



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Cultivo de Arthrospira

REPORTE DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

LAURA JIMENA GUTIÉRREZ RAMÍREZ

TUTOR

Dr. Eberto Novelo Maldonado

2009





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno
Gutiérrez
Ramírez
Laura Jimena
56 30 04 39
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de ciencias
Biología
300203956
2. Datos del tutor
Dr.
Eberto
Novelo
Maldonado
3. Datos del Sinodal 1
Dra.
Rosa Luz
Tavera Sierra
4. Datos del Sinodal 2
M en C.
Guadalupe
Vidal
Gaona
5. Datos del Sinodal 3
Biól.
Laura Patricia
Olguín
Santos
6. Datos del Sinodal 4
Biól.
Rocío Marisol
Alanís
Anaya
7. Datos del trabajo escrito.
Cultivos de Arthrospira
41 p
2009

**“INVESTIGAR UN PROBLEMA
ES COMENZAR A RESOLVERLO”**

Mao Tse Dong

Para mi familia que es lo más valioso en mi vida...

A mi papa...

Gracias por cuidarme y quererme tanto, por enseñarme a vivir y ayudarme a avanzar.

A mi mama...

Gracias por todo lo que haces por mí, por tu cariño y paciencia por ayudarme tanto.

A mi hermano...

Gracias por tu amistad, tus consejos, tu cariño, tu cuidado y tu paciencia, sin ti la vida no sería igual.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eberto Novelo, por el apoyo, confianza, paciencia, disposición y buen ánimo. Trabajar a tu lado es un gran estímulo.

A la M. en C. Guadalupe Vidal por tu gran apoyo e infinita paciencia, por enseñarme a trabajar en un laboratorio.

A la Dra. Rosa Luz Tavera por su confianza y valiosos comentarios para mejorar este trabajo.

A la Bióloga Patricia Olguín por sus revisiones tan cuidadosas y por el tiempo dedicado.

A la Bióloga Roció Alanís por su amistad, consejos y la ayuda brindada para concluir este trabajo.

A mis compañeros de Laboratorio, Eva, Clau, Citla, Jorgue, Leonor, Monx, Felipe y Martita por sus sugerencias, apoyo y por hacer más agradables las horas de trabajo.

A mis amigos de la facultad Gerardo, Toño, Alaide, Sara, Gaby, Vero, Ever, Bob, Juanpi, Mayra, Juan, Ale, Diana, David, Lucero por su compañía, apoyo y cariño gracias por sus sonrisas.

A Eri por ayudarme a encontrar un lugar donde desarrollarme, por su amistad, paciencia, por sus consejos y por estar cerca.

A Denisse, Yuri, Grisel, Geno y Rolando por darme la receta para una vida sana.

A Fernando por todos estos años de amor y amistad que hemos compartido, por todos, los libros, la música, las películas, paseos y largas pláticas por el apoyo, los consejos, la paciencia y el cariño que me has brindado.

A mis abuelos, tíos y primos por su cariño y solidaridad.

A todas las personas que no mencione pero que son parte de mi vida y me han hecho más placentera la existencia.

ÍNDICE.

INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	5
Morfología	5
Ultraestructura	5
Ocurrencia y distribución	5
Bioteología de algas	6
Importancia de <i>Arthrospira</i>	7
Sistemática	7
Historia del consumo de <i>Arthrospira</i>	8
Sistemas de cultivo de <i>Arthrospira</i>	9
Componentes de los sistemas de cultivo de <i>Arthrospira</i>	10
Historia de los cultivos masivos de <i>Arthrospira</i>	12
OBJETIVOS	16
MATERIAL Y MÉTODOS	17
RESULTADOS	22
DISCUSIÓN	28
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFIA	31
ANEXO 1	34
ANEXO 2	39

INTRODUCCIÓN.

