les va portar, ja que ve sovint a Banyoles.

He comprat tres tipus de solucions diferents, explicades seguidament:

- "PyroDinos"

Així és com la botiga es refereix a l'alga *Pyrocystis fusiformis*, la qual és força fàcil de cultivar. Cada solució és de 200 mL. A l'apartat 7 del marc teòric hi consta informació referent a aquest organisme.





Fig. 45 Solucions de l'alga *Pyrocystis fusiformis*.

- “DinoNutrients”

Aquesta solució consisteix en aigua de l’oceà Pacífic filtrada i purificada, la qual han tractat amb rajos UV, amb nutrients afegits. Aquest producte és especialitzat en fer créixer fitoplàncton, microalgues i dinoflagel·lats fotosintètics. Té una duració de sis mesos si es troba en un lloc fosc i fred. S’ha de sacsejar abans d’utilitzar-se. Cada solució conté 300 mL.



Fig. 46 DinoNutrients.

- “Blue Boost DinoNutrients”

Aquesta solució es compon d’aigua de l’oceà Pacífic filtrada i purificada, amb nutrients afegits per afavorir un creixement saludable de l’alga. Aquesta solució, a diferència de l’anterior, conté components afegits que ajuden a protegir de la contaminació i protegeixen dels raigs UV que podrien malmetre l’alga. Aquest producte té una duració de 5 mesos si es col·loca a un lloc fred i fosc. Cada flascó conté 300 mL.





Fig. 47 Blue Boost DinoNutrients.

Proporciono dinonutrients al cultiu d'algues principalment per tres motius: adequar l'ambient per tal que puguin créixer, complementar els micronutrients que ja porta l'aigua marina on viuen i neutralitzar l'evaporació que succeeix al llarg del temps.

Una vegada van arribar les algues, vaig esperar-me una setmana abans d'abocar-les al recipient gros, per assegurar-me que tinguessin una bona salut, la qual cosa podia fer comprovant que apareixia una línia fina marronosa a la superfície de l'aigua. Això passa perquè les algues poden canviar la seva flotabilitat, de tal manera que quan realitzen la fotosíntesi es desplacen cap amunt per apropar-se a la font de llum; per tant, aquesta línia es pot identificar durant la seva fase de dia. A partir d'aquí, vaig començar a proporcionar aliment a la població d'algues. Abans de fer-ho, s'ha de sacsejar la solució de dinonutrients perquè es barregi el contingut amb l'aigua marina; a més de barrejar la solució d'algues per tal que es distribueixin uniformement. També m'asseguro que els nutrients estiguin a la mateixa temperatura que la població d'algues, ja que en cas contrari, podria perjudicar-les.

Hi ha dos tipus d'alimentació: la de manteniment i la d'expansió. En la primera, que és per la que he optat, es proporciona entre el 5 i el 10% del volum de població d'algues cada setmana o dues setmanes; en la segona, es proporciona entre el 30 i el 50% del volum cada entre 7 i 10 dies. Per tant, un cop a la setmana, subministraré 3 mL de la solució de nutrients a cada mostra d'algues.

En cas que no pogués veure la línia marronosa o percebés que emeten menys llum durant el seu cicle de nit mentre he anat alimentant regularment les mostres, hauria de parar tota la subministració d'aliment i disminuir la intensitat de llum que reben perquè puguin realitzar la fotosíntesi.



Les dues caixes estan situades a una habitació, lluny d'una finestra, ja que vull evitar canvis bruscos en la temperatura que puguin malmetre els microorganismes.

1.1 PREPARACIÓ DEL MATERIAL

Primer de tot, per tal d'adaptar al medi de les algues els recipients que utilitzo (d'ús quotidià) s'ha de seguir un procés de neteja compost per quatre passos: netejar, esterilitzar, esbandir, omplir. Aquest mateix procés també el segueixo amb la resta d'estrís que estaran en contacte amb les algues, és a dir, el recipient gros on les tindrè inicialment, la pipeta de 10 mL, les dues provetes (una de 10 mL i una de 50 mL) i els portaobjectes amb els quals les observaré al microscopi.

Primer de tot he netejat els materials amb aigua i sabó de vaixella diluït amb aigua, ja que d'aquesta manera hi ha menys risc que quedin restes de sabó als recipients, que resulten tòxiques per les algues. Això ho he repetit tres cops amb cada objecte. Seguidament, he posat aigua a bullir i he anat posant-hi els recipients i la resta de materials durant dos minuts. Un cop secs, els flascons estaven a punt per poder-se omplir amb la solució que conté les algues. Prèviament, però, hi he abocat 3 mL de la solució "Blue Boost DinoNutrients" per tal de que mulli totes les parets interiors del recipient abans de posar-hi les algues. Llavors, amb la pipeta, he anat posant 50 mL a cada recipient (en 5 tandes de 10 mL), alhora que els he anat enumerant de l'1 al 8. A cada caixa hi haurà quatre mostres, a la primera hi haurà els recipients 1, 2, 3 i 4, i a la segona, les mostres 5, 6, 7 i 8.



Fig. 48 Material esterilitzat.



Fig. 49 Material esterilitzat.

Per tal de controlar el cicle circadià de l'alga, poso una làmpada de cultiu a cada caixa, de manera que una estarà encesa des de les 00:00 de la nit fins les 12:00 del migdia i l'altra, des d'aquesta hora fins les 00:00 de la nit. Així aconseguixo tenir sempre quatre mostres que emetin llum (estiguin en el seu cicle de nit) i quatre més que facin la fotosíntesi (estiguin en el seu cicle de dia). Vaig haver de canviar el cicle circadiari de la meitat de les mostres. Modificar-lo es pot fer fàcilment; simplement s'han de modificar les hores de llum de l'alga i



esperar que s'adapti, cosa que es comença a percebre al cap de dos dies i, després d'una setmana, el cicle circadiari hauria d'estar completament canviat. A més, he folrat l'interior de les dues caixes amb cartolina blanca, per tal que siguin iguals per dins. He enganxat les làmpades al centre de la tapa de la caixa i he fet un forat a la meitat del costat petit d'aquesta, permetent així que el cable de la font de llum pugui sortir. Així doncs, puc endollar les làmpades als temporitzadors elèctrics, els quals controlaran les hores que aquesta farà llum. Per tal que no entri llum exterior a dins la caixa a través d'aquest forat, he imprès, amb la impressora 3D, una peça que el tapa, alhora que deixa passar el cable de la làmpada.



Fig. 50 Làmpada de cultiu enganxada a la tapa.



Fig. 51 Peça impresa 3D que tapa el forat.

Em vaig trobar amb la dificultat que cada cop que el temporitzador s'activava i la làmpada "s'endollava", s'havia de prémer un botó per engegar-la, ja que per defecte aquest es posava en OFF, no podies deixar-la encesa sempre. Per tal de resoldre això, vaig tallar la peça que tenia aquest botó i vaig soldar els dos caps per tal de tornar a unir el circuit. Aquesta peça també tenia uns botons per graduar la llum, així que abans de tallar-la vaig deixar les dues làmpades amb la mateixa intensitat lumínica. També vaig mirar, amb un multímetre, el voltatge i la intensitat que circulava pel circuit, per tal de comprovar que no era necessària cap resistència que evités algun dany als leds. Fent això vaig aconseguir que cada vegada que el temporitzador s'engegués, els leds també ho fessin automàticament.



Fig. 52 Peça d'encendre i controlar la intensitat de la llum.



Fig. 53 Soldadura entre els cables.



També vaig dissenyar i imprimir vuit peces amb la impressora 3D que tinguessin la forma de la base dels recipients, amb la finalitat de que servissin de compartiments, de tal manera que estiguessin quiets i estables a l'interior de la capsa.

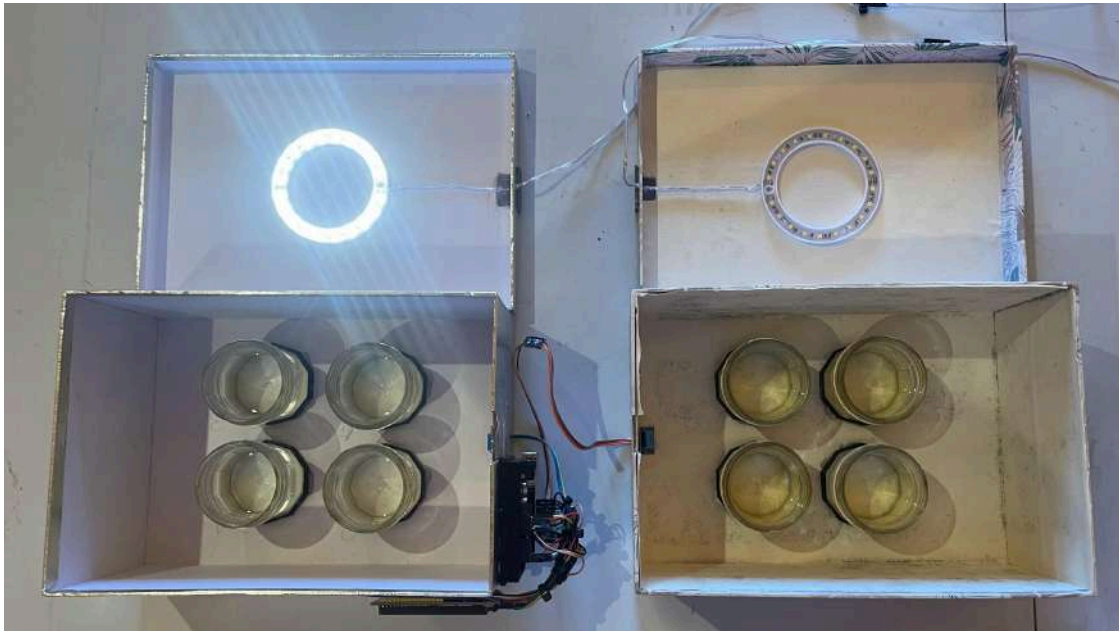


Fig. 54 Distribució dels diferents elements que han format part del medi de les algues.

1.2 ÚS D'ARDUINO EN LES CAIXES

Per tal de poder tenir un control de la temperatura i la humitat a la que estaran sotmeses les dues caixes, utilitzo dos sensors d'aquestes dues variables i una placa Arduino UNO on es puguin emmagatzemar els seus valors. Per aquest motiu, seguidament faré una explicació sobre el funcionament de l'Arduino.

Arduino és una plataforma electrònica de codi obert amb la qual es pot aprendre d'una manera senzilla sobre programació i electrònica. És una eina que permet desenvolupar projectes de tota mena, ja que ofereix una gran varietat d'aplicacions.

L'Arduino és una placa basada en un microcontrolador ATMELEL. Els microcontroladors són circuits integrats als que pots donar instruccions mitjançant la programació. Perquè funcioni, la placa ha d'estar connectada en tot moment a una font d'alimentació. El circuit integrat presenta una interfície d'entrada, que és una connexió amb la qual podem connectar a la placa diferents tipus de perifèrics. La informació d'aquests es transportarà al microcontrolador, que processa les dades que arriben a través d'ells. Els perifèrics que utilitzaré jo en aquest cas són sensors de temperatura i humitat (DHT11).



A més, aquesta placa disposa d'una interfície de sortida, que té la funció de traslladar la informació que arriba a Arduino a altres perifèrics, en el meu cas serà una pantalla LCD.

Per començar a fer la construcció del circuit que m'indicarà la temperatura i la humitat de cada caixa, primer vaig col·locar els dos sensors al centre del costat petit de cada caixa. Vaig imprimir una peça 3D per poder-los enganxar a la paret sense danyar el sensor, però com que faltava una mica de gruix encara, vaig haver d'afegir una mica de cartró també. Seguidament, vaig fer un forat petit a la paret de la caixa, just a sota del sensor, per tal que els jumpers, que són els connectors, d'aquest poguessin sortir. Amb una peça impresa 3D vaig tapar el forat des de l'interior de la caixa per tal que no entrés més llum de la necessària dins la caixa. També vaig imprimir una peça 3D perquè subjectés la placa d'Arduino UNO i la vaig enganxar a la paret externa de la caixa (la que té menys superfície). Seguidament vaig introduir els jumpers connectats als sensors a la placa Arduino, a les entrades digitals 3 i 5, al connector 5V (que és el que dona la corrent) i al connector GND. Després vaig enganxar la micro SD de manera que sobresortís i també la vaig connectar a la placa Arduino, a les entrades digitals 10, 11, 12 i 13, al connector 5V i al connector GND. El següent component que vaig enganxar (en aquest cas al costat de la paret externa més gran de la capsula) va ser la pantalla LCD, la qual vaig connectar a les entrades analògiques a4 i a5, al connector 5V i al connector GND. Llavors vaig enganxar un polsador per tal d'encendre el programa, el qual vaig connectar a l'entrada digital 4, al connector 5V i al GND. Al següent esquema del circuit es veu que a més del polsador, hi ha una resistència connectada a aquest, tot i que a la caixa no hi és. Això passa perquè el polsador que he utilitzat jo ja té aquesta resistència integrada i per aquest motiu no ha calgut que n'hi posés cap. En canvi, com que el polsador que tenia el programa que he utilitzat per dissenyar els esquemes del circuit era diferent, per tal que l'esquema fos equivalent al que he fet, hi he posat la resistència. Finalment, he posat un interruptor de ON/OFF perquè em permetés veure les dades de temperatura i humitat a la pantalla LCD quan jo volgués. Aquest tan sols s'ha hagut de connectar a la pantalla mitjançant dos jumpers. A més, he imprès una peça 3D per dipositar-hi la funda de la micro SD i així tenir-la a l'abast per quan s'hagi de canviar les dades.



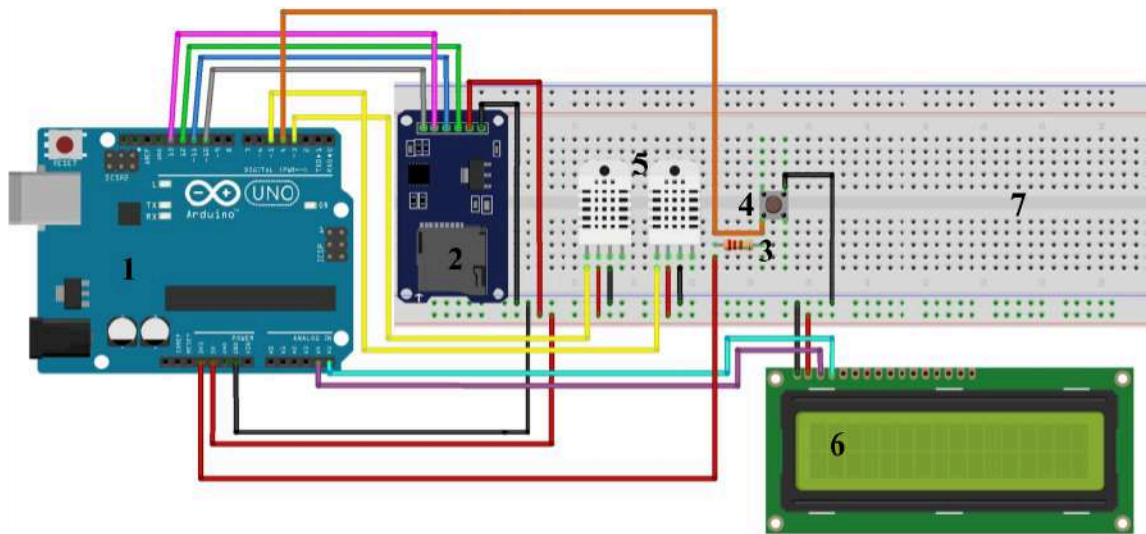


Fig. 55 Esquema elèctric del circuit dels sensors de temperatura i humitat.

Llegenda:

- 1: placa Arduino UNO
- 2: Micro SD
- 3: Resistència
- 4: Potenciòmetre
- 5: sensors DHT11 (de temperatura i humitat)
- 6: Pantalla LCD
- 7: Placa de proves

Un cop fet el circuit, vaig haver de fer el programa per tal que funcionés amb Arduino IDE; aquest es pot trobar a l'annex. Vaig programar que es recollissin valors de temperatura i humitat cada cinc minuts durant una setmana, així que cada setmana he passat les dades recollides a la targeta micro SD a l'ordinador i he reiniciat el programa, de manera que recollís valors de nou durant una setmana més.

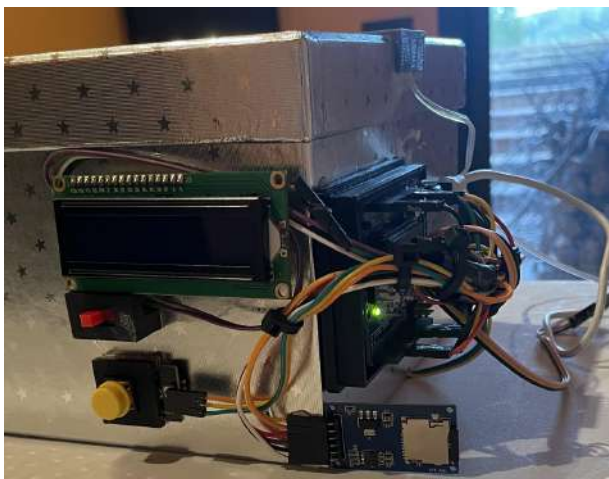


Fig. 56 Circuit elèctric amb sensors DHT11.



Fig. 57 Sensor DHT11.



1.3 CONTROL DE LA TEMPERATURA I LA HUMITAT

En aquest apartat mostro els valors de temperatura i humitat recollits mitjançant el circuit explicat anteriorment amb relació als sensors DHT11. A partir d'aquestes dades, he elaborat els següents gràfics per facilitar la seva interpretació. Aquests mostren el curs que han anat seguint la temperatura i la humitat a cada caixa durant les 4 setmanes que he cultivat i estudiat l'alga, així que a partir d'ells podem veure visualment com han sigut les condicions ambientals del seu hàbitat.