El alga *Arthrospira*, mejor conocida bajo la denominación comercial de *Spirulina*, es el microorganismo fotosintético cultivado industrialmente más importante, esto debido al valor nutricional de su biomasa (Tomaselli *et al.* 1996) y su facilidad para crecer (Benemann 1985). Es una microalga verde-azul, filamentosa, en forma helicoidal, multicelular, que lleva a cabo la división celular por fisión binaria (Chamorro *et al.* 2002).

Las especies de *Arthrospira*, han sido aisladas, principalmente de aguas alcalinas, saladas y salobres de regiones tropicales y semitropicales (Vonshak y Tomaselli 2000).

Arthrospira tiene una larga historia de consumo humano en México y en África (Ciferri 1983) Alrededor del año 1300 d.C. Los aztecas cosechaban *Arthrospira* en el Lago de Texcoco, Estado de México (Abdulqader *et al.* 2000). En el mismo periodo o incluso antes en el Lago Chad, esta alga, era utilizada de una manera similar (Abdulqader *et al.* 2000)

En 1962 el doctor Clement junto con el Instituto Francés del Petróleo (IFP) relacionaron el consumo de *Spirulina* con la buena salud de la que gozaba las personas de la tribu Kanebu que viven a la orilla del Lago Chad en África (Srivastava 2007). El IFP se interesó en esta alga e iniciaron los primeros trabajos sobre los crecimientos de *Arthrospira* en el Lago de Texcoco. Así volvió a centrarse la atención sobre este microorganismo y se realizó el primer estudio sistemático y detallado de la fisiología y los requerimientos de crecimiento que sentó las bases para instalar las primeras plantas de producción a gran escala de *Spirulina* (Vonshak 1997b).

Actualmente se cultiva en algunos países como alimento para consumo humano y animal, así como para la obtención de aditivos utilizados en la industria farmacéutica y de nutrimentos. Esta alga es fuente rica en proteínas, vitaminas, aminoácidos, minerales y otros nutrientes, por lo que su principal uso es como suplemento alimenticio. Sin embargo, en los últimos años se le han atribuido diversas propiedades farmacológicas (Chamorro *et al.* 2002). Diversos estudios evidencian que su aplicación terapéutica potencial es preponderante en las áreas de: inmunomodulación, anticancerígenas, antivirales y reducción de colesterol (Belay 2002).

Estudios a corto, mediano y largo plazo en animales de laboratorio han demostrado que la *Spirulina* no produce efectos indeseables, lo que representa una ventaja en relación a otras algas, que han ocasionado toxicidad y muerte principalmente por la presencia de hepato y neurotoxinas (Chamorro *et al.* 2002).

De acuerdo con la FAO del 30 al 50% de la población mundial se encuentra desnutrida. La pobreza alimentaria es uno de los principales problemas que padecen los países en desarrollo, muchas familias no tienen el suficiente ingreso para alimentarse adecuadamente, lo cual evidentemente repercute en el desarrollo de los individuos, las familias y la

sociedad (Rangel 2009). En países en desarrollo, la desnutrición representa un grave problema por lo que la producción de fuentes alternativas de alimento, de alta calidad, es de suma importancia (Ramírez-Moreno y Olvera Ramírez 2006). La diversificación de los alimentos es un elemento importante de la seguridad alimentaria, aunque esto no impide que se deba conceder prioridad al aumento de las posibilidades de obtener fuentes baratas de energía a través de los ingresos para quienes sufren desnutrición (Martínez y Villezca 2003).

Para mitigar este problema se exploran nuevas fuentes de proteínas, entre ellas, destaca *Arthrospira* debido a que es una fuente alta de proteínas y otros nutrientes esenciales (Srivastava, 2007).

Por lo anterior, esta investigación se plantea la instalación de cultivo de *Arthrospira maxima* utilizando tecnología rural, para ello se realizaron varias actividades tales como la recolección de muestras en el lago de Texcoco, Estado de México, el aislamiento y siembra de filamentos de *A. maxima* para obtener cultivos monoalgales, la evaluación del crecimiento de los cultivos en diferentes medios de cultivo utilizados y la obtención de la relación costo-beneficio entre la tasa de crecimiento y el precio de los medios.