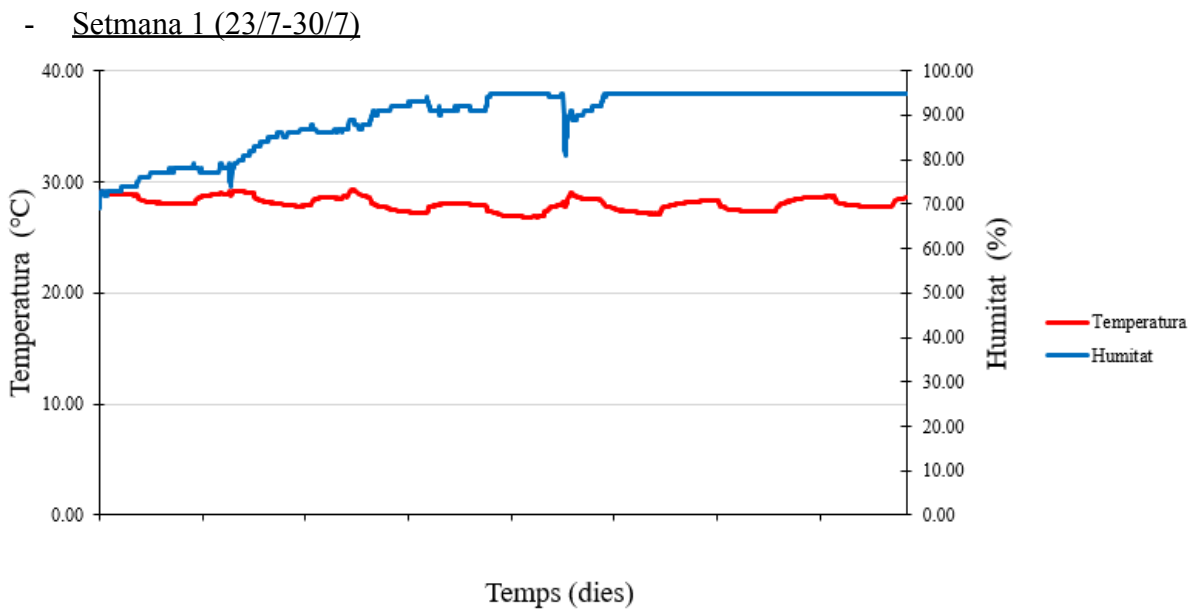


Fig. 58 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la primera setmana.

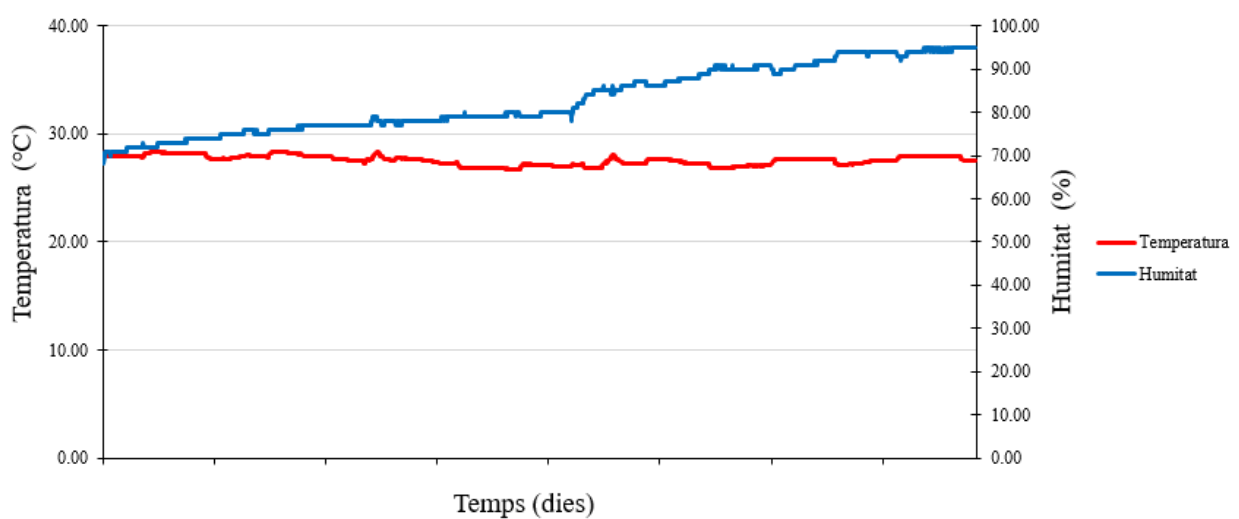


Fig. 59 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la primera setmana.



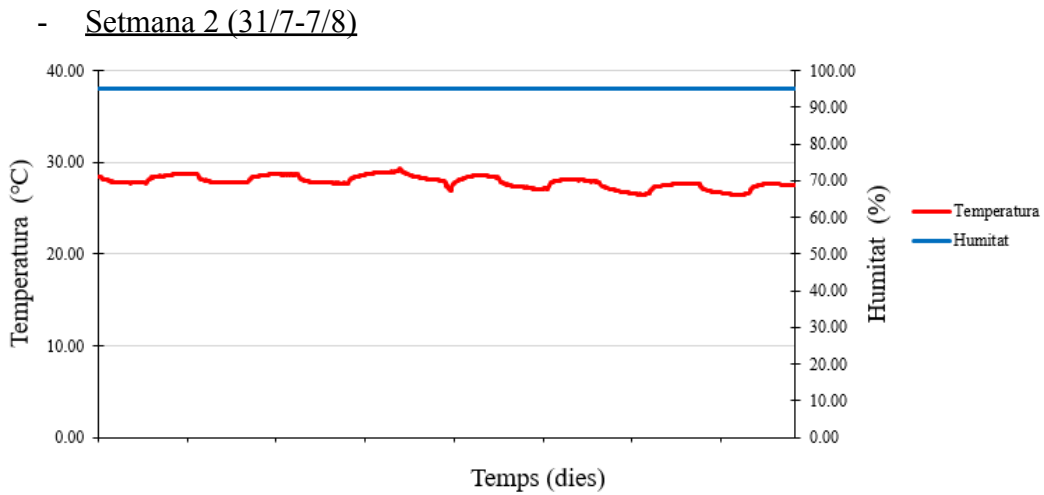


Fig. 60 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la segona setmana.

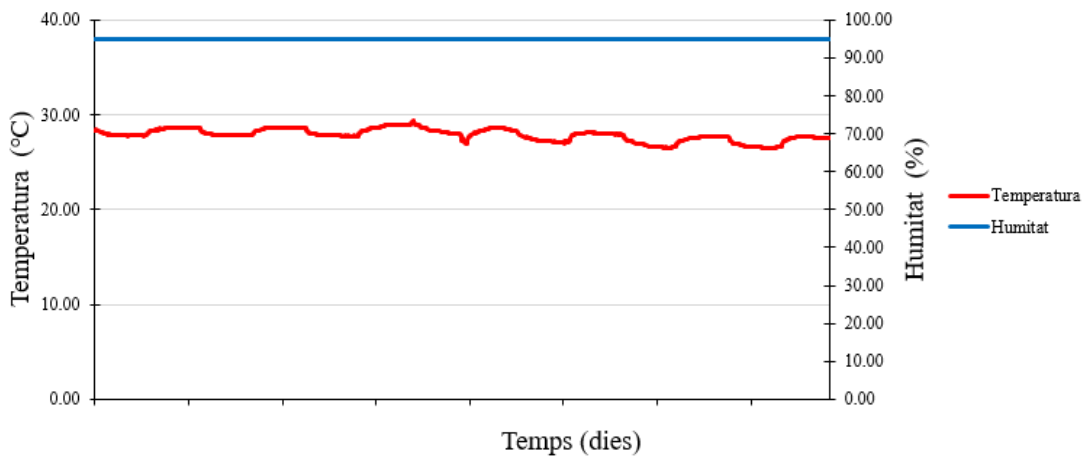


Fig. 61 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la segona setmana.

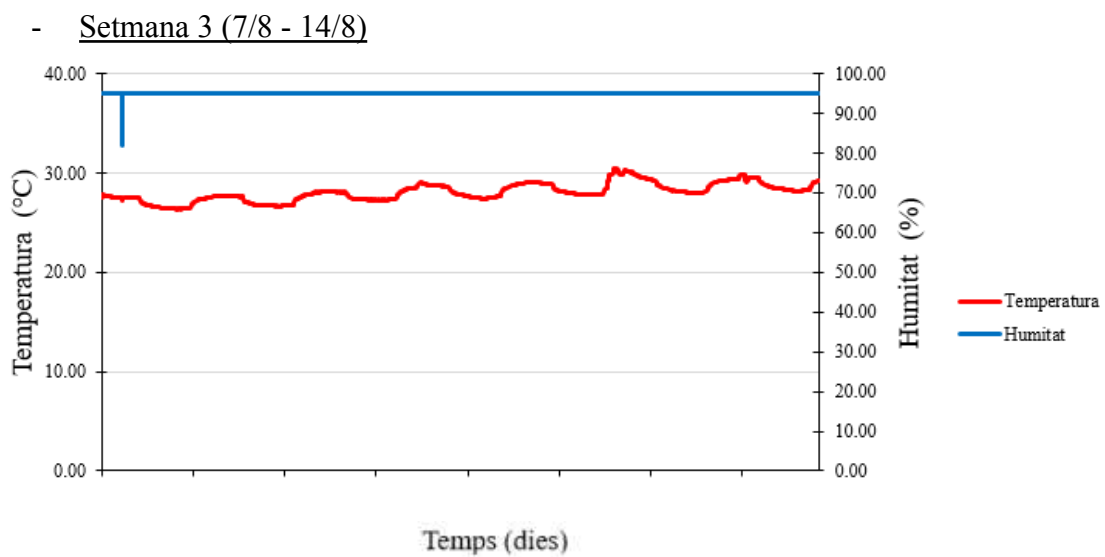


Fig. 62 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la tercera setmana.



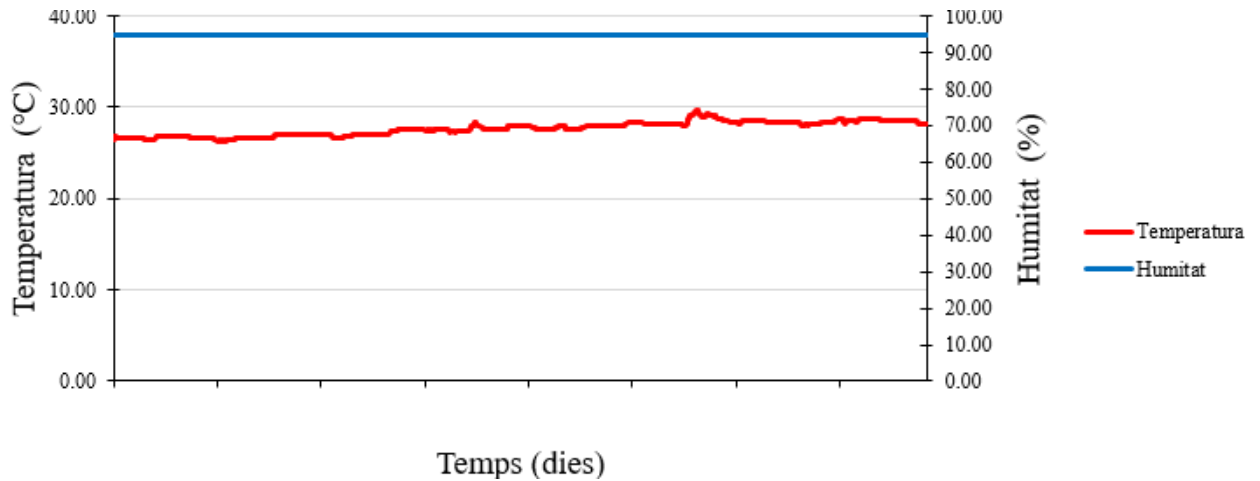


Fig. 63 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la tercera setmana.

- Setmana 4 (14/8 - 21/8)

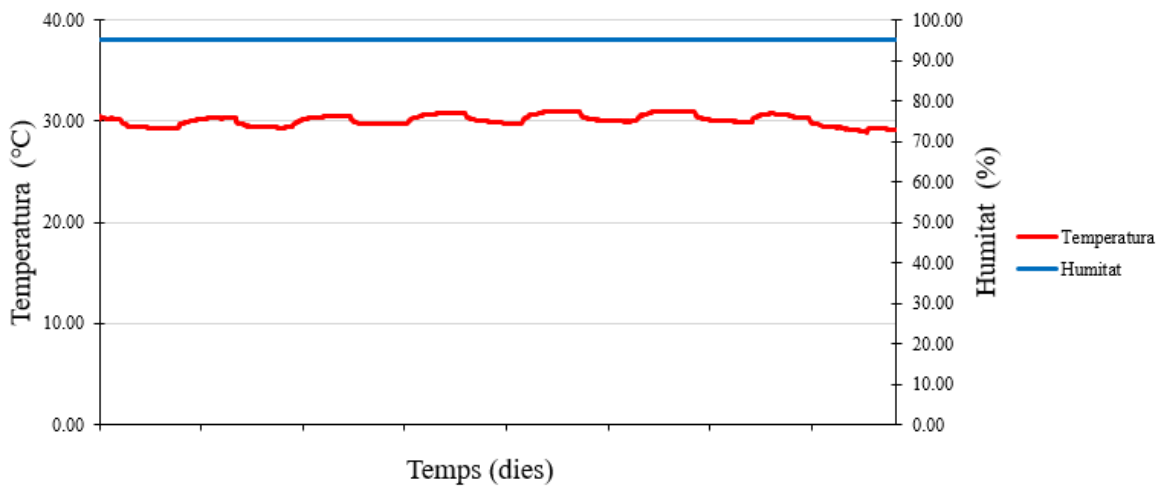


Fig. 64 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la quarta setmana.

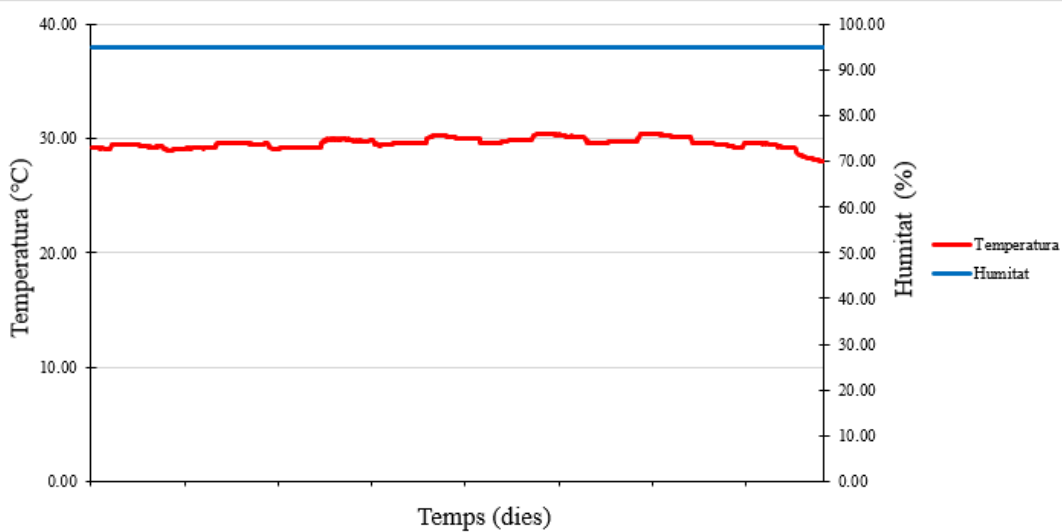


Fig. 65 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la quarta setmana.



En els gràfics de la primera setmana podem veure com la humitat experimenta un increment a mesura que van passant els dies, a causa de la presència de les mostres d'algues a l'interior de les caixes. Inicialment, la humitat es trobava en un valor aproximat d'un 70%; al final de la primera setmana ha arribat al 95% i en general, s'ha mantingut en aquest valor fins la última setmana.

Pel que fa a la temperatura, s'ha mantingut estable durant les quatre setmanes en les dues caixes. Les temperatures més baixes han estat entre els 26 i 27 °C durant la primera setmana. En canvi, les més altes s'han detectat durant la última setmana, i es troben entre els 30 i 31 °C. Durant les dues primeres setmanes, la temperatura de les dues caixes ha tingut un comportament similar; a diferència de les dues últimes setmanes, en què es pot observar que la temperatura de la caixa 2 s'ha mantingut més invariable que la de la caixa 1, ja que en aquesta última s'han percebut més alteracions. Tot i això, aquestes irregularitats entre les dues caixes no són molt notòries. Així doncs, hi ha hagut un bon control de les dues variables temperatura i humitat a les dues caixes.



2. APARELL DE RECOLLIDA DE DADES

Per l'estudi de l'alga que faig en la part pràctica, he dissenyat un sistema fonamentat en Arduino per obtenir diversos tipus de dades, entre les quals hi ha la potència de llum bioluminescent de les algues, mesurada en mil·liwatts; la quantitat de llum emesa per les algues, mesurada en luxs; i el tant per cent de vermell, verd i blau que té el color de les algues, mesurat en PWM, modulació per amplada de polsos, que és una manera de simular un valor analògic.

Primer de tot, vaig haver de dissenyar l'estructura de l'aparell i imprimir-la amb la impressora 3D. L'estructura té quatre parets, amb tres forats a cada una per deixar passar els cables dels sensors; està descobert, ja que he dissenyat una tapa a part que encaixés amb l'aparell per facilitar posar i treure els flascons; i està dissenyat de tal manera que deixa entrar l'agitador magnètic, encaixant-hi bé. Com que el material que utilitza la impressora deixava passar una mica de llum a través seu, vaig folrar les parets externes de l'aparell amb cartolina negra i les parets internes amb cartolina blanca, per tal que quan es prenguessin mesures de la llum de l'alga, el color negre de les parets no l'absorbís. Vaig folrar la tapa de la mateixa manera que l'estructura principal.

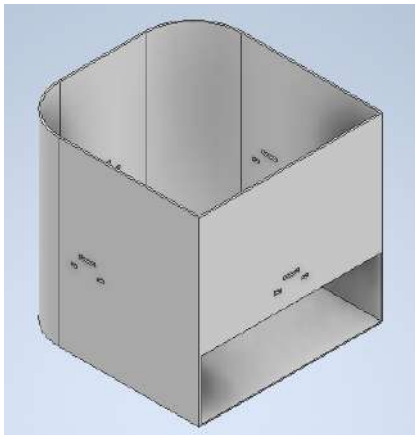


Fig. 66 Disseny de l'aparell de mesura.

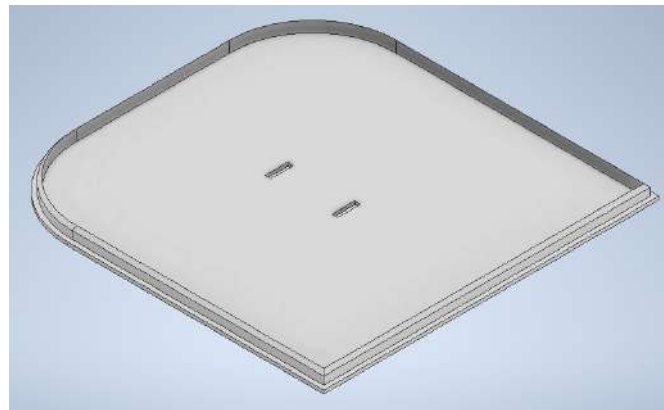


Fig. 67 Disseny de la tapa de l'aparell de mesura.

Els sensors estaran situats de la següent manera: a cada paret hi haurà un luxòmetre (en total n'hi haurà 4), i dos fotodíodes (en total n'hi haurà vuit) i a la tapa hi haurà un sensor de color. Seguidament, vaig enganxar aquesta estructura a una fusta mitjançant dues xarneres, perquè d'aquesta manera es pugui posar i treure l'agitador amb facilitat. Vaig fer això també per poder fer el circuit al costat de l'aparell, enganxat a la fusta. Aquest circuit, a més dels sensors esmentats, inclou una pantalla LCD, una micro SD, una placa Arduino MEGA, 8 resistències de 10 k Ω , un multiplexor i un teclat.



- La pantalla LCD serveix per mostrar la mitjana dels valors que rebem dels 8 fotodiodes.
- La micro SD té la funció d'emmagatzemar les dades que rebem de la placa Arduino MEGA, que és on es connecten tots els sensors.
- Utilitzo aquesta placa en comptes de l'Arduino UNO utilitzada en el circuit de temperatura i humitat perquè el nombre de sensors que connecto per realitzar l'aparell de mesura és major al de l'anterior esquema elèctric.
- Les resistències estan connectades als fotodiodes per generar divisor de tensió i el seu funcionament és el següent: com més alta sigui la resistència, més petita és la intensitat de llum que la fotocèl·lula pot detectar. És aquest el motiu pel qual les resistències que utilitzo són tan grans, ja que la llum que emet aquesta alga és poc intensa.
- El multiplexor es tracta concretament d'un xip CD74HC4051E i la seva funció és permetre que els quatre luxòmetres funcionin alhora.
- Vaig posar el teclat amb la idea que la seva funció fos escollir el programa que es voldria iniciar (segons si es volien fer mesures de potència, luxs o color), ja que tenia pensat fer un programa que contingués aquests tres subprogrames. No obstant això, a causa de la gran dificultat que suposava realitzar-lo, finalment no té cap ús; però com que ja l'havia col·locat al seu lloc definitiu, no l'he retirat.

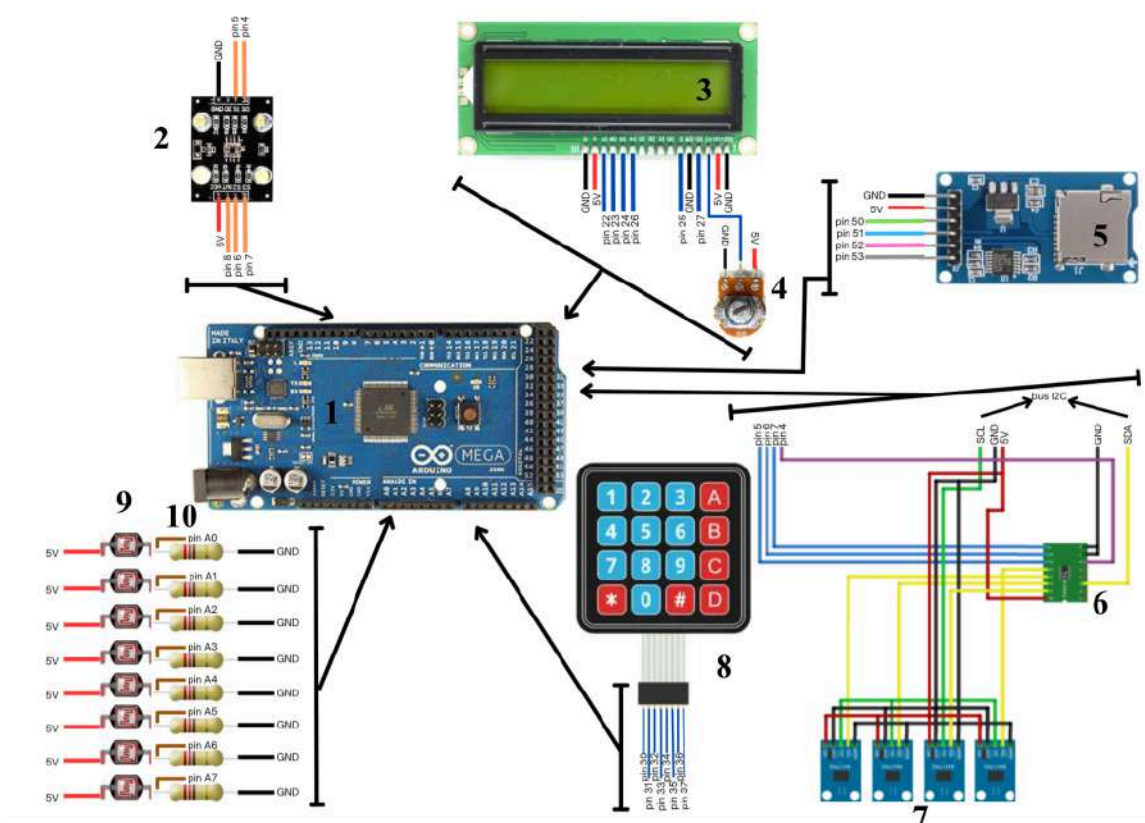


Fig. 68 Esquema elèctric de l'aparell de mesura de llum de l'alga.



Llegenda:

- 1: placa Arduino MEGA
- 2: Sensor de color
- 3: Pantalla LCD
- 4: Potenciòmetre
- 5: Micro SD
- 6: multiplexor
- 7: luxòmetres o sensors BH1750
- 8: teclat
- 9: LDR o fotodíodes
- 10: resistències de 10 k Ω

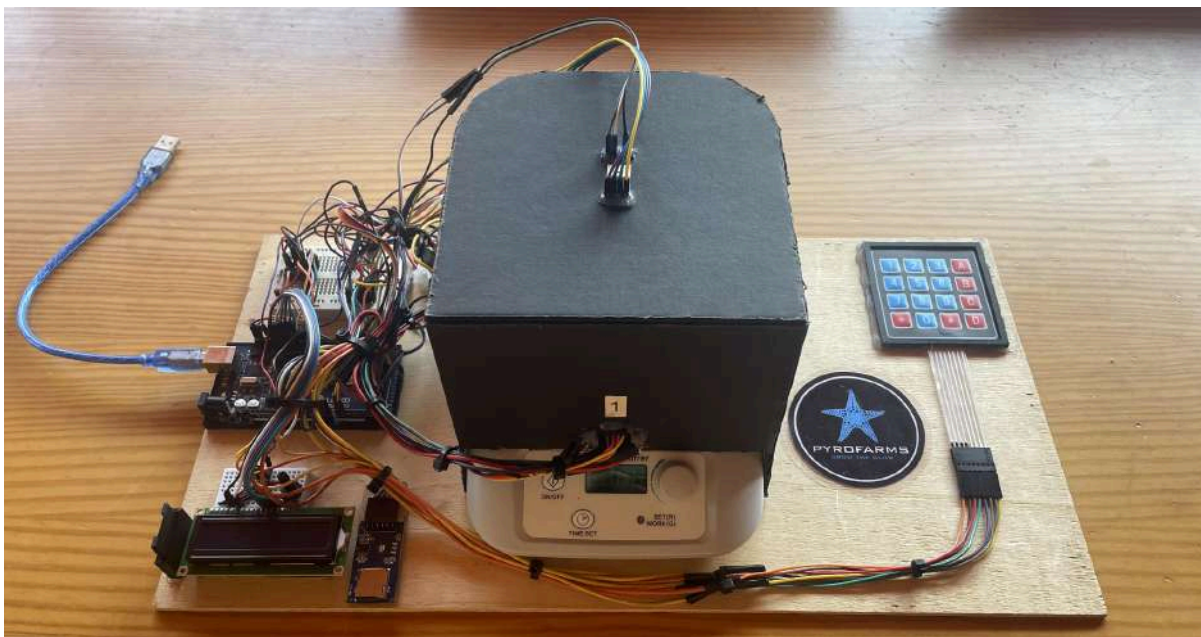


Fig. 69 Aparell de recollida de dades de l'estudi de l'alga.

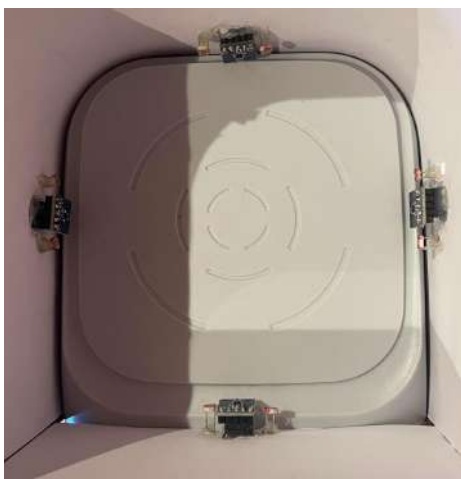


Fig. 70 Distribució dels sensors mesidors de llum en l'aparell de mesura.

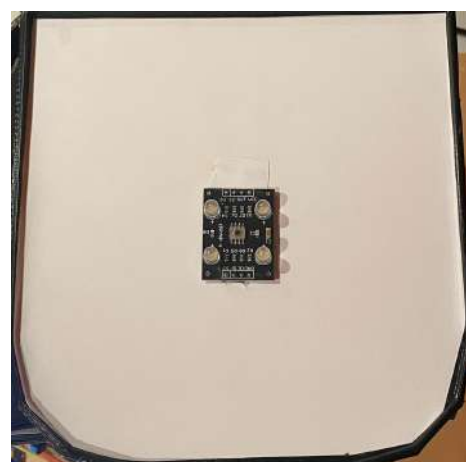


Fig. 71 Posició del sensor de color en la tapa de l'aparell de mesura.



3. ESTUDI DE LA LLUM EMESA PER L'ALGA

3.1 EXPERIÈNCIA A PARTIR DELS LUXÒMETRES, ELS LDR I EL SENSOR DE COLOR

Un cop acabat tot el muntatge de l'aparell i controlat el medi, poso en marxa la presa de dades amb relació a la llum emesa per l'alga. La intenció és estudiar dues característiques d'aquesta: la seva intensitat i el seu color. S'han recollit els valors en dos moments del dia, un a les 6 del matí i un a les 6 de la tarda, ja que dispenso de dues caixes que segueixen un cicle circadiari diferent. La llum de les algues s'analitza a aquesta hora perquè és el moment en què es troben a la meitat del seu cicle circadiari (el qual dura dotze hores).



Fig. 72 Llum que emet una mostra de 50 mL de solució de l'alga *Pyrocystis fusiformis*.

Aquests experiments s'aconsegueixen a partir de tres programes, que es poden trobar als annexos, un pel funcionament dels fotodíodes, un altre pel dels luxòmetres i un altre pel funcionament del sensor de color. La recollida de dades dura tres dies, un per cada programa, així s'evita tant l'agitació prèvia de la població d'algues abans d'un experiment com la possibilitat d'analitzar-la en un moment que aquesta tingui un rendiment més baix del que podria tenir.

El procediment i les mesures que segueixo per fer l'anàlisi de la llum emesa per l'alga són les següents: primer preparo el programa a l'ordinador, on guardo totes les dades que la placa Arduino enregistra i envia; seguidament introdueixo la barra magnètica de l'agitador a la solució d'algues i tapo bé el recipient; llavors el col·loco al centre de l'agitador, a l'interior de



l'aparell de mesura (Fig. 66) i tapo aquest; per evitar que entri la mínima llum possible que pugui afectar els resultats de les mesures, tanco el llum de l'habitació abans d'iniciar el programa. Una vegada aquest s'engega, augmento progressivament la intensitat de l'agitador, fins a arribar al seu màxim, 1600 rpm. Amb la recollida de dades de luxs i color, he deixat l'agitador funcionant durant 30 segons, ja que de seguida he vist que els valors obtinguts no són variats; no obstant això, en l'estudi mitjançant els LDR s'han pres 120 valors, és a dir, l'agitador ha funcionat 2 minuts per mostra. En totes tres anàlisis cada sensor ha recollit 1 dada per cada segon.

Un cop finalitzada la recollida de dades amb les vuit mostres, les reuniré de nou al recipient d'1L, de manera que tornaré a tenir una solució de 400 mL d'algues, i realitzaré les mateixes proves de mesura de llum amb aquesta nova mostra. Això em permetrà veure si el fet que hi hagi una major quantitat de població d'algues implica uns resultats diferents.

3.1.1 RELACIÓ ENTRADA ANALÒGICA-POTÈNCIA

Les dades de llum emesa obtingudes amb els LDR són analògiques amb unitats pròpies de l'Arduino (escala entrada analògica Arduino). Per transformar-la en unitats del SI; en aquest cas potència de llum emesa, he realitzat el següent muntatge:

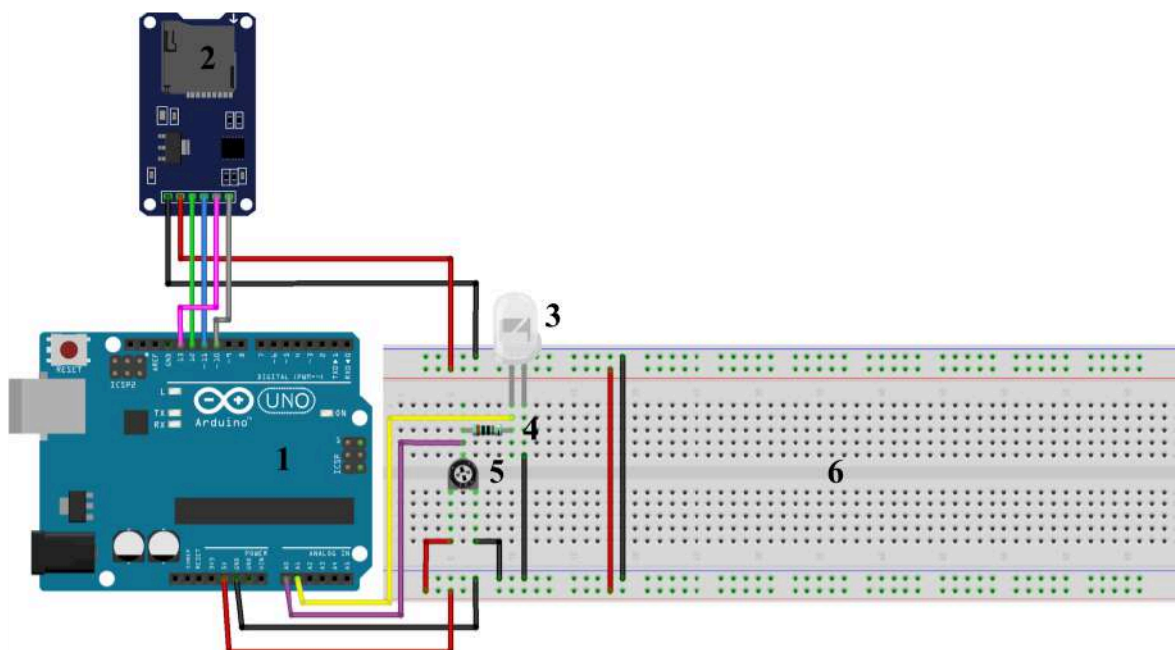


Fig. 73 Esquema elèctric del circuit realitzat per establir una relació entre l'entrada analògica d'Arduino i la potència.



Llegenda:

- 1: placa Arduino UNO
- 2: Micro SD
- 3: LED
- 4: Resistència de 10 Ω
- 5: Potenciòmetre
- 6: placa de proves

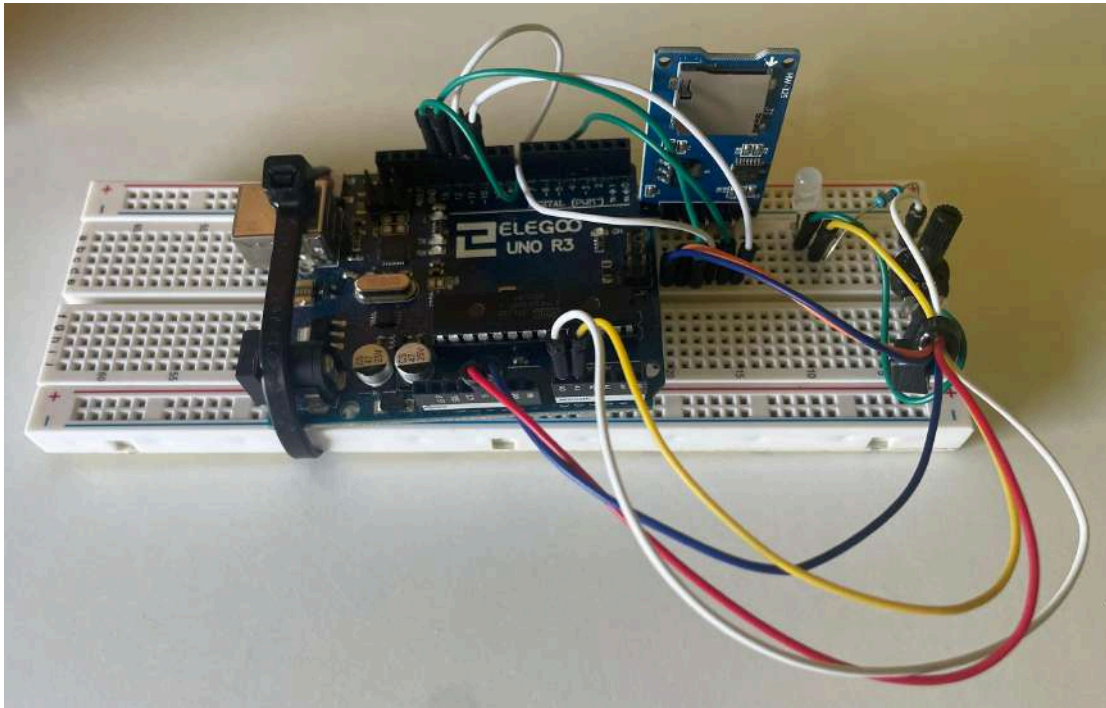


Fig. 74 Circuit pensat per establir valors de potència als valors d'entrada analògica d'Arduino.

Gràcies a aquest muntatge podem obtenir dos valors: el valor de lectura llegit pel cable connectat al potenciòmetre i el valor de lectura llegit pel cable connectat a la resistència. A partir d'aquests valors i el voltatge ja conegut (5V) proporcionat per l'Arduino, es poden realitzar una sèrie de càlculs que s'executen en un programa introduït a l'Arduino, el qual es pot trobar a l'annex D. Aquests càlculs ens permeten agafar els valors analògics de lectura del LED i associar-hi una potència. Tot això ho podem fer sabent que es tracta d'un circuit en sèrie, per tant, la intensitat és la mateixa en tot el circuit i utilitzant la llei d'Ohm podem establir les següents fórmules:

$$V = I \cdot R \quad P = I \cdot V$$

on V és el voltatge (en Volts), I és la intensitat (en Ampers), R la resistència (en Ohms) i P la potència (en Watts).