ANTECEDENTES

Morfología

La principal característica morfológica de *Arthrospira* es el patrón del arreglo de sus tricomas cilíndricos multicelulares en hélice abierta. Los tricomas están compuestos de células cilíndricas que experimentan fisión binaria en un solo plano, perpendicular al eje principal. La elongación (multiplicación) del tricoma ocurre a través de múltiples divisiones celulares intercalares a lo largo de todo el filamento, la multiplicación ocurre solo por fragmentación y es intracelular, involucrando la destrucción de la célula intercalar (Vonshak y Tomaselli 2000).

El diámetro de las células varía desde 1 hasta 3 μm en las especies más pequeñas y de 3 a 12 μm en las especies más grandes (Ciferri 1983).

La inclinación de una vuelta de la hélice se encuentra en el intervalo de 10 a 70 μm y su diámetro oscila de 20 a 100 μm , estos dos intervalos que definen la arquitectura de la hélice son altamente dependientes de las condiciones ambientales y de crecimiento (Vonshak y Tomaselli 2000).

Ultraestructura

La organización celular de *Arthrospira* es la típica de los procariontes (Eykelburg 1979). La pared celular es gram-negativa y está rodeada por un polisacárido mucilaginoso difluente que la envuelve, se caracteriza por tener una fila de poros alrededor del tricoma (Vonshak y Tomaselli 2000).

La pared celular delgada tiene cuatro capas, una de ellas electro-densa, fácilmente detectable, bajo el microscopio óptico, que corresponde a la capa de peptidoglicanos (Eykelburg 1979). Esta es la capa que le proporciona rigidez (Ciferri 1983).

Las membranas tilacoidales están arregladas en paquetes paralelos en adición a los carboxisomas, ribosomas y fibras de DNA, otras inclusiones celulares primordiales son: aerotopos, gránulos de poliglucano, gránulos de polifosfato y los grandes gránulos de cianoficina (Vonshak y Tomaselli 2000).

En estos microorganismos la clorofila *a*, carotenoides y los ficobilisomas que contienen ficocianina están localizados en el sistema de tilacoides o lamelas fotosintéticas.

Ocurrencia y distribución

La mayoría de las especies de *Arthrospira* han sido aisladas de aguas alcalinas donde forman crecimientos masivos. Se han descrito algunas especies del género *Arthrospira* como cosmopolitas. Algunas especies se han registrado en aguas dulces pero sin esa

predominancia. Otras especies, aún más restringidas, se han reportado en ríos, (*A. okensis*) manantiales (*A. massartii*) y estanques (*A. spirulinoides*, *A. gomontiana* y *A. tenuis*). Se considera a las especies *A. platensis* y *A. jenneri* típicas de ambientes salinos tropicales (Vonshak y Tomaselli 2000).

De las cerca de 10 especies registradas del género *Arthrospira* (Vonshak y Tomaselli 2000) sólo *Arthrospira máxima* y *Arthrospira platensis* se han registradas como benéficas para la salud (Vonshak 1997a).

La abundante ocurrencia de las especies *A. platensis* y *A. maxima* en aguas salinas, alcalinas, tropicales y subtropicales han permitido reconocer estos ambientes como típicos del género (Vonshak y Tomaselli 2000).

Mientras que *A. platensis* se encuentra mas ampliamente distribuida en África, Asia y el sur de América, *A. maxima* parece estar confinada en América central, esta especie representa el principal componente fitoplanctónico del Lago de Texcoco, Edo. Mex. (Tomaselli 1997).

Biotechnología de algas

A pesar de que las microalgas se han utilizado desde la antigüedad, principalmente como fuente de alimento, el interés que se ha despertado en su estudio es reciente, a partir de los años 50 es que se empieza con el desarrollo de medios de cultivo para su propagación, así como las metodologías para su cosecha, dando origen a la biotecnología algal (Arredondo y Vázquez 1991).

A grandes rasgos la biotecnología consiste en hacer que los organismos “trabajen” en nuestro beneficio mediante un conjunto de técnicas que, combinadas con nuestro conocimiento de la biología de los seres vivos, orienta la vida de éstos hacia procesos de interés económico-social para la humanidad (Álvarez y Gallardo 1989).