El programa realitzarà de manera automàtica els següents càlculs:

| FÒRMULES: | DADES: |
|-----------------|--------------------|
| $V = I \cdot R$ | - $V_{TOTAL} = 5V$ |
| $P = I \cdot V$ | - $R = 10 \Omega$ |
| | - $I = ?$ |
| | - $P = ?$ |

*El programa ens proporciona les següents dades:

- Voltatge potenciòmetre (V_Pot)
- Voltatge LED (V_LED)

CÀLCUL

$$I = \frac{V_{RESISTÈNCIA}}{R} = \frac{V_{TOTAL} - V_{Pot} - V_{LED}}{R}$$
$$P_{LED} = I_{CIRCUIT} \cdot V_{LED}$$

Fig. 75 Càlculs que executa el programa per tal d'associar valors de potència als valors d'entrada analògica d'Arduino.

Per obtenir la gràfica desitjada que ens relacioni el valor d'una potència amb una entrada analògica, el que faig és executar aquests càlculs moltes vegades i amb un interval de temps molt curt entre ells. Mitjançant una micro SD enregistro tot aquests valors, i amb l'ajuda de l'excel realitzo el següent gràfic que em relaciona la entrada analògica de l'Arduino amb la potència que emet el LED del circuit.

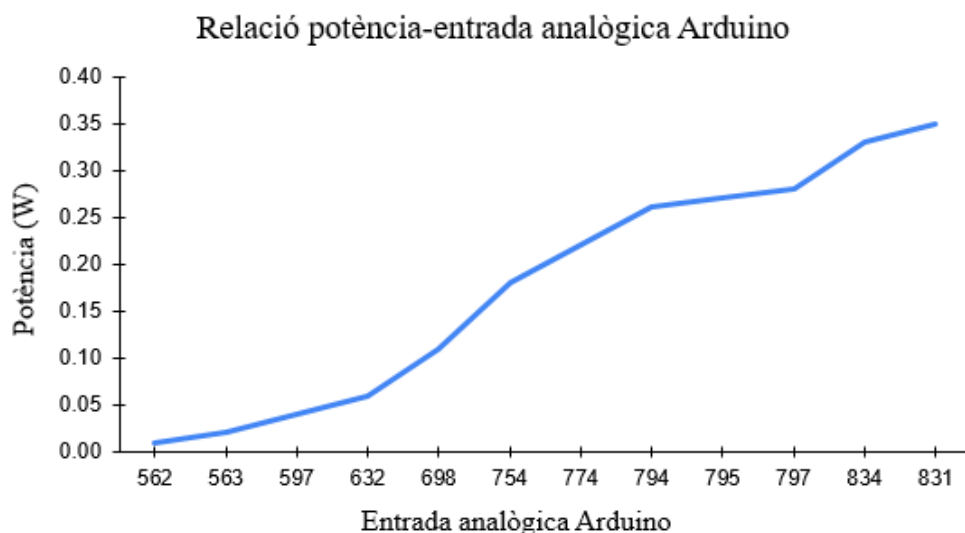


Fig. 76 Gràfic de la relació entre els valors de potència i els valors d'entrada analògica d'Arduino.



3.2 ESTUDI ALTERNATIU SENSOR DE COLOR

Com que no he pogut obtenir dades diferents a zero amb el sensor de color perquè la llum no era prou intensa com per ser detectable pel sensor utilitzat, de sensibilitat igual a 1, he pensat un estudi alternatiu que em permetrà prendre mesures relacionades amb aquest paràmetre.

Prèviament, però, explicaré en aquest subapartat com he calibrat aquest sensor. Per graduar el sensor de color he utilitzat retalls de cartolines de color blau, verd, vermell, blanc i negre. Mitjançant un programa que es pot trobar a l'annex G, he fet mesures amb el sensor de color quan aquest enfocava a la cartolina blanca, i he anotat els valors més baixos de vermell, verd i blau (RGB). He fet el mateix amb la cartolina negra però aquesta vegada anotant els valors més alts dels tres colors que em proporcionava el sensor de color. Seguidament, he omplert uns espais del programa amb les dades recollides, ja que aquest ho requeria per obtenir els valors de la mostra amb exactitud. Finalment, per comprovar que el procediment s'ha fet correctament, amb unes cartolines de color vermell, verd i blau he fet proves que han resultat positives per poder veure si els resultats eren els adequats.

L'estudi alternatiu pensat per aprofitar el sensor de color instal·lat a l'aparell de mesura i per poder tenir dades amb relació al color de la llum emesa per l'alga consisteix en el següent: imprimir la fig. 72, en la que es veu la llum de l'alga, i orientar-hi el sensor de color. D'aquesta manera, realitzant una acció semblant a quan he calibrat el dispositiu, podré recollir valors del color que emet l'alga. Tot i això, cal recordar que les dades que prendré seran orientatives, ja que no les obtindrè directament de l'alga, sinó a través d'una imatge impresa, la qual no mostra al 100% el color exacte de l'alga, degut a les alteracions que hi poden haver per la càmera i pel toner de la impressora. Aquesta mesura ha durat 45 segons, així doncs, s'han pres 45 valors.



4. INTERPRETACIÓ DE RESULTATS

4.1 ESTUDI A PARTIR DELS LUXÒMETRES, ELS LDR I EL SENSOR DE COLOR

Per una banda, els resultats dels experiments en què s'ha estudiat la llum de l'alga a través dels luxòmetres i del sensor de color no han sigut gaire satisfactoris, ja que totes les dades obtingudes han sigut zero (com es pot veure en el següent gràfic amb relació als luxs). Possiblement, això ha sigut així degut a l'ús d'un volum escàs de solució d'algues a l'hora de quantificar la seva llum. Per aquest motiu, també s'ha fet un experiment en el qual s'ha estudiat la llum del conjunt format per les vuit mostres d'algues, abocades de nou en el recipient d'1 L en el què es trobaven inicialment. També per aquest motiu he realitzat l'estudi alternatiu del color de llum de l'alga.

D'altra banda, per tal que els LDR o fotodiodes fossin capaços de captar una llum tant tènue, vaig haver d'utilitzar en el seu circuit resistències de 10 k Ω , ja que com més gran és la resistència que es connecta al fotodiode, més petit i precís serà el rang de mesura d'aquest. Tot i això, l'ús d'aquesta resistència té un inconvenient, i és que el seu valor tan alt implica que la intensitat del circuit sigui pràcticament nul·la, ja que si aïllem la intensitat segons la llei d'Ohm, obtenim $I=V/R$ i com més gran és el denominador d'una fracció, més s'aproxima el resultat d'aquesta a zero. Això comporta que no circuli corrent pel circuit, per tant, que no es puguin llegir els valors d'entrada analògica d'Arduino i seguidament, a partir d'una sèrie de càlculs, associar-hi una potència.

No obstant, aquest fet no ens impedeix analitzar el comportament de la llum emesa per l'alga, ja que els LDR detectaven valors d'entrada analògica diferents a zero, per la qual cosa podem comprovar que l'alga emet llum (encara que no sigui suficient forta com per associar-hi un valor de potència) i en diferents intensitats (atès que no tots els valors obtinguts són iguals). És gràcies a això que he pogut elaborar uns gràfics a partir de les mitjanes dels vuit fotodiodes per cada segon de cada mostra que he estudiat. Hi ha vuit gràfics individuals, que ens permeten veure amb més detall els valors analògics corresponents a la llum de l'alga, i un gràfic comparatiu amb totes les mostres.



- Gràfic mostra 1:

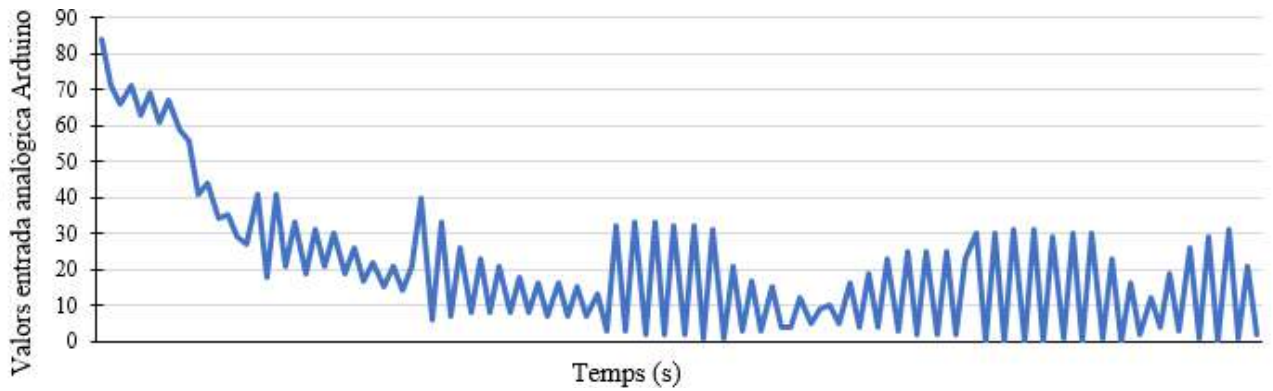


Fig. 77 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 1.

- Gràfic mostra 2:

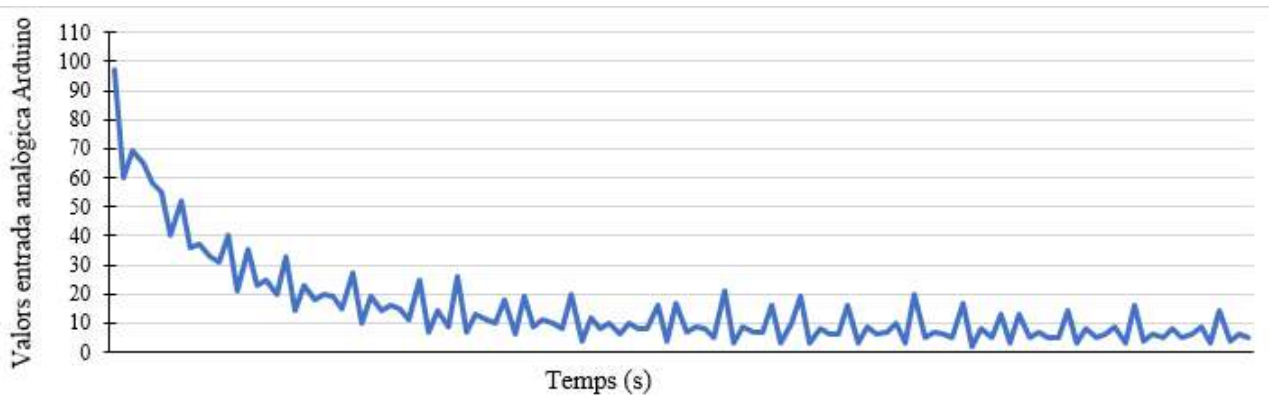


Fig. 78 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 2.

- Gràfic mostra 3:

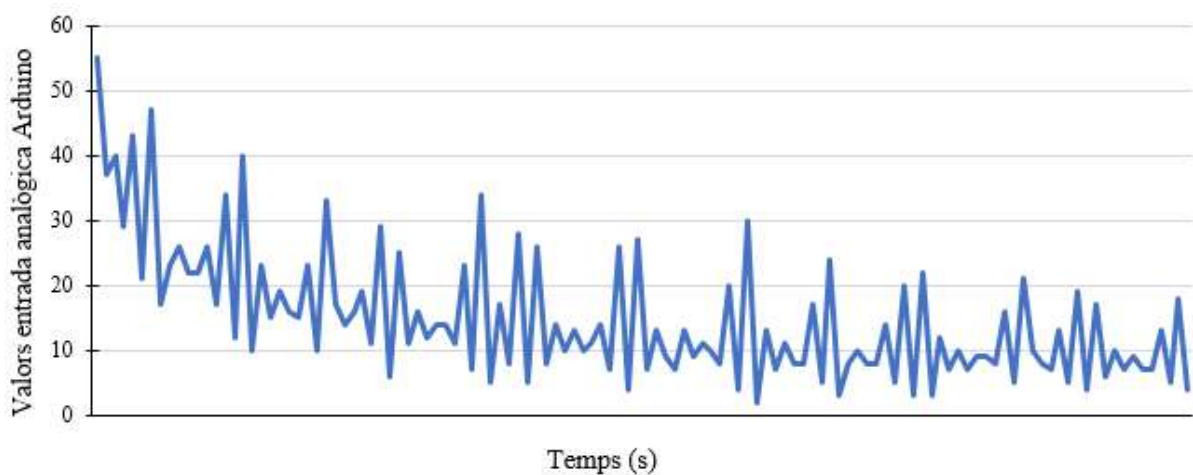


Fig. 79 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 3.



- Gràfic mostra 4:

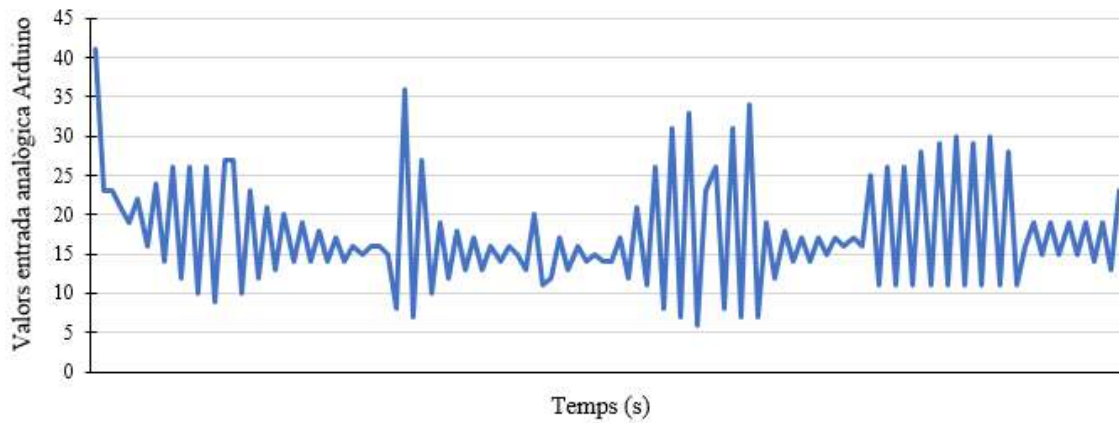


Fig. 80 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 4.

- Gràfic mostra 5:

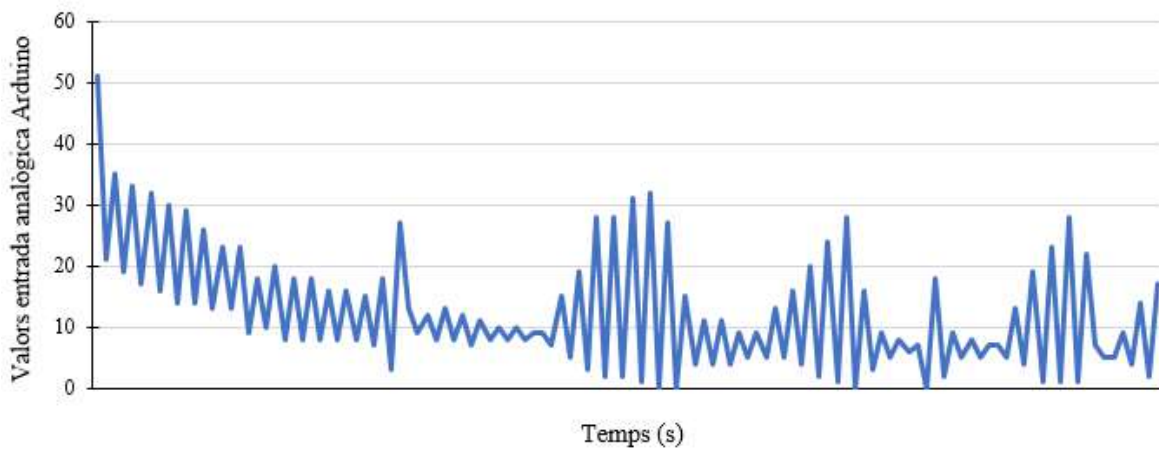


Fig. 81 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 5.

- Gràfic mostra 6:

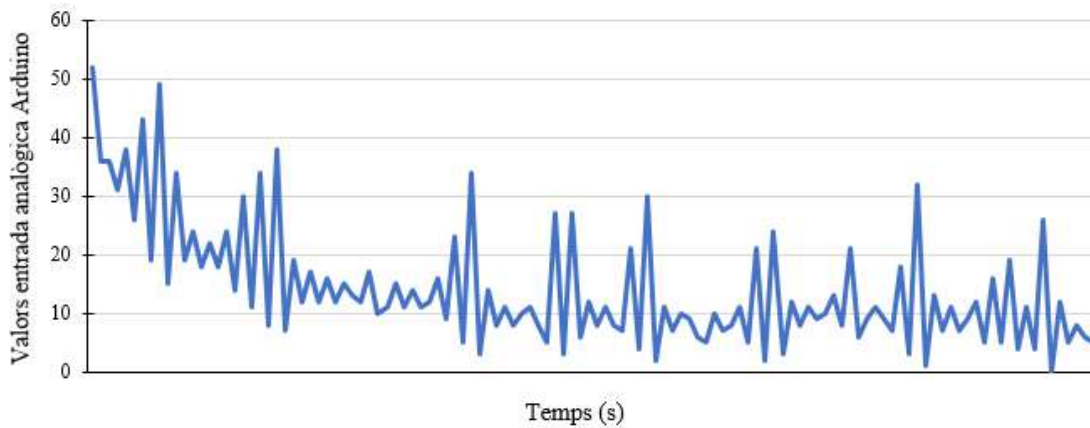


Fig. 82 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 6.



- Gràfic mostra 7:

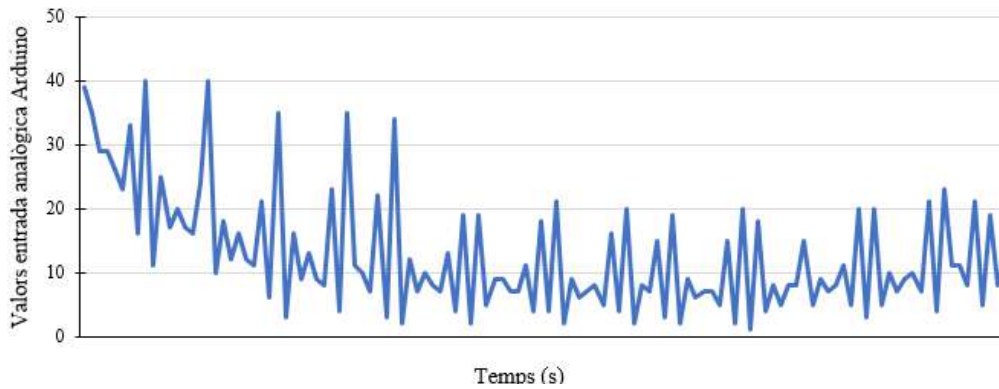


Fig. 83 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 7.

- Gràfic mostra 8:

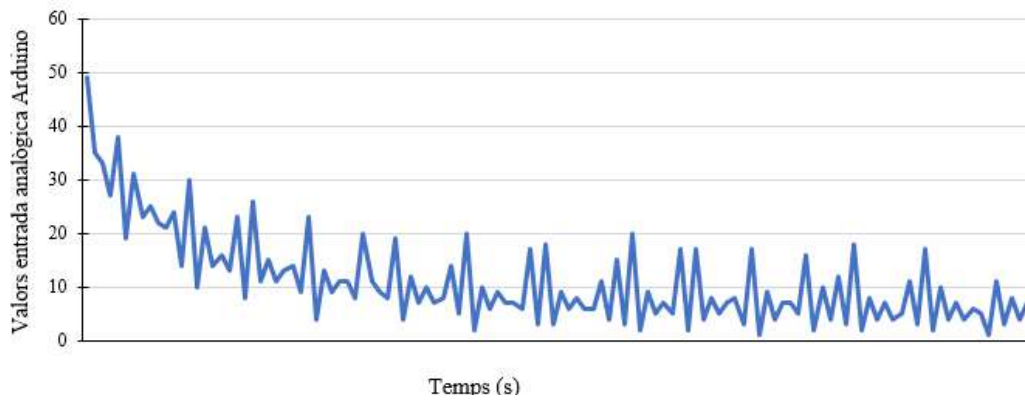


Fig. 84 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 8.

- Gràfic amb els valors de totes les mostres:

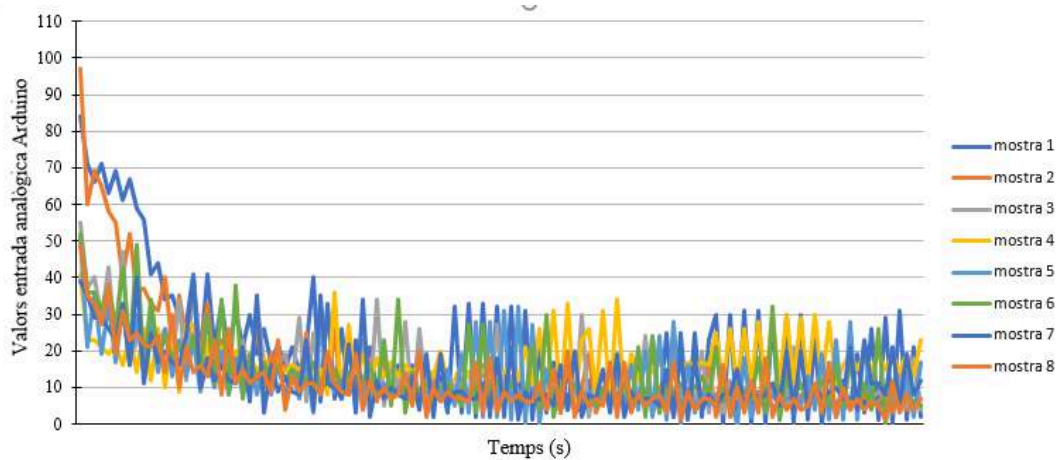


Fig. 85 Gràfic comparatiu dels valors obtinguts mitjançant els LDR de totes les mostres.



L'elaboració d'aquests gràfics ens permet veure fàcilment com actua la bioluminescència de l'alga. Principalment veiem que l'organisme s'il·lumina intermitentment, és a dir, emetent una llum més potent i una poc intensa successivament. El valor màxim en tots els casos sempre ha sigut el primer, que és el moment en què les algues passen d'estar en repòs a agitada, ja que és el seu moment d'alteració màxima. A partir d'aquí els valors van disminuint progressivament, però gairebé sempre seguint aquesta alternació entre valor alt i valor baix.

També es pot observar que en algunes mostres hi ha moments en què l'alga disminueix el seu rendiment durant uns segons i després torna a emetre llum relativament intensa. Altres mostres, en canvi, són més estables i la seva llum segueix un mateix patró.

Gràcies a l'últim gràfic podem comparar l'emissió de llum de totes les mostres d'algues. En aquest gràfic es pot veure que la mostra 1 i la mostra 2 són les que han aconseguit una intensitat de llum major, adquirint la segona mostra el primer lloc amb un valor de 97; i la mostra 1 el segon lloc amb un valor de 84. El punt més alt en la resta de mostres es troba entre els valors 40 i 50.

4.2 RESULTATS ESTUDI POBLACIÓ D'ALGUES 400 ML

Com he explicat en l'apartat anterior, he realitzat el mateix estudi agrupant les 8 mostres de 50 mL de solució d'algues. Tot i això, els valors recollits amb els luxòmetres i el sensor de color han continuat sent zero. En canvi, podem tornar a analitzar el comportament de la llum emesa per la població total d'algues a partir de les dades corresponents representades al següent gràfic:

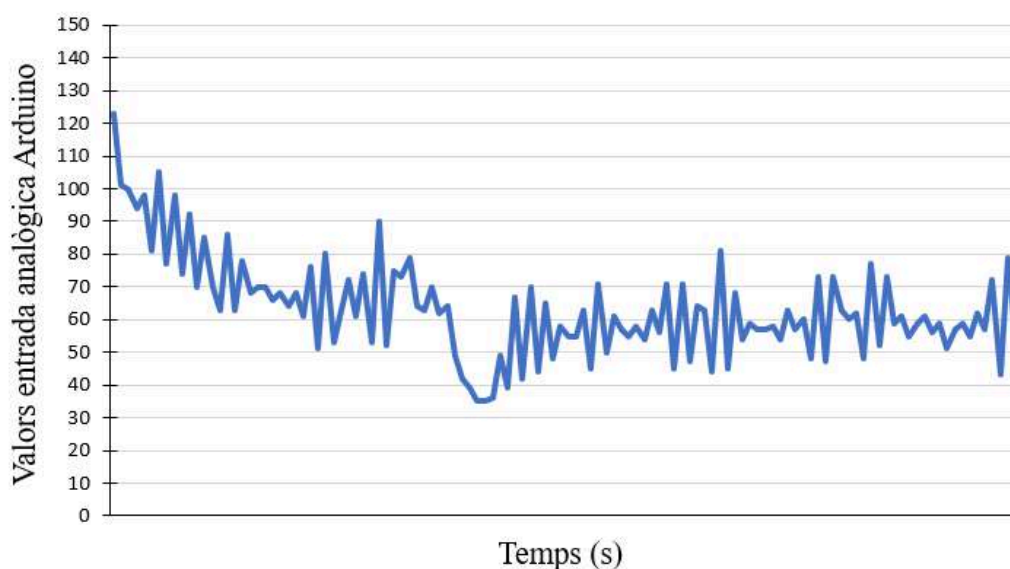


Fig. 86 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR en la població d'algues de 400 mL.



Tal i com es pot observar, el primer valor obtingut és superior als resultats de totes les vuit mostres estudiades anteriorment, el valor màxim de les quals havia sigut 97, a diferència d'aquest cas, que és gairebé 125. Una altra característica del comportament lumínic de la població és el patró que segueix de llum intensa-llum tènue (relativament), que s'ha pogut veure que també segueixen les mostres de 50 mL i queda evidenciat per la forma del gràfic.

També és destacable la constància que ha tingut aquesta nova mostra amb relació a la seva llum, ja que encara que al principi experimenta una disminució dels valors, després es manté en el mateix interval gairebé tota l'estona. Tot i això, no s'ha de passar per alt la baixada que es veu des d'un valor aproximat de 60 fins a un de 30, més o menys. Aquesta és la única anomalia que trobem, però, perquè la resta del gràfic té un comportament similar als que he comentat prèviament. Aquesta vegada, en general, les dades registrades són més altes que les obtingudes en els experiments anteriors, així doncs, una quantitat major de població d'algues implica una llum relativament més intensa.

4.3 RESULTATS ESTUDI ALTERNATIU AMB EL SENSOR DE COLOR

L'estudi en el qual he utilitzat el sensor de color explicat a l'apartat 3.2 m'ha permès adquirir tota una sèrie de valors que m'indiquen les proporcions de cada color primari que conté la llum captada pel sensor de color. Gràcies a això, he pogut elaborar un gràfic per facilitar la interpretació d'aquests resultats.

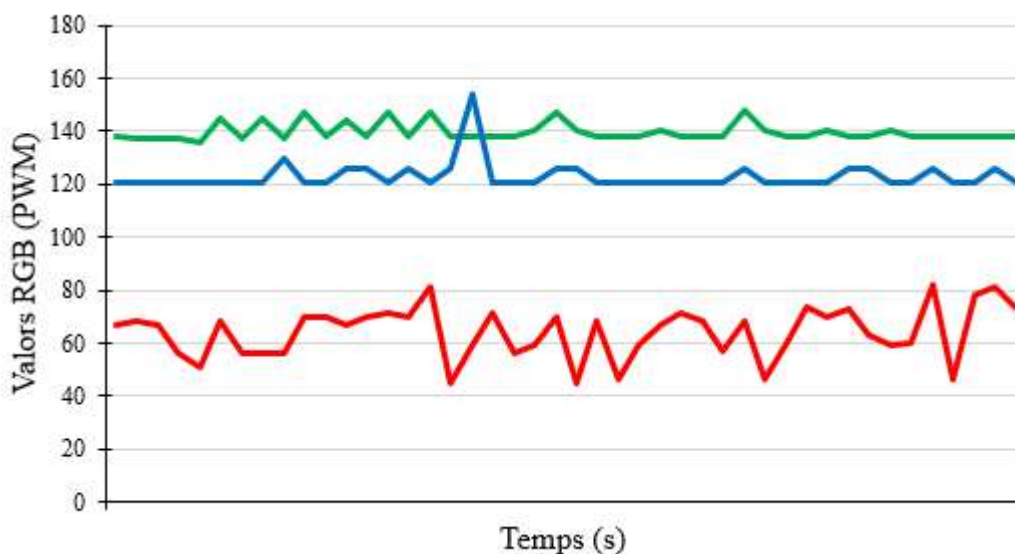


Fig. 87 Gràfic dels valors obtinguts en l'estudi alternatiu amb el sensor de color.



Tal i com es pot veure, els dos colors predominants són el blau i el verd, aquest últim una mica més per sobre gairebé tot el temps d'estudi. En canvi, el color vermell s'ha mantingut bastant per sota, amb diferents variacions en el seu valor, durant tota l'estona. També es pot identificar que els colors verd i blau segueixen un mateix patró en el seu comportament, a diferència del vermell, que mostra una continuïtat totalment diferent. Per tant, la llum emesa per l'alga és principalment de color blau verdós o blau turquesa.



5. OBSERVACIÓ AL MICROSCOPI

Aquest apartat té dos objectius: poder veure la morfologia de l'alga de primera mà i fer un estudi de la concentració mitjana d'algues en les vuit mostres.

Per determinar la concentració mitjana vaig seguir el següent procediment: primer de tot, abans de prendre una mostra, s'ha de sacsejar suaument per repartir equitativament el contingut de la solució; llavors s'extreuen 200 µL amb una micropipeta, mostra que s'haurà de col·locar en un portaobjectes. Seguidament s'han de comptar el nombre de cèl·lules sota el microscopi, a mesura que s'ajusta el volum per tal que hi hagi entre 10 i 20 algues a la mostra presa. Aquest mateix seguiment s'ha de repetir set vegades més, així tindrem una mesura de concentració de cada població d'algues. Després es fa la mitjana de les dades recollides, de tal manera que disposaré d'una xifra de cèl·lules per cada 200 µL de solució. Finalment, mitjançant factors de conversió, podem trobar la quantitat la concentració de cèl·lules per un mL de solució. Tanmateix, tot i haver seguit el procediment explicat, no vaig obtenir resultats positius, ja que després de fer varies observacions, no havia pogut veure cap cèl·lula de l'alga i per tant, em sortia una concentració de zero. Per tal d'aconseguir veure l'alga, vaig provar de fer algunes observacions tenyint la mostra amb blau de metilè, tot i així, els resultats van ser els mateixos. Vaig fer un nou intent d'aconseguir observar una cèl·lula de l'organisme al unirles vuit mostres al recipient d'1L ja que, amb més quantitat de solució, seria més probable extreure alguna alga amb la micropipeta i així poder observar-la. Els resultats d'aquest van ser positius, ja que aquesta vegada sí que vaig observar algunes algues, les imatges de les quals adjunto seguidament:



Fig. 88 Alga *Pyrocystis fusiformis* observada al microscopi.

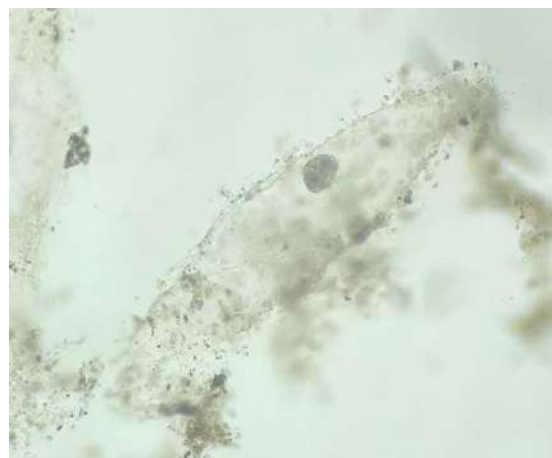


Fig. 89 Alga *Pyrocystis fusiformis* observada a 100X.



Aquestes fotografies s'han obtingut observant a través de l'objectiu del microscopi de 10X, que multiplicat pels augments que té l'ocular (10X), resultarà un augment total de 100X. No vaig utilitzar l'objectiu de 40X, és a dir, amb un augment total de 400X, perquè en el moment d'enfocar s'apropava massa a la mostra, de manera que hi havia el perill que es mullés i que alhora alterés el contingut d'aquesta. En aquestes observacions no he utilitzat blau de metilè, ja que l'únic canvi que hagués implicat hagués sigut tenyir la mostra de blau, especialment el nucli; i prescindint d'ell he pogut observar l'alga i els seus components igualment.

En aquestes imatges de l'alga unicel·lular es pot identificar el seu nucli, la seva membrana cel·lular i el seu citoplasma. Les estructures que es veuen a l'interior d'aquest no són òrgans cel·lulars, ja que aquests només es poden identificar amb el microscopi electrònic, el qual ofereix imatges més augmentades i amb més resolució. Per tant, probablement es podria tractar de nutrients que he anat subministrant a les poblacions d'algues. També es pot observar en les dues fotografies que, tal i com el seu nom indica, l'alga presenta la forma fusiforme que la caracteritza en les dues fotografies.



CONCLUSIONS

L'objectiu principal que em vaig plantejar al començament del treball va ser comprovar la viabilitat d'un sistema d'il·luminació fonamentat en la bioluminescència, i per tant, ecològic. Aquest es podria aconseguir a partir dels següents objectius: investigar la reacció i els organismes que la posen a la pràctica, gràcies a aquests coneixements adquirits mantenir en vida l'alga bioluminescent *Pyrocystis fusiformis* i realitzar-ne un estudi. Seguidament analitzaré el resultat de cada un dels tres últims objectius i llavors extreuré conclusions respecte l'objectiu inicial en què s'ha sostingut el treball.

L'objectiu amb relació a la recerca sobre el procés químic de la bioluminescència i els éssers vius que tenen aquesta capacitat s'ha aconseguit, ja que en el marc teòric he pogut explicar àmpliament la reacció bioluminescent i una gran varietat d'organismes que la porten a terme.

El següent objectiu també s'ha acomplert majoritàriament, doncs he pogut mantenir en vida l'alga esmentada durant el període que ha durat la seva investigació, fet que he pogut anar comprovant gràcies a la seva bioluminescència. No obstant això, degut a que no em va ser possible esbrinar la concentració inicial d'algues (els resultats d'aquesta eren nuls), no he pogut constatar el creixement de la població d'algues, el qual era part d'aquest objectiu.

L'estudi de l'alga s'ha pogut portar a terme, analitzant diversos factors: la intensitat de la llum emesa per l'alga, en luxs i Watts; el color de la llum de l'alga, en escala RGB; la seva morfologia. Aquest estudi també incloïa estudiar la concentració de la població d'algues, però com ja he explicat abans, no vaig obtenir resultats positius amb mostres tan petites. A partir d'aquí he obtingut diferents resultats, interpretats a l'apartat 4 del marc pràctic, mitjançant els quals puc aconseguir el primer objectiu que m'havia proposat.

Així doncs, després de la realització del marc pràctic, he vist que la llum emesa per aquesta alga és blava (gràcies al sensor de color) i molt tènue, d'una intensitat molt baixa, ja que els resultats que han donat els sensors d'intensitat de llum no han sigut gaire positius. A més, he aconseguit observar la morfologia de l'alga com m'havia proposat.

Per una banda, tots els luxòmetres han donat valors de zero en totes les mesures, així doncs ens trobem que aquesta alga dona un valor de luxs dins el rang d'entre 0 i 1. Com que la sensibilitat dels luxòmetres utilitzats és de 1, no puc precisar més el rang dels valors lumínics emesos per l'alga.



D'altra banda, com ja està explicat en el treball, els fotodiodes han pogut detectar valors perquè la resistència que s'hi aplica és molt gran, però com que aquests són diferents a zero ens confirmen que l'alga emet llum. Malgrat tot, l'ús d'aquesta resistència tan alta ens impedeix associar un valor de potència als obtinguts en escala Arduino (els quals no tenen unitats). Per tant, el resultat obtingut de l'experiència amb els LDR és una mica abstracte, ja que l'alga emet llum, però no la suficient com per relacionar-la amb la potència.

Tot això apunta a que no seria viable dissenyar un sistema d'il·luminació a partir d'aquest organisme, però cal recordar que en el meu treball he estudiat mostres d'algues amb molt poc volum, degut a la limitació de recursos respecte l'alt cost que té aquesta alga (amb els seus nutrients) i el seu enviament cap a Espanya. Remarco això perquè en l'apartat 4.2 del marc pràctic es demostra que una major quantitat de solució d'algues implica més intensitat de llum.

Per tant, sí que seria viable dissenyar alternatives d'il·luminació amb aquesta font de llum biològica, sempre i quan es treballi amb molta quantitat de solució d'algues, com han fet estudis de més escala com ara el projecte *Bioluminescent Devices* o el projecte *Glowpolis* (apartat 6.2 del marc teòric), tot i que treballen amb altres organismes a més d'aquesta alga i, encara que l'objectiu sigui el mateix, la seva bioluminescència és una mica diferent.