Algunas ventajas del cultivo de microalgas son según Vonshak (1997a):

- 1.- Se consideran sistemas biológicos muy eficientes cosechando la energía solar para la producción de componentes orgánicos a través de la fotosíntesis.
- 2.- Pueden ser inducidas para producir altas concentraciones de algún compuesto de valor comercial específico, como proteínas, carbohidratos, lípidos o pigmentos.
- 3.- Crecen bajo un ciclo de vida simple, en la mayoría de los casos sin ningún tipo de estadio sexual, permitiéndoles completar su ciclo de vida en unas cuantas horas.
- 4.- Para muchas regiones que sufren una baja productividad debido a suelos pobres o falta de agua dulce, el cultivo de microalgas, que pueden crecer usando agua marina o salobre y

sobre tierras pobres, probablemente son la única manera de incrementar la productividad y asegurar una reserva de proteínas.

Importancia de *Arthrospira*

El valor de *Arthrospira* (como *Spirulina*) radica precisamente en la gran variedad de macro y micronutrientes que contiene, algunos de los cuales no pueden ser sintetizados por el organismo humano (Ramírez-Moreno y Olvera -Ramírez 2006).

La biomasa de esta cianoprokarionta tiene un alto contenido proteico (alrededor del 70% de peso seco), desde un punto de vista dietético, ofrece diferentes ventajas, entre las que se encuentra la presencia de la mayor parte de los aminoácidos recomendados por la FAO, buena digestibilidad y bajo contenido de ácidos nucleicos (menor al 5% de peso seco) (Sánchez *et al.* 2003). Debido a su alto contenido proteico y su fácil asimilación, se utiliza en dietas de niños y adultos desnutridos y/o anémicos, así como en deportistas para mejorar su desempeño (Srivastava 2007).

Se le considera un alimento excelente, exento de toxicidad y poseedor de propiedades correctoras de ataques virales, anemia, crecimiento tumoral y malnutrición. Conlleva al realce de la coloración de piel y yema de huevos, en gallináceos y flamencos; aceleración de crecimiento, maduración sexual y aumento de fertilidad en bovinos (Sánchez *et al.* 2003)

Además posee varios metabolitos que son de gran interés biotecnológico como los carotenoides en particular el *b*-caroteno, las ficobiliproteínas, los exopolisacáridos (EPS), lípidos, proteínas, vitaminas y minerales (Ramírez-Moreno y Olvera -Ramírez 2006). Entre estos componentes, destaca la presencia del ácido graso poli insaturado ω -linoleico, el cual posee efectos benéficos para la salud. (Muhling *et al.* 2005).

Sistemática

Desde la revisión de Geitler (1925-1932 cit. por Tomasselli *et al.* 1996) en la que unificó los géneros de *Spirulina* y *Arthrospira* bajo el nombre de *Spirulina*, el término *Spirulina* ha sido ampliamente utilizado para referirse indistintamente a los géneros de *Arthrospira* Stinzemberg 1852 y *Spirulina* Turpin 1982. La posición sistemática de los géneros *Spirulina* y *Arthrospira* dentro del grupo de las cianobacterias fue establecida definitivamente por Castenholz en 1989 (Tomasselli *et al.* 1996).

Arthrospira puede diferenciarse de *Spirulina*, entre otros rasgos, por el grado de inclinación de la vuelta de la hélice del tricoma, el cual forma un ángulo $>45^\circ$ del eje transversal, la presencia de septos fácilmente visibles y la distribución de los poros unidos en una hilera circular alrededor de las paredes cruzadas (Vonshak y Tomasselli 2000). Otra característica

es que a diferencia de *Spirulina*, *Arthrospira* contienen el ácido graso insaturado - linoleico (GLA) (Vonshak y Tomaselli 2000).

El uso incorrecto de los nombres de *Arthrospira* no sólo es un error de nomenclatura sino que tiene consecuencias negativas tales como que algunos laboratorios y granjas de cultivo al aire libre utilizan, para la producción de alimento, especies del género *Spirulina*, bajo el falso supuesto de que poseen las mismas propiedades bioquímicas, nutricionales y la seguridad toxicológica de las especies comestibles de *Arthrospira*. Sin un conocimiento ampliamente aceptado y difundido de que *Arthrospira* y *Spirulina* son muy diferentes, existirá el riesgo de un intercambio injustificado de propiedades entre especies. Komárek propuso que en publicaciones científicas y en libros deberá ser usada la adecuada designación genérica para evitar tratar con *Arthrospira* y llamarle *Spirulina*, en los casos de productos comerciales o formulaciones, el nombre común *Spirulina* podría ser usado siempre y cuando se brinde el nombre científico correcto del organismo cultivado y si es posible su origen (Tomaselli *et al.* 1996).

Historia del consumo de *Arthrospira*

El consumo de *Arthrospira* en el Lago Chad fue reportado por primera vez en 1940 por Dangeard en la poco conocida revista de la sociedad Linneana de Bordeaux (Abdulqader *et al.* 2000) como un material llamado Dihé, el cual era consumido por la población nativa. Concluyó que se trataba de un puré de algas verde azuladas con filamentos espiralados. Veinticinco años después un botánico llamado J. Leonard, redescubrió el Dihé y confirmó que estaba compuesto casi exclusivamente de las matas secas de *A. platensis* (como *Spirulina platensis*) colectada de los lagos alcalinos del subdesierto de Kanem (Ciferri 1983).

Alrededor de 1962, el doctor G. Clement del Instituto Francés del Petróleo (IFP) notó que las personas Kanebu que viven en las orillas del Lago Chad en África gozaban de una buena salud y de una vida larga. Mientras estudiaba sus hábitos alimenticios, se dio cuenta que estas personas colectaban el alga verde azulada que flotaba en la superficie del Lago y con ella hacían varias preparaciones (Srivastava 2007).

Fue el IFP el primero en interesarse en esta nueva fuente de proteínas. En 1963 decidió experimentar su cultivo en un medio sintético, estudiando nuevos métodos de cultivo y cosecha, efectuando además el análisis completo para determinar sus propiedades alimenticias. Simultáneamente el grupo francés comenzó a investigar otras especies de *Arthrospira* (como *Spirulina*) que crecía abundantemente en el Lago de Texcoco (Sánchez *et al.* 2003).

Sin embargo, no hay ninguna evidencia de que *Arthrospira* (como *Spirulina*) fuera cosechada, secada y vendida para su consumo en México en épocas recientes (Ciferri

1983). Afortunadamente, se dispone, de varias descripciones, de lo que era México antes de la conquista (Paniagua-Michel, *et al.* 2004). En estos textos se menciona una especie de vegetación que se formaba en la superficie del Lago de Texcoco y que los aztecas hacían recoger y secar para consumirla como alimento, al que llamaban Tecuitlatl (Godínez *et al.* 2001). El Tecuitlatl era un alimento muy popular consumido en abundancia por los aztecas (Paniagua-Michel, *et al.* 1993) pero nunca más fue mencionado, debido a que la práctica de consumirlo desapareció rápidamente después de la conquista (Ciferri 1983).

El redescubrimiento de *Arthrospira* (como *Spirulina*) por Leonard y Compère en los años 60's permitió el comienzo de su producción masiva para fines comerciales a finales de los 70. Desde entonces, varios productores han tenido éxito en los cultivos abiertos de *Arthrospira* (como *Spirulina*). Sin embargo su producción masiva requiere de técnicas especiales y prácticas de control para resolver problemas que están asociados con los cultivos abiertos bajo la condición del reciclado del agua del cultivo (Shimamatsu 2004).

Sistemas de cultivo de *Arthrospira*

Los cultivos de microalgas a escala comercial generalmente requieren la habilidad de producir toneladas de biomasa algal al menor costo posible. Para esto se necesitan cultivos que van desde 10,000 hasta 1, 000,000 de litros por lo que la mayor parte de estos cultivos son al aire libre (Borowitzka 2005).