Pel que fa a la verificació de les hipòtesis inicials, sí que he pogut trobar una utilitat d'aquest fenomen natural a la nostra vida quotidiana en forma de làmpada, a condició que, com he esmentat prèviament, se'n disposi d'una gran quantitat. No obstant, he finalitzat el projecte abocant les mostres amb les quals he treballat a un recipient rodó, amb la intenció que serveixi com una petita làmpada de llum ambient, que s'il·lumina quan s'agita el contingut del seu interior; ja que aquesta és la idea des de la qual va sorgir el tema d'aquest treball.

Les hipòtesis del segon objectiu també s'han verificat, ja que he sigut capaç de redactar una part teòrica on s'inclou d'una manera ordenada els continguts que estava disposada a investigar al començament.



Fig. 90 Recipient rodó que conté les algues pensat perquè serveixi com a làmpada de llum ambient.



La hipòtesi que m'havia formulat pel tercer objectiu no s'ha confirmat del tot pel fet que no puc saber si les poblacions que he estudiat han crescut respecte a la concentració d'algues.

Hi havia tres hipòtesis plantejades amb referència al quart objectiu, de les quals dues s'han constatat, atès que he pogut controlar el cicle circadiari de l'alga i observar-la al microscopi, però una no. Aquesta consistia en mesurar la llum emesa per l'alga mitjançant alguna aplicació del mòbil, tot i això, després de fer proves amb algunes aplicacions especialitzades en mesures de llum, vaig veure que els resultats que donaven no eren molt precisos. Vaig pensar en altres alternatives com per exemple utilitzar un luxòmetre. Aquesta no va seguir endavant perquè l'aparell del que jo disposava no tenia una sensibilitat prou precisa. Per tant, finalment, vaig decantar-me per la idea d'un aparell de mesura que funcionés a partir de sensors (apartat 2 del marc pràctic).

Durant el desenvolupament d'aquest treball de recerca m'he trobat amb un gran nombre de problemes i dificultats molt diversos. Un dels més importants va ser l'enviament de les algues, ja que al veure que l'empresa americana no enviava a Espanya vaig haver de buscar altres alternatives, des d'enviar correus a *Pyrofarm*s i a altres empreses que en venguessin per demanar informació sobre l'enviament a Espanya fins a buscar contactes que visquessin a França. Finalment vaig trobar la solució d'enviar-les a Perpinyà, com està explicat a l'apartat 1 del marc pràctic.

Algunes complicacions que vaig tenir en quant al medi de les algues van ser trobar vuit flascons d'una mida adequada perquè capiguessin a les dues caixes correctament i que a més a més, la seva capacitat de volum fos l'apropiada; o bé que les làmpades de cultiu no s'engegaven directament quan el temporitzador s'activava, perquè tenen un interruptor, així que el vaig haver de treure i tornar a soldar els cables (apartat 1.1 del marc teòric).

Entre els entrebancs dins l'àrea d'electrònica hi ha pensar un disseny pràctic de l'aparell de mesura, que encaixés amb la forma de l'agitador magnètic utilitzat, i una bona distribució dels sensors de mesura. Un tipus d'aquests, els luxòmetres, em van portar problemes pel que fa a l'ús dels quatre alhora, ja que em va costar molt trobar com fer-ho. Això es podia assolir gràcies al multiplexor esmentat a l'apartat 2 del marc pràctic. També vaig tenir dificultats a l'hora de distribuir els cables durant el muntatge de l'aparell de mesura, ja que al haver-n'hi tants, havia de vigilar que no obstaculitzessin la obertura de l'aparell de mesura, Per reduir aquesta complicació vaig utilitzar clemes, uns tipus de connectors que em permeten unir un conjunt de cables a una connexió comuna.



Al llarg del projecte m'han anat sorgint moltes altres dificultats, que ja he anat solucionant. Algunes d'aquestes estan explicades en el seu apartat corresponent.

Finalment, crec que aquest treball de recerca es podria sotmetre a una gran quantitat de millores, però considero que una a destacar és un volum d'algues a estudiar major, ja que penso que en aquest cas, hagués pogut atribuir valors de potència a les dades obtinguts (que haguessin incrementat).

De la mateixa manera, també presenta possibles viabilitats relacionades amb diversos aspectes. Per exemple, a partir d'observacions mitjançant el microscopi (però en aquest cas potser seria més idoni un d'electrònic), es podrien identificar diferències entre una alga durant la seva fase de dia (mentre fa la fotosíntesi) i una durant la seva fase de nit (quan realitza la bioluminescència) o bé examinar les diferents fases del cicle de vida d'aquestes cèl·lules (que dura entre cinc i set dies).

Una altra idea que vaig considerar durant l'esbós de la part pràctica, que també és una via de continuació envers l'estudi d'aquesta alga es basa en la influència de la salut de l'alga cap a la llum que emet, ja que com més saludable sigui aquesta, més intensa serà la seva bioluminescència. Això obre portes a poder determinar els efectes de la contaminació en els ecosistemes marins, doncs, a partir d'aquests coneixements es podria sotmetre l'alga a diferents substàncies, possiblement perjudicials per ella, que es troben en els oceans i veure com aquestes afecten a la seva intensitat lumínica.

Finalment, la meva opinió respecte aquest treball és, que encara que hagi portat moltíssima feina, hores de treball i constància, ha valgut la pena realitzar-lo, ja que gràcies a ell he ampliat els meus coneixements entorn d'aquest tema i a més, he pogut dur a terme un estudi de l'alga, enfocat cap a una font de llum ecològica, pel meu compte. M'ha agradat tot el desenvolupament que ha tingut el projecte, ja que ha englobat àmbits del coneixement molt diferents, la biologia, la química i la tecnologia, principalment. A més, el sentiment de satisfacció una vegada està acabat és molt bo.



BIBLIOGRAFIA

1. BLOGS I PÀGINES WEB

- Barrecheguren, Pablo. (17 de juliol de 2018). ¿Por qué brillan las luciérngas?. *McGraw Hill* <https://www.mheducation.es/blog/por-que-brillan-las-luciernagas> 21/4/2023
- Bioluminescència. (s.d.). *Enciclopèdia.cat*. Gran enciclopèdia catalana. <https://www.enciclopedia.cat/gran-enciclopedia-catalana/bioluminescencia> 25/2/2023
- Bourdunale, Agostina. (12 de maig de 2022). Bioluminiscencia: la producción de luz por parte de los seres vivos. *Plaza cielo tierra*. Centro de Ciencias Plaza Cielo Tierra. <https://www.plazacielotierra.org/bioluminiscencia-la-produccion-de-luz-por-parte-de-los-seres-vivos/>. 21/2/2023
- Cómo cultivar algas bioluminiscentes en casa (s.d.). *The fast code*. <https://www.thefastcode.com/es-eur/wiki/cultivar-algas-bioluminiscentes-en-casa>. 24/3/2023
- Els dinoflagel·lats (s.d.). *Vida al mar*. Escola Pia de Sant Antoni. <https://blocs.xtec.cat/epsavidaalmar/42-els-dinoflagel%C2%B7lats/>. 7/4/2023
- Estil APA (juny de 2023). *Biblioteca UdG*. Universitat de Girona. https://biblioteca.udg.edu/ca/com-citar-documents/estil-apa?language_content_entity=cak. 28/9/2023
- Evans, Anthony. (12 de desembre de 2017). Glowing Plants: Natural Lightning with no Electricity. *Kickstarter*. <https://www.kickstarter.com/projects/antonyevans/glowing-plants-natural-lighting-with-no-electricit>. 20/7/2023
- Haddock, S.H.D.; McDougall, C.M.; Case, J.F. (1997). *The Bioluminescence Web Page*. University of California, Santa Barbara. <http://biolum.eemb.ucsb.edu/> . 15/2/2023



- Kehoma Piter. (23 d'octubre de 2020). Friday Fellow: Sequoia Glowing Millipede. *Earthling Nature*. <https://earthlingnature.wordpress.com/2020/10/23/friday-fellow-sequoia-glowing-millipede/>. 10/5/2023
- Lee, John. (28 de febrer de 2015). A history of bioluminescence. *Photobiology*. Department of Biochemistry and Molecular Biology; University of Georgia, Athens, GA 30602. <http://photobiology.info/HistBiolum/HistBiolum.html#TOP>. 15/2/2023
- Luz Viviente: ¿Existe un Futuro para la Tecnología Bioluminiscente?. (s.d.). *Konica Minolta - Sensing Americas*. <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/luz-viviente-existe-un-futuro-para-la-tecnologia-bioluminiscente/>. 4/8/2023
- Martínez, Ana. (29 d'abril de 2015). Luminiscencia en el mar: un fenómeno con explicación. *Rocha al dia*. <http://rochaaldia.blogspot.com/2015/04/luminiscencia-en-el-mar-un-fenomeno-con.html>. 8/3/2023
- *PyroFarms*. (2021). <https://pyrofarms.com/>. 5/9/2023
- Rísquez, Alberto. (s.d.). Bioluminiscencia, fascinante fenómeno natural. *Inecol*. Instituto de Ecología, A.C. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2013-06-05-10-34-10/17-ciencia-hoy/1026-bioluminiscencia-fascinante-fenomeno-natural>. 2/3/2023
- Roque, Carlos. (20 de febrer de 2017). ¿Qué es la bioluminiscencia?. *Enroque de ciencia*. <https://enroquedeciencia.blogspot.com/2017/02/que-es-la-bioluminiscencia-1.html>. 5/3/202
- Sancho Martínez, Maribel. (23 de maig de 2016). Bioluminiscencia: brillando con luz propia. *All you need is biology*. <https://allyouneedisbiology.wordpress.com/tag/luciferina/>. 21/2/2023
- Schiro, Danielle J.; Eigner, Rachel. (2013). *A knight in shining armor: Pyrocystis fusiformis*. University of Wisconsin - La Crosse. http://bioweb.uwlax.edu/bio203/f2013/eigner_rach/reproduction.htm. 28/7/2023



- Vázquez, Garibay Guillermo. (23 de desembre de 2013). Funciones de la bioluminiscencia en coleópteros. *Metalgamoth*. Facultat de ciències de la Universitat Nacional Autònoma de Mèxic. <https://metalgamoth.wordpress.com/2013/12/23/funciones-de-la-bioluminiscencia-en-coleopteros/>. 15/5/2023
- Won, Antres Kim. (14 de novembre de 2018). [Sensor de luz] Operación de múltiples sensores de luz BH1750 usando 74HC4051MUX. *Blog Naver*. <https://blog.naver.com/ysahn2k/221398535903>. 27/7/2023



2. ARTICLES

- Adam, Claudia; Virginia, María. *De las luciérnagas a la luz química*. (setembre de 2013). *El Paraninfo: Química (Re)Activa*. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/1990/de_las_luciernagas_a_la_luz_quimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y. 24/4/2023
- *Bioluminiscencia: aplicar la luz biológica a los diseños humanos*. (26 de diciembre de 2011). Ecohabitar: hábitat regenerativo. <https://ecohabitar.org/bioluminiscencia-aplicar-luz-biologica-en-disenos-humanos/>. 17/3/2023
- *Bioluminiscencia, la luz que diagnostica*. (4 de gener de 2021). Beautymed.es. <https://www.beautymed.es/bioluminiscencia-la-luz-que-diagnostica-23381.php#>. 5/8/2023
- *Bioluminiscencia: ¿por qué la naturaleza produce luz?* (17 de gener de 2013). BBC News: Mundo. https://www.bbc.com/mundo/noticias/2013/01/130116_bioluminiscencia_naturaleza_produce_luz. 12/3/2023
- Crespo, Alba. *Ctenóforos, características y diferencias con las medusas*. (18 d'octubre de 2015). Buceo Iberico: Mundo Submarino. <https://www.buceoiberico.com/mundo-submarino/ctenoforos-caracteristicas-y-diferencias-con-las-medusas/>. 10/4/2023
- *Dispositivos bioluminiscentes*. (25 de noviembre de 2011). Construible: Todo Sobre Construcción Sostenible. <https://www.construible.es/2011/11/25/dispositivos-bioluminiscentes>. 30/7/2023
- *El enigma de los hongos bioluminiscentes*. (24 de setembre de 2021). Autopista: planeta 2030. https://www.autopista.es/planeta2030/enigma-hongos-bioluminiscentes_242890_102.html. 1/5/2023
- Harmon, Josh; Schmitz, Andrea. *Así es como la contaminación lumínica está poniendo en riesgo la existencia de animales como luciérnagas*. (5 de setembre de 2020).



- Business Insider. <https://www.businessinsider.es/como-luciernaga-consigue-producir-luz-interio-709303>. 13/4/2023
- Huei-Mien, Ke; Isheng, Jason Tsai. *Understanding and using fungal bioluminescence - Recent progress and future perspectives*. (febrer de 2022). *Current opinion in Green and Sustainable Chemistry*, Volume 33 (100570). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452223621001267?via%3Dihub>. 9/5/2023
- *Lucièrnaga, el bicho de luz*. (5 de setembre de 2010). National Geographic. <https://www.nationalgeographic.es/animales/luciernaga-bicho-de-luz>. 15/4/2023
- Marek, Paul; Papaj, Daniel; Yeager, Justin; Molina, Sergio; Moore, Wendy. *Bioluminescent aposematism in millipedes*. (s.d.). *Current Biology*, Volume 21 (18). <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0960-9822%2811%2900887-6>. 14/5/2023
- National Geographic Society. *Bioluminescence - Living light*. (3 d'agost de 2022). *National Geographic: Education*. <https://education.nationalgeographic.org/resource/bioluminescence/>. 12/6/2023
- Salam Groovy Japan Staff. *Japanese universities create glowing tree for non-electric lights*. (2021). *Salam Groovy Japan*. <https://www.groovyjapan.com/en/glow-plant/>. 28/7/2023
- Trafton, Anne. *Engineers create plants that glow*. (12 de desembre de 2017). *MIT News on campus and around the world*. <https://news.mit.edu/2017/engineers-create-nanobionic-plants-that-glow-1213>. 24/7/2023
- Valiadi, Martha; Iglesias, Debora. *Understanding Bioluminescence in Dinoflagellates - How Far Have We Come?*. (5 de setembre de 2013). National Library of Medicine. National Center of Biotechnology Information: *Microorganisms*, Volume 1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029497/>. 18/7/2023



- Valiente, Paula. *La bioluminiscencia. ¿Pueden los seres vivos producir luz?* (9 de setembre de 2020). Microbacterium. <https://microbacterium.es/la-bioluminiscencia-pueden-los-seres-vivos-producir-luz>. 8/3/2023
- Villarreal, David. *Las bacterias transformarán la imagen nocturna de las ciudades, el futuro ya está aquí.* (20 d'abril de 2022). Diariomotor: energía y sostenibilidad. <https://www.diariomotor.com/energia-sostenibilidad/bioluminiscencia-bacterias-glowee>. 2/8/2023



3. TREBALLS AUTOPUBLICATS A INTERNET

- Ahumada, A.K.; Benhumea, N.A.; Brugada, K.O.; Camarena, N.Y.; Gaona, N. (2015). *Peces Bioluminiscentes*, <https://es.slideshare.net/MercedesVilchis/peces-bioluminiscentes>. 9/4/2023
- Hernández, Rafael. (2017). *Bioluminiscencia y nanohojas*. <http://unidadespegel.dpa-etsam.com/wp-content/uploads/2017/10/FINAL-COMPLETO-subir.pdf>. 10/3/2023
- Lehmann, Kolja. (2021). *An innovative life source: investigating the bioluminescent activity in the Pyrocystis fusiformis alga*. [https://www.maturitaetsarbeiten.ch/cms/images/2021/Kolja_Lehmann_final/Maturitatsarbeit_2021_fur_Impuls_\(Kolja_Lehmann\).pdf](https://www.maturitaetsarbeiten.ch/cms/images/2021/Kolja_Lehmann_final/Maturitatsarbeit_2021_fur_Impuls_(Kolja_Lehmann).pdf). 10/7/2023

4. PATENTS

- González, Isabel.; Mayoral, Eduardo. (2014). 2 497 340 A1. Oficina española de patentes y marcas. <https://patentimages.storage.googleapis.com/5e/b8/c7/55d805269fe1c4/ES2497340A1.pdf>. 3/6/2023

5. VÍDEOS

- Bitwise Ar. (des del 2017 al 2023). *Curso Arduino desde cero en Español fácil y didáctico*. [Llista de reproducció]. <https://www.youtube.com/playlist?list=PLkjinQ3NFTPnY1eNyLDGi547gkVui1vyn2>. 12/8/2023
- DroneBot Workshop. (19 de gener de 2020). *Arduino Color Sensors - TCS230 & ISL29125*. [Vídeo]. <https://www.youtube.com/watch?v=MwdANecTiPY>. 14/8/2023



6. IMATGES

- Fig. 1 Reacció química de la bioluminescència:
<https://www.plazacielotierra.org/bioluminiscencia-la-produccion-de-luz-por-parte-de-los-seres-vivos/>
- Fig. 2 Fotòcit:
<https://www.chegg.com/learn/physics/introduction-to-physics/bioluminescent-fish>
- Fig. 3 Fotòfor:
<https://en.wikipedia.org/wiki/Photophore>
- Fig. 4 Luciferina bacteriana:
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Luciferin_bacterial.png
- Fig. 5 Luciferina dels dinoflagel·lats:
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.26332327.html>
- Fig. 6 Vargulina:
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f1/Vargulin.svg>
- Fig. 7 Coelenterazina:
<https://es.wikipedia.org/wiki/Coelenterazina>
- Fig. 8 Luciferina de les cuques de llum:
https://es.wikipedia.org/wiki/Luciferina_de_las_luci%C3%A9rnagas
- Fig. 9 Els escarabats bioluminescents que pertanyen al gènere *Pyrophorus*, que podrien haver enganyat els exploradors anglesos, vistos en una placa per Thomas Muffet, qui va ser un naturalista i metge anglès:
<http://photobiology.info/HistBiolum/fig05.gif>
- Fig. 10 Procés genètic simplificat de la bioluminescència en bacteris simbiòtics, la qual depèn del quorum sensing:
<https://allyouneedisbiology.files.wordpress.com/2016/05/luxi-picture.jpg?w=474>
- Fig. 11 Ostracode:
<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRriMoUwac4mful3NMd45XR26r0pEGgN3bL2gva1Oppew&w=474>
- Fig. 12 Parts d'un dinoflagel·lat:
<https://blocs.xtec.cat/epsavidaalmar/42-els-dinoflagel%C2%B7lats/>