Los cultivos masivos pueden ser abiertos o cerrados, los primeros son los más abundantes y antiguos (Álvarez y Gallardo 1989).

Los sistemas cerrados permiten una iluminación uniforme, obtención de altas concentraciones de biomasa, esterilización efectiva del reactor, bajos niveles de contaminación, fácil monitoreo y control de parámetros operacionales (Torzillo 1997). Sin embargo estos sistemas son muy costosos y presentan dificultades para el escalamiento del cultivo, además utilizan iluminación artificial que eleva los costos, en cambio en los sistemas al aire libre se utiliza luz solar, sin embargo, sólo un pequeño número de especies de algas pueden crecer exitosamente en este tipo de sistemas (Borowitzka 1999) .

Arthrospira es una candidata destacada para cultivarla al aire libre, debido a que son termófilas (35-37°C) y alcalófilas (pH = 10); propiedades que facilitan el mantenimiento de cultivos monoalgales (Cohen 1997).

Con la finalidad de mejorar la productividad fotosintética, se deben cumplir ciertas condiciones y deben ser tomadas algunas precauciones. Estas condiciones incluyen la presencia de nutrientes, la agitación cuidadosa de los estanques de cultivo, regulación de el oxígeno, los niveles de pH y la temperatura (Carlozzi y Pinzani 2004).

Los sistemas de producción de *Spirulina* pueden ser divididos en 4 fases: cultivo, cosecha, secado y empaquetado. Cada uno de estos pasos son determinantes en la obtención de productos de alta calidad (Belay 1997).

Al elegir un sistema de cultivo deben ser tomados en cuenta diferentes factores, como la biología del alga, el costo de la tierra, el pago de los trabajadores, energía, la disponibilidad de agua, los nutrientes, el clima y el tipo de producto final que se desea obtener. La elección final del sistema de cultivo es un compromiso entre todas estas consideraciones para obtener ganancias razonables (Borowitzka 1999).

Componentes de los sistemas de cultivos abiertos de *Arthrospira*

Estanque.

El estanque puede ser un canal abierto de forma rectangular con una rueda de paletas que genere un flujo circulatorio, este sistema permite una velocidad de flujo y agitación uniformes en todo el estanque, liberándolo de algún punto de estancamiento (Shimamatsu 2004).

El nivel de agua debe estar alrededor de los 15-18 cm de profundidad. La relación entre lo largo y lo ancho del estanque deben tener una proporción de 4:1 (Srivastava 2007).

La agitación es esencial para asegurar la distribución de luz y nutrientes, en toda la columna de agua y a todos los filamentos, debe realizarse de 2 a 3 veces por día durante 20 minutos (Srivastava 2007). Una agitación violenta o muy rápida daña los tricomas, los fragmenta y favorece la aparición de espuma (Antenna 2005).

Incrementar la velocidad de la agitación a más de 30 cm/s por segundo conduce al decremento en la eficiencia de la cosecha y reduce los rendimientos debido a que una deposición excesiva de detritus tiene efectos indeseables en el cultivo como la atenuación de la luz en caso de resuspensión. Debido a la evaporación se pierde una gran cantidad de agua, lo que ocasiona un déficit, el cual debe ser remplazado a diario con agua fresca. Esto se manifiesta a través de la disminución en el nivel de los estanques (Belay 1997)

La producción masiva de *Arthrospira* en estanques al aire libre, presenta el desafío de mantener cultivos puros por un periodo largo sin ninguna contaminación causada por otros organismos. La dilución del medio de cultivo debido a las lluvias facilita el crecimiento de organismos desfavorables incluyendo las bacterias. El reto es restaurar su concentración original preferentemente en el mismo día (Shimamatsu 2004).