- Fig. 13 Ctenòfor:
<https://www.buceoiberico.com/mundo-submarino/ctenoforos-caracteristicas-y-diferencias-con-las-medusas/>
- Fig. 14 *Pelagia noctiluca*:
https://pecesmediterraneo.com/wp-content/uploads/2019/03/pelagia_noctiluca_2.jpg
- Fig. 15 *Aequorea victoria*:
<https://medusas.wiki/imagenes/Clipboard01.jpg>
- Fig. 16 Peix tetra cardinal:
<https://www.fishkeepingnotebook.com/wp-content/uploads/2021/02/do-neon-tetras-glow-in-the-dark.jpg>
- Fig. 17 *Centrophryne spinulosa*:
https://aitor51c.files.wordpress.com/2014/06/es-verdad-que-existen-peces-con-linterna_full_landscape.jpg
- Fig. 18 Caravel·la portuguesa:
https://www.lavanguardia.com/files/image_948_465/uploads/2019/06/20/5fa52bee2f32d.jpeg
- Fig. 19 Sifonòfor pertanyent al gènere *Erenna*:
<https://i.ytimg.com/vi/Jp2qV4tI3sE/maxresdefault.jpg>
- Fig. 20 “Esquers” del sifonòfor *Erenna*:
https://biolum.eemb.ucsb.edu/organism/pictures/s_erenna_lure.jpg
- Fig. 21 Cuca de llum:
<https://www.infocampo.com.ar/wp-content/uploads/2018/12/luciernaga.jpg>
- Fig. 22 Reacció de la bioluminescència en les cuques de llum:
<https://departamentofisicaequimica.files.wordpress.com/2015/01/luciernaga.png?w=640>
- Fig. 23 *Panellus stipticus*:
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e8/PanellusStipticusAug12_2009.jpg/250px-PanellusStipticusAug12_2009.jpg
- Fig. 24 *Mycena illuminans*:
https://live.staticflickr.com/4270/34939453562_8c5eb2130f_b.jpg
- Fig. 25 *Motyxia sequoiae*:
<https://earthlingnature.files.wordpress.com/2020/10/original-1.jpg>



- Fig. 26 Escarabat de la família Phengodidae:
<https://uwm.edu/field-station/wp-content/uploads/sites/380/2016/10/glowworm-beetle14-2rz.jpg>
- Fig. 27 Coleòpter del gènere *Pyrophorus*:
<https://inaturalist-open-data.s3.amazonaws.com/photos/52505903/original.jpg>
- Fig. 28 Planta del tabac bioluminescent:
<https://www.nature.com/articles/498015a>
- Fig. 29 Arbres brillants mostrats al CES:
<https://www.groovyjapan.com/en/glow-plant/>
- Fig. 30 Mobiliari urbà bioluminescent:
<https://www.interempresas.net/Iluminacion/Articulos/225837-Glowee-empresa-francesa-fabrica-lamparas-bacterias-bioluminosas-sin-emplear-electricidad.html>
- Fig. 31 Bancs il·luminats mitjançant bioluminescència:
<https://www.diariomotor.com/energia-sostenibilidad/bioluminiscencia-bacterias-glowee/>
- Fig. 32 Maqueta d'una ciutat il·luminada amb bombetes bioluminescents de Glowee:
<https://www.interempresas.net/Iluminacion/Articulos/225837-Glowee-empresa-francesa-fabrica-lamparas-bacterias-bioluminosas-sin-emplear-electricidad.html>
- Fig. 33 Dispositius bioluminescents utilitzats per senyalitzar un camí:
<https://www.construible.es/2011/11/25/dispositivos-bioluminiscentes>
- Fig. 34 *Pyrocystis fuisformis*:
<https://www.flickr.com/photos/13084997@N03/32052591253/>
- Fig. 35 Cicle circadiari amb relació al cicle cel·lular de l'alga:
http://bioweb.uwlax.edu/bio203/f2013/eigner_rach/reproduction.htm
- Fig. 36 Reacció bioluminescent bàsica en la majoria de dinoflagel·lats luminescents:
Elaboració pròpia.
- Fig. 37 Canvis estructurals en la luciferina dels dinoflagel·lats durant la seva oxidació:
[https://www.maturitaetsarbeiten.ch/cms/images/2021/Kolja_Lehmann_final/Maturitatsarbeit_2021_fur_Impuls_\(Kolja_Lehmann\).pdf](https://www.maturitaetsarbeiten.ch/cms/images/2021/Kolja_Lehmann_final/Maturitatsarbeit_2021_fur_Impuls_(Kolja_Lehmann).pdf)
- Fig. 38 Representació esquemàtica d'una cèl·lula de l'alga, on es mostren els processos previs a la disminució del pH a l'interior de l'escintilió:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029497/>



- Fig. 39 Algues *Pyrocystis fusiformis* emetent llum:
<https://urbz.io/products/bioluminescent-plankton>
- Fig. 40 Efecte de l'alga *Pyrocystis fusiformis* en el mar:
<https://laderasur.com/articulo/bioluminiscencia-cuando-las-playas-se-iluminan-de-tonalidades-fluorescentes-durante-la-noche/>
- Fig. 41 Làmpades de cultiu:
Elaboració pròpia.
- Fig. 42 Temporitzadors elèctrics:
Elaboració pròpia.
- Fig. 43 Vuit recipients de 100 mL amb les caixes:
Elaboració pròpia.
- Fig. 44 Recipient d'1 L amb la solució d'algues:
Elaboració pròpia.
- Fig. 45 Solucions de l'alga *Pyrocystis fusiformis*:
Elaboració pròpia.
- Fig. 46 DinoNutrients:
Elaboració pròpia.
- Fig. 47 Blue Boost DinoNutrients:
Elaboració pròpia.
- Fig. 48 Material esterilitzat:
Elaboració pròpia.
- Fig. 49 Material esterilitzat:
Elaboració pròpia.
- Fig. 50 Làmpada de cultiu enganxada a la tapa:
Elaboració pròpia.
- Fig. 51 Peça impresa 3D que tapa el forat:
Elaboració pròpia.
- Fig. 52 Peça d'encendre i controlar la intensitat de llum:
Elaboració pròpia.
- Fig. 53 Soldadura entre els cables:
Elaboració pròpia.
- Fig. 54 Distribució dels diferents elements que han format part del medi de les algues:
Elaboració pròpia.



- Fig. 55 Esquema elèctric del circuit dels sensors de temperatura i humitat:
Elaboració pròpia mitjançant el programa Fritzing.
- Fig. 56 Circuit elèctric amb els sensors DHT11:
Elaboració pròpia.
- Fig. 57 Sensor DHT11:
Elaboració pròpia.
- Fig. 58 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la primera setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 59 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la primera setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 60 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la segona setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 61 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la segona setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 62 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la tercera setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 63 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la tercera setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 64 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 1 durant la quarta setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 65 Gràfic de temperatura i humitat a la caixa 2 durant la quarta setmana:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 66 Disseny de l'aparell de mesura:
Elaboració pròpia.
- Fig. 67 Disseny de la tapa de l'aparell de mesura:
Elaboració pròpia.
- Fig. 68 Esquema elèctric de l'aparell de mesura de llum de l'alga:
Elaboració pròpia mitjançant el programa Canva.
- Fig. 69 Aparell de recollida de dades de l'estudi de l'alga:
Elaboració pròpia.
- Fig. 70 Distribució dels sensors mesuradors de llum en l'aparell de mesura:
Elaboració pròpia.



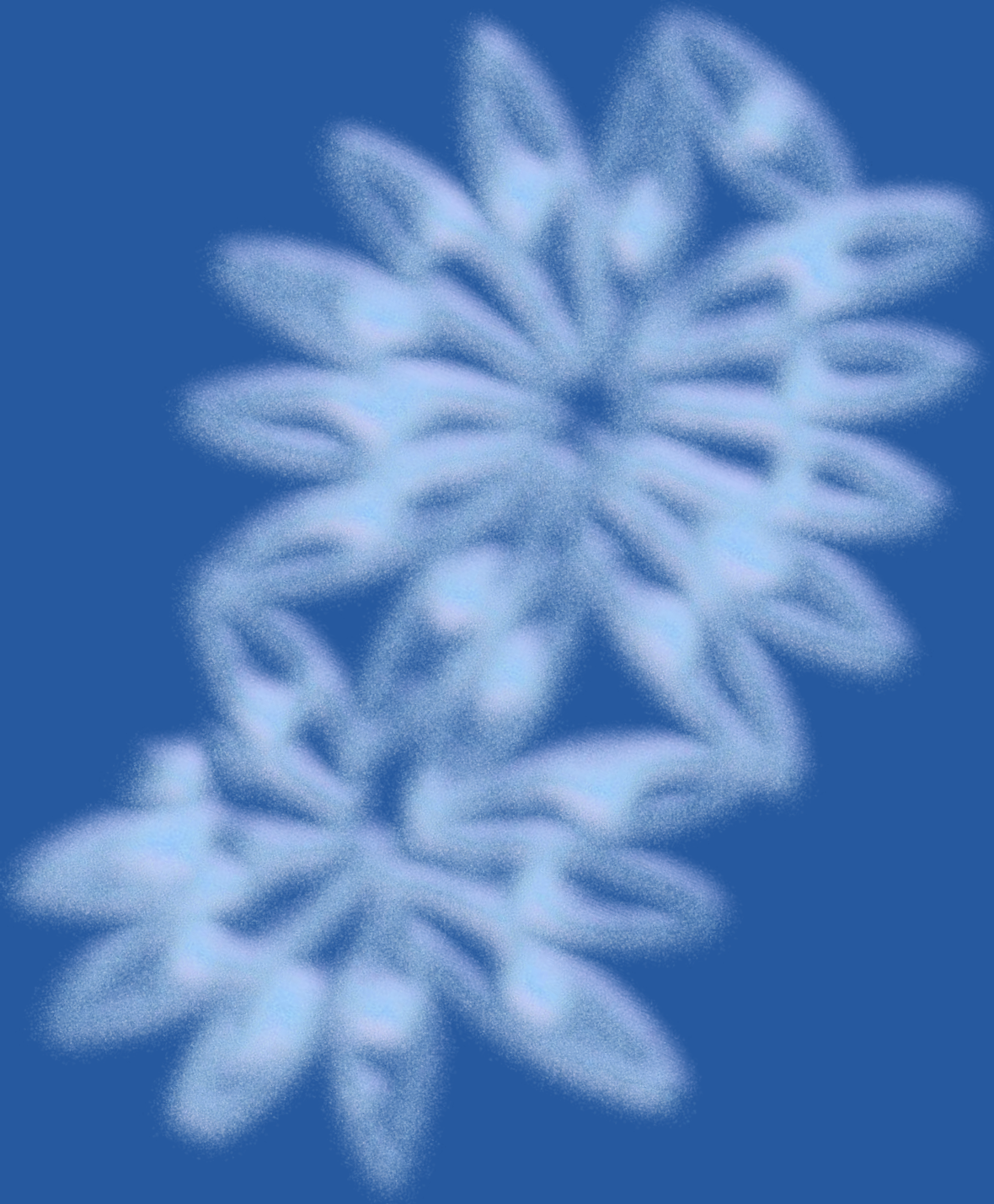
- Fig. 71 Posició del sensor de color en la tapa de l'aparell de mesura:
Elaboració pròpia.
- Fig. 72 Llum que emet una mostra de 50 mL de solució de l'alga *Pyrocystis fusiformis*:
Elaboració pròpia.
- Fig. 73 Esquema elèctric del circuit realitzat per establir una relació entre l'entrada analògica d'Arduino i la potència:
Elaboració pròpia mitjançant el programa Fritzing.
- Fig. 74 Circuit pensat per establir valors de potència als valors d'entrada analògica d'Arduino:
Elaboració pròpia.
- Fig. 75 Càlculs que executa el programa per tal d'associar valors de potència als valors d'entrada analògica d'Arduino:
Elaboració pròpia.
- Fig. 76 Gràfic de la relació entre els valors de potència i els valors d'entrada analògica d'Arduino:
Elaboració pròpia.
- Fig. 77 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 1:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 78 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 2:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 79 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 3:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 80 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 4:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 81 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 5:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 82 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 6:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 83 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 7:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 84 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR de la mostra 8:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.



- Fig. 85 Gràfic comparatiu dels valors obtinguts mitjançant els LDR de totes les mostres:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 86 Gràfic dels valors obtinguts mitjançant els LDR en la població d'algues de 400 mL:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 87 Gràfic dels valors obtinguts en l'estudi alternatiu amb el sensor de color:
Elaboració pròpia mitjançant Excel.
- Fig. 88 Alga *Pyrocystis fusiformis* observada al microscopi:
Elaboració pròpia.
- Fig. 89 Alga *Pyrocystis fusiformis* observada a 100X:
Elaboració pròpia.
- Fig. 90 Recipient rodó que conté les algues pensat perquè serveixi com a làmpada de llum ambient:
Elaboració pròpia.



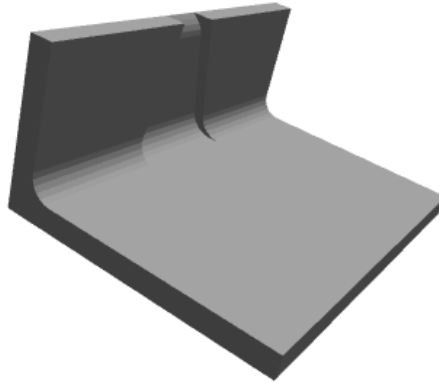
ANNEX



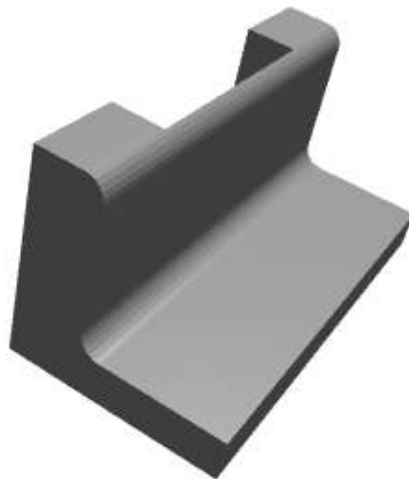
ÍNDEX

| | |
|---|----|
| ANNEX A. Dissenys 3D relacionats amb el medi de les algues | 2 |
| ANNEX B. Dissenys 3D relacionats amb l'aparell de mesura de dades | 4 |
| ANNEX C. Programa del control de temperatura i humitat | 5 |
| ANNEX D. Programa relació entrada analògica-potència | 8 |
| ANNEX E. Programa funcionament fotodíodes | 10 |
| ANNEX F. Programa funcionament luxòmetres | 13 |
| ANNEX G. Programa calibratge sensor de color | 15 |
| ANNEX H. Programa funcionament sensor de color | 17 |
| ANNEX I. Codis QR | 20 |

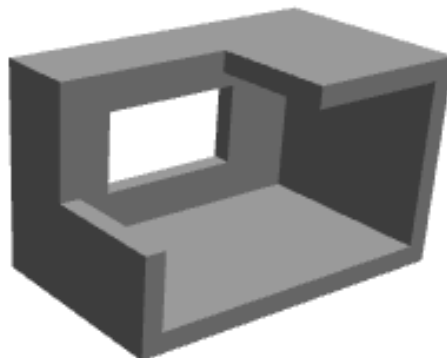
ANNEX A. DISSENYYS 3D RELACIONATS AMB EL MEDI DE LES ALGUES



**Fig. 1 Peça per tapar el forat per on passen els cables de les làmpades de cultiu (Fig. 51)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**

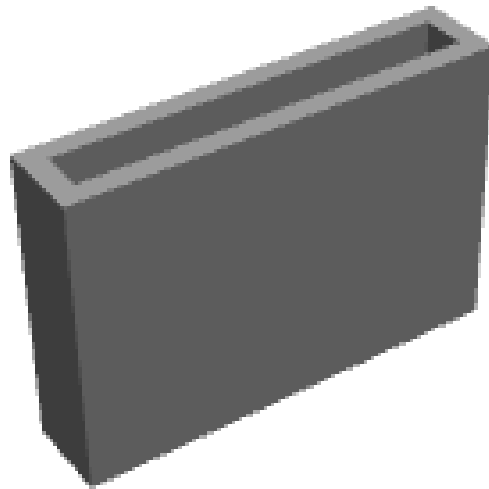


**Fig. 2 Suport per col·locar els sensors de temperatura i humitat a l'interior de les dues caixes (Fig. 57)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**

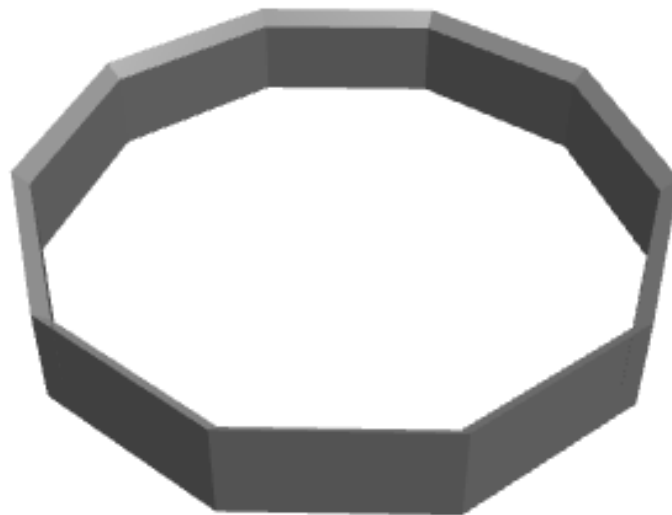


**Fig. 3 Suport interruptor de la pantalla LCD del circuit de control de temperatura i humitat (Fig. 56)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**





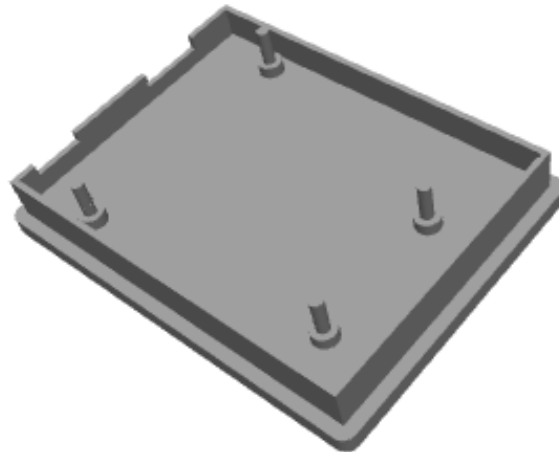
**Fig. 4 Compartiment per guardar la funda de la targeta micro SD
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**



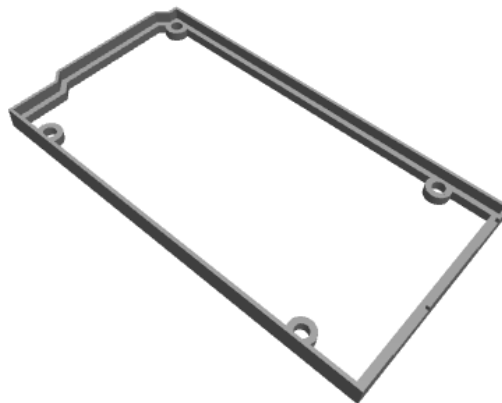
**Fig. 5 Peça de suport per estabilitzar els pots a l'interior de les caixes (Fig. 54)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**



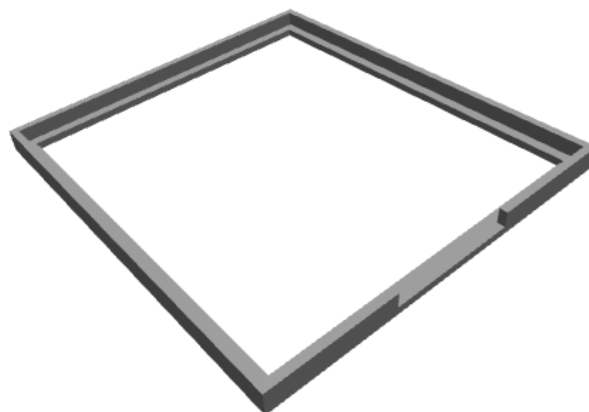
ANNEX B. DISSENYS 3D RELACIONATS AMB L'APARELL DE MESURA DE DADES



**Fig. 6 Peça per enganxar la placa Arduino UNO a la caixa del circuit dels sensors DHT11 (Fig. 56)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**



**Fig. 7 Peça per enganxar la placa Arduino Mega 2560 a la base de l'aparell de mesura de llum (Fig. 69)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**



**Fig. 8 Peça per enganxar el teclat a la base de l'aparell de mesura de llum (Fig. 69)
Font: Elaboració pròpia mitjançant Autodesk Inventor**



ANNEX C. PROGRAMA DEL CONTROL DE TEMPERATURA I HUMITAT

```
#include <SPI.h>
#include <SD.h>
#include <DHT.h>
#include <DHT_U.h>

#include <Wire.h>
#include <LCD.h>
#include <LiquidCrystal_I2C.h>

LiquidCrystal_I2C lcd (0x27, 2, 1, 0, 4, 5, 6, 7);

int polsador = 4;

#define s1 3
float t1;
float h1;
int T1;
int H1;

#define s2 5
float t2;
float h2;
int T2;
int H2;

#define SSpin 10

File arxiu;
DHT dht1(s1, DHT11);
DHT dht2(s2, DHT11);

void setup() {

  Serial.begin(9600);
  dht1.begin();
  dht2.begin();
  pinMode(polsador, INPUT_PULLUP);

  lcd.setBacklightPin(3, POSITIVE);
  lcd.setBacklight(HIGH);
  lcd.begin(16, 2);
  lcd.clear();
while (t1<10000){
  lcd.setCursor(1, 0);
  lcd.print(">Prem polsador");
  lcd.setCursor(1, 1);
  lcd.print("recollida dades");
  if (digitalRead(polsador) == LOW){
    lcd.clear();
    Serial.println("Inicialitzant tarjeta ...");
    lcd.setCursor(1, 0);
    lcd.print("Inicialitzant");
```



```
lcd.setCursor(4, 1);
lcd.print("targeta");
delay(3000);
lcd.clear();
if (!SD.begin(SSpin)) {
  Serial.println("Error en l'inicialitzacio !");
  lcd.setCursor(5, 0);
  lcd.print("Error");
  lcd.setCursor(1, 1);
  lcd.print("inicialitzacio");
  delay(3000);
  lcd.clear();
  return;
}
Serial.println("Inicialitzacio correcta");
lcd.setCursor(1, 0);
lcd.print("Inicialitzacio");
lcd.setCursor(4, 1);
lcd.print("correcta");
delay(3000);
lcd.clear();

arxiu = SD.open("dades.txt", FILE_WRITE);

if (arxiu) {

  arxiu.print("Sèrie");

  arxiu.print(",");
  arxiu.print("T1");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("T2");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("H1");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("H2");
  arxiu.println(",");

for (int i=1; i < 2000; i++){

  t1 = dht1.readTemperature();
  h1 = dht1.readHumidity();
  t2 = dht2.readTemperature();
  h2 = dht2.readHumidity();
  // Valors int
  T1 = dht1.readTemperature();
  H1 = dht1.readHumidity();
  T2 = dht2.readTemperature();
  H2 = dht2.readHumidity();

  arxiu.print(i);
  arxiu.print(",");
  arxiu.print(t1);

  arxiu.print(",");
  arxiu.print(t2);
  arxiu.print(",");
  arxiu.print(h1);
  arxiu.print(",");
  arxiu.print(h2);
  arxiu.println(",");
```




```
lcd.setCursor(0, 0);  
lcd.print("T1=");  
lcd.setCursor(3, 0);  
lcd.print(T1);  
lcd.setCursor(5, 0);  
lcd.print("*C");  
  
lcd.setCursor(9, 0);  
lcd.print("T2=");  
lcd.setCursor(12, 0);  
lcd.print(T2);  
lcd.setCursor(14, 0);  
lcd.print("*C");  
  
lcd.setCursor(0, 1);  
lcd.print("H1=");  
lcd.setCursor(3, 1);  
lcd.print(H1);  
lcd.setCursor(5, 1);  
lcd.print("%");  
  
lcd.clear();  
lcd.setCursor(3, 0);  
lcd.print("Escriptura");  
lcd.setCursor(4, 1);  
lcd.print("Correcta");  
} else {  
  Serial.println("Error en obertura de dades.txt");  
  lcd.setCursor(1, 0);  
  lcd.print("Error obertura");  
  lcd.setCursor(4, 1);  
  lcd.print("de dades");  
  delay(3000);  
}  
}  
}  
  
void loop() {  
  
}
```



ANNEX D. PROGRAMA RELACIÓ ENTRADA ANALÒGICA-POTÈNCIA

```
#include <SPI.h>
#include <SD.h>

#define SSpin 10

File arxiu;

void setup() {

  Serial.begin(9600);
  Serial.println("Inicialitzant targeta ...");
  if (!SD.begin(SSpin)) {
    Serial.println("Error en inicialització !");
    return;
  }

  Serial.println("Inicialització correcta");
  arxiu = SD.open("Dades.txt", FILE_WRITE);

  if (arxiu) {

    arxiu.print("Sèrie");
    arxiu.print(",");
    arxiu.print("Val_Pot");
    arxiu.print(",");
    arxiu.print("V_Pot");



---



    arxiu.print(",");
    arxiu.print("Val_LED");
    arxiu.print(",");
    arxiu.print("V_LED");
    arxiu.print(",");
    arxiu.print("V_Res");
    arxiu.print(",");
    arxiu.print("I(A)");
    arxiu.print(",");
    arxiu.print("P(W)");
    arxiu.println(",");

    for (int i=1; i < 500; i++){
      float Potenciometre_pin = 0;
      float Potenciometre_val = 0;
      float LED_pin = 1;
      float LED_val = 0;
      int val_res = 10;

      Potenciometre_val = analogRead(Potenciometre_pin);

      LED_val = analogRead(LED_pin);

      arxiu.print(i);
      arxiu.print(",");
      arxiu.print(Potenciometre_val);
```



```
    arxiu.print(",");
    arxiu.print((1023-Potenciometre_val)*5/1023);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LED_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LED_val*5/1023);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(5-((1023-Potenciometre_val)*5/1023)-(LED_val*5/1023));
    arxiu.print(",");
    arxiu.print((5-((1023-Potenciometre_val)*5/1023)-(LED_val*5/1023))/val_res);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(((5-((1023-Potenciometre_val)*5/1023)-(LED_val*5/1023))/val_res)*(LED_val*5/1023));
    arxiu.println(",");
    delay(1);
}

arxiu.close();
Serial.println("Escriptura correcta");
} else {
    Serial.println("Error en obertura de Dades.txt");
}

arxiu = SD.open("Dades.txt");
if (arxiu) {
    Serial.println("Contingut de Dades.txt:");
    while (arxiu.available()) {
        Serial.write(arxiu.read());
    }
}
```



ANNEX E. PROGRAMA FUNCIONAMENT FOTODÍODES

```
#include <SPI.h>
#include <SD.h>

#define SSpin 53

File arxiu;

int LDR1_pin = 0;
int LDR1_val = 0;
int LDR2_pin = 1;
int LDR2_val = 0;
int LDR3_pin = 3;
int LDR3_val = 0;
int LDR4_pin = 4;
int LDR4_val = 0;
int LDR5_pin = 6;
int LDR5_val = 0;
int LDR6_pin = 7;
int LDR6_val = 0;
int LDR7_pin = 8;
int LDR7_val = 0;
int LDR8_pin = 9;
int LDR8_val = 0;

int mitjana = 0;

#include <LiquidCrystal.h>

LiquidCrystal lcd(13, 12, 11, 10, 9, 8);

void setup() {

  lcd.clear();
  lcd.begin(16, 2);

  Serial.println("Inicialitzant tarjeta ...");
  lcd.setCursor(1, 0);
  lcd.print("Inicialitzant");
  lcd.setCursor(4, 1);
  lcd.print("targeta");
  delay(3000);
  lcd.clear();
  if (!SD.begin(SSpin)) {
    Serial.println("Error en l'inicialitzacio !");
    lcd.setCursor(5, 0);
    lcd.print("Error");
    lcd.setCursor(1, 1);
    lcd.print("inicialitzacio");
    delay(3000);
    lcd.clear();
    return;
  }
}
```



```
Serial.println("Inicialitzacio correcta");
lcd.setCursor(1, 0);
lcd.print("Inicialitzacio");
lcd.setCursor(4, 1);
lcd.print("correcta");
delay(3000);
lcd.clear();

arxiu = SD.open("dades.txt", FILE_WRITE);

if (arxiu) {

  arxiu.print("Sèrie");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_1");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_2");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_3");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_4");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_5");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_6");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_7");

  arxiu.print(",");
  arxiu.print("LDR_8");
  arxiu.print(",");
  arxiu.print("Mitjana");
  arxiu.println(",");

  for (int i=1; i < 121; i++){

LDR1_val = analogRead(LDR1_pin);
LDR2_val = analogRead(LDR2_pin);
LDR3_val = analogRead(LDR3_pin);
LDR4_val = analogRead(LDR4_pin);
LDR5_val = analogRead(LDR5_pin);
LDR6_val = analogRead(LDR6_pin);
LDR7_val = analogRead(LDR7_pin);
LDR8_val = analogRead(LDR8_pin);

lcd.setCursor(1, 0);
mitjana = (LDR1_val+LDR2_val+LDR3_val+LDR4_val+LDR5_val+LDR6_val+LDR7_val+LDR8_val)/8;
lcd.print("MIITJANA LDR:");
lcd.setCursor(6, 1);
lcd.print(mitjana);

arxiu.print(i);
arxiu.print(",");
```



```
    arxiu.print(LDR1_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR2_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR3_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR4_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR5_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR6_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR7_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(LDR8_val);
    arxiu.print(",");
    arxiu.print(mitjana);
    arxiu.println(",");

    delay(1000);

    lcd.clear();

}
    arxiu.close();

    Serial.println("Escriptura correcta");

    lcd.clear();
    lcd.setCursor(3, 0);
    lcd.print("Escriptura");
    lcd.setCursor(4, 1);
    lcd.print("Correcta");
} else {
    Serial.println("Error en obertura de dades.txt");
    lcd.setCursor(1, 0);
    lcd.print("Error obertura");
    lcd.setCursor(4, 1);
    lcd.print("de dades");
    delay(3000);
}
}

void loop() {

}
```



ANNEX F. PROGRAMA FUNCIONAMENT LUXÒMETRES

```
#include <Wire.h>

#define BH1750_POWER_DOWN 0x00
#define BH1750_POWER_ON 0x01
#define BH1750_RESET 0x07

#define CONTINUOUS_HIGH_RES_MODE 0x10
#define CONTINUOUS_HIGH_RES_MODE_2 0x11
#define CONTINUOUS_LOW_RES_MODE 0x13
#define ONE_TIME_HIGH_RES_MODE 0x20
#define ONE_TIME_HIGH_RES_MODE_2 0x21
#define ONE_TIME_LOW_RES_MODE 0x23

#define BH1750_1_ADDRESS 0x23
#define BH1750_2_ADDRESS 0x5C

#define LED_PIN 13

int16_t s_en = 4;
int16_t s0 = 5;
int16_t s1 = 6;
int16_t s2 = 7;

int16_t RawData;
int16_t SensorValue[4];

boolean blinkState = false;

void setup() {
  Wire.begin();
  Serial.begin(115200);

  Serial.print("LUX1");
  Serial.print(",");
  Serial.print("LUX2");
  Serial.print(",");
  Serial.print("LUX3");
  Serial.print(",");
  Serial.println("LUX4");

  pinMode(s_en, OUTPUT);
  pinMode(s0, OUTPUT);
  pinMode(s1, OUTPUT);
  pinMode(s2, OUTPUT);

  digitalWrite(s_en, HIGH);
  digitalWrite(s0, HIGH);
  digitalWrite(s1, HIGH);
  digitalWrite(s2, HIGH);

  int casa=1;
  pinMode(LED_PIN, OUTPUT);
  digitalWrite(LED_PIN, HIGH);
}
```



```
void loop() {

    digitalWrite(s_en, LOW);

    for(int i = 0; i < 4; i++){
        readMux(i);

        init_BH1750(BH1750_1_ADDRESS, CONTINUOUS_HIGH_RES_MODE);
        delay(120);
        RawData_BH1750(BH1750_1_ADDRESS);
        SensorValue[i] = RawData / 1.2;
        delay(20);
    }

    Serial.print(SensorValue[0]);
    Serial.print(",");
    Serial.print(SensorValue[1]);
    Serial.print(",");
    Serial.print(SensorValue[2]);
    Serial.print(",");
    Serial.println(SensorValue[3]);

    blinkState = !blinkState;
    digitalWrite(LED_PIN, blinkState);
    delay(1000);
}

void init_BH1750(int ADDRESS, int MODE){
    //BH1750 Initializing & Reset
    Wire.beginTransmission(ADDRESS);
    Wire.write(MODE);
    Wire.endTransmission(true);
}

void RawData_BH1750(int ADDRESS){
    Wire.beginTransmission(ADDRESS);
    Wire.requestFrom(ADDRESS, 2, true);
    RawData = Wire.read() << 8 | Wire.read();
    Wire.endTransmission(true);
}

int readMux(int channel) {
    int controlPin[] = {s0, s1, s2};
    int muxChannel[8][3] = {
        {0,0,0},
        {1,0,0},
        {0,1,0},
        {1,1,0},
        {0,0,1},
        {1,0,1},
        {0,1,1},
        {1,1,1},
    };
    for(int i = 0; i < 3; i++){
        digitalWrite(controlPin[i], muxChannel[channel][i]);
    }
}
```



ANNEX G. PROGRAMA CALIBRATGE SENSOR DE COLOR

```
#define S0 41
#define S1 42
#define S2 43
#define S3 44
#define sensorOut 45

int redPW = 0;
int greenPW = 0;
int bluePW = 0;

void setup() {

  pinMode(S0, OUTPUT);
  pinMode(S1, OUTPUT);
  pinMode(S2, OUTPUT);
  pinMode(S3, OUTPUT);

  pinMode(sensorOut, INPUT);

  digitalWrite(S0,HIGH);
  digitalWrite(S1,LOW);

  Serial.begin(115200);
}

void loop() {

  redPW = getRedPW();

  delay(200);

  greenPW = getGreenPW();

  delay(200);

  bluePW = getBluePW();

  delay(200);

  Serial.print("Red PW = ");
  Serial.print(redPW);
  Serial.print(" - Green PW = ");
  Serial.print(greenPW);
  Serial.print(" - Blue PW = ");
  Serial.println(bluePW);

}

int getRedPW() {
```



```
digitalWrite(S2,LOW);
digitalWrite(S3,LOW);

int PW;

PW = pulseIn(sensorOut, LOW);

return PW;
}

int getGreenPW() {

digitalWrite(S2,HIGH);
digitalWrite(S3,HIGH);

int PW;

PW = pulseIn(sensorOut, LOW);

return PW;
}

int getBluePW() {

digitalWrite(S2,LOW);
digitalWrite(S3,HIGH);
+
int PW;

PW = pulseIn(sensorOut, LOW);

return PW;
}
```



ANNEX H. PROGRAMA FUNCIONAMENT SENSOR DE COLOR

```
#define S0 41
#define S1 42
#define S2 43
#define S3 44
#define sensorOut 45

int redMin = 85;
int redMax = 247;
int greenMin = 101;
int greenMax = 286;
int blueMin = 24;
int blueMax = 77;

int redPW = 0;
int greenPW = 0;
int bluePW = 0;

int redValue;
int greenValue;
int blueValue;

void setup() {

  pinMode(S0, OUTPUT);
  pinMode(S1, OUTPUT);
  pinMode(S2, OUTPUT);
  pinMode(S3, OUTPUT);

  pinMode(sensorOut, INPUT);

  digitalWrite(S0,HIGH);
  digitalWrite(S1,LOW);

  Serial.begin(115200);

  Serial.print("Red");
  Serial.print(",");
  Serial.print("Green");
  Serial.print(",");
  Serial.println("Blue");
}

void loop() {

  redPW = getRedPW();

  redValue = map(redPW, redMin, redMax, 255, 0);

  delay(200);

  greenPW = getGreenPW();
  pinMode(S3, OUTPUT);

  pinMode(sensorOut, INPUT);

  digitalWrite(S0,HIGH);
  digitalWrite(S1,LOW);

  Serial.begin(115200);
```



```
    Serial.print("Red");
    Serial.print(",");
    Serial.print("Green");
    Serial.print(",");
    Serial.println("Blue");
}

void loop() {

    redPW = getRedPW();

    redValue = map(redPW, redMin, redMax, 255, 0);

    delay(200);

    greenPW = getGreenPW();
    greenValue = map(greenPW, greenMin, greenMax, 255, 0);

    delay(200);

    bluePW = getBluePW();

    blueValue = map(bluePW, blueMin, blueMax, 255, 0);

    delay(200);

    Serial.print(redValue);
    Serial.print(",");
    Serial.print(greenValue);
    Serial.print(",");
    Serial.println(blueValue);
}

int getRedPW() {

    digitalWrite(S2, LOW);
    digitalWrite(S3, LOW);

    int PW;

    PW = pulseIn(sensorOut, LOW);

    PW = pulseIn(sensorOut, LOW);

    return PW;
}
```



ANNEX I. CODIS QR

En aquest apartat proporciono dos codis QR, que dirigeixen, el primer cap a una carpeta on s'hi troben tots els documents d'excel utilitzats (amb les dades recollides i els seus gràfics corresponents), i el segon cap a una carpeta que conté tots els dissenys d'impressió 3D elaborats en el marc pràctic en format perquè es pugui descarregar i editar.



Fig. 9 Enllaç per tenir accés als documents Excel utilitzats



Fig. 10 Enllaç per tenir accés als dissenys 3D