Temperatura

La temperatura del medio de cultivo influye directamente sobre la rapidez de crecimiento de *Arthrospira*, si bien es bastante resistente al frío, no crecerá de manera considerable por debajo de los 20 °C. El cultivo corre el riesgo de ser destruido si la temperatura es mayor a los 43 °C, por otro lado, cambios bruscos de temperaturas tienen consecuencias muy desfavorables (Antenna 2005). La temperatura ideal para un crecimiento óptimo se encuentra entre los 30 y los 40 °C (Srivastava 2007).

Luz

La luz solar deberá ser abundante con fotoperiodos de 10 a 12 horas por día. La intensidad de la luz debe estar alrededor de los 420-670 μ E (equivalente a 20-30 Klux) (Srivastava 2007).

pH

El pH del medio es uno de los factores más importantes en el cultivo de *Arthrospira*, es obligatorio mantener un pH arriba de 9.5, para evitar la contaminación con otras algas. Un pH arriba de 10.5 ocasiona una precipitación de carbonato de calcio, la cual comúnmente es seguida de floculación y sedimentación del alga. Una deposición excesiva de este detritus contribuye a la atenuación de la luz, ya que al agitar estos detritus se resuspenden (Belay 1997).

Salinidad

Algunos estudios han permitido establecer una correlación directa entre la densidad de la biomasa de *Arthrospira* y la salinidad del agua. Los crecimientos masivos se dan a niveles de salinidad de 22 a 60 gL⁻¹. Sin embargo, se han reportado crecimientos en un intervalo que va desde los 8.5 hasta los 200 gL⁻¹ (Vonshak y Tomaselli 2000).

Cosecha

La concentración de un cultivo nos indica el momento adecuado de la cosecha. Esta puede ser evaluada por la intensidad de su color y para medirla se utiliza un disco de Secchi, el cual se introduce en los estanques de cultivo, si este deja de ser visible a los 5 o 6 cm se trata de un cultivo diluido el cual no está listo para ser cosechado, si el valor corresponde a 2 o 3 cm nos señala que el cultivo es adecuado para comenzar con la cosecha y si estos valores son inferiores a 2 indican que es necesaria una dilución del cultivo. La recolección debe hacerse preferentemente en la mañana y si es posible consumirse directamente como un queso. Para el resto de la pasta se debe seguir un proceso de secado (Antenna 2005).

Usualmente, la cosecha, involucra varios estadios de filtración. Su eficiencia depende del tamaño de los tricomas y de la malla o red de los filtros usados en cada fase del proceso. Un

problema inevitable durante la cosecha es el daño mecánico, este daño se manifiesta en la fragmentación y en el incremento progresivo del enrollamiento de los tricomas (Belay 1997).

Con la finalidad de retirar las sales, la pasta cosechada deberá ser lavada tres veces con abundante agua (Srivastava 2007).

Secado y empaquetado.

El secado es un buen método de conservación, este debe llevarse a cabo lo más rápido posible en menos de 6 horas después de la cosecha (Antenna 2005). La pasta resultante de la cosecha deberá ser esparcida sobre un secador solar construido con hojas de plástico (Srivastava 2007). El resultado final es un fino polvo de color verde oscuro que sabe y huele a una combinación de pasto y levadura (Gibbs 1982). Es recomendable empaquetar, sellar herméticamente y almacenar este polvo a 4 °C (Srivastava 2007).

Un empaquetado adecuado es un punto muy importante en la producción de *Arthrospira* de alta calidad. El producto sellado puede permanecer hasta 4 años sin cambios en su composición química o propiedades nutricionales. Un secado insuficiente tiene como consecuencia un alto contenido de humedad (>7%) lo que resulta en el crecimiento de hongos y bacterias. Un secado excesivo (<4%) resulta en la pérdida de algunos componentes esenciales como vitaminas y pigmentos (Belay 1997).

Historia del cultivo de *Arthrospira*.

Los cultivos de micro algas son una biotecnología relativamente nueva. Los cultivos a gran escala comenzaron a principios de los años 40s en Alemania con el cultivo de *Chlorella* (Becker 1994) seguido a principio de los 70s con el establecimiento de instalaciones de cultivo y cosecha de *Arthrospira* (como *Spirulina*) en el Lago de Texcoco, México, por la empresa Sosa Texcoco (Vonshak 1997b).

En 1967, Sosa Texcoco, S.A., entró en contactos con técnicos del Instituto Francés del Petróleo que se encontraban estudiando el aprovechamiento del alga *Spirulina* en África Central. Así en 1973 se desarrolló la instalación de una planta piloto semi-industrial con una capacidad de producción de una tonelada diaria de alga seca. Con esa producción, Sosa Texcoco, S.A. encabezaba, a nivel mundial, la fabricación de este producto (Anónimo,1991).

Hacia 1977 México no tenía competidores en la producción de *Spirulina*, solamente existían algunas pequeñas plantas productoras en Japón y en Tailandia pero su producción era muy baja comparada con la de México. La mayor parte de la *Spirulina* que producía la empresa Sosa Texcoco, se exportaba, los principales compradores eran Estados Unidos, Japón y algunos países Europeos. Sosa Texcoco empacaba tabletas y cápsulas de *Spirulina* adicionadas con vitamina A y D (Gibbs, 1982).

A principios de los años 80s, se determinó la necesidad de edificar una nueva planta para satisfacer las necesidades de producción, microbiológicas y de control de calidad, mejorando de manera notable el cultivo y secado del alga *Arthrospira* (como *Spirulina*); la maquinaria y los equipos se encontraban a la vanguardia, su tecnología era prácticamente de punta y el personal altamente calificado (Anónimo 1991).

Sin embargo, los productos finales no tenía la calidad requerida para el consumo humano y comenzó a tener una mala reputación debido a los laxos controles de calidad a los que eran sometidos (Benemann 1985). Desafortunadamente estalló una huelga que duró varios años, finalizando el fallo a favor de los trabajadores. La empresa estaba en quiebra y no reanudó actividades jamás (Anónimo 1991).

Esto marcó el final de la producción de *Spirulina* en México.

La posibilidad de utilizarla como complemento alimenticio para humanos y ganado en condiciones rurales y de autoconsumo no se ha explotado en México.

Sin embargo en el mundo existen diferentes empresas dedicadas a la producción de *Spirulina* para consumo humano y/o animal, algunos ejemplos se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Compañías productoras de *Arthrospira* a nivel mundial. (Modificado de Vonshak 1997 y Sánchez *et al.* 2003 en Ramírez-Moreno y Olvera -Ramírez 2006).

Nombre de la compañía	País	Superficie de producción (m ²)	Producción Anual en Toneladas	Productos
Earthrise Farms	Calipatria, California, USA	150.000	1995: 360 1996: 400 2002: 450	<i>Spirulina</i> pulverizada, tabletas, alimentos formulados y colorante azul (Lina Blue)
Myanma Microalgae Biotecnology proyect	Yangon, Myanmar	1300.000	1995: 32 1996: 40	Comprimidos de <i>Spirulina</i> .
Cyanotech Corporation	Kailua Kona, Hawaii, USA	100.000	1995: 250 1996: 300	<i>Spirulina</i> Pacifica™. Con alto contenido de proteínas y ficobiliproteínas, pigmentos fluorescentes utilizados en diagnósticos inmunológicos.
Hainan DIC Microalgae Co., Ltd	China	100.000	2002:330	<i>Spirulina</i> pulverizada, tabletas, alimentos formulados y Lina blue.
Ballarpur Industries Ltd. Spirulina Farm.	Nanjangud, Mysore District, India	54.00	1994 - 1995:25 1995:1996:85	Polvo de <i>Spirulina</i> y comprimidos.
Nao Pao Resins Chemical Co., Ltd.	Tainan, Taiwan	50.000	1995:70 1996:80 2000:150	Polvo de <i>Spirulina</i> y comprimidos para consumo humano.
Neotech Food Co.,Ltd.	Bangpong, Rajburi, Thailandia	50.000	1999:30 1996:40	<i>Spirulina</i> en polvo 30% para humanos y 70% para animales.
Genix	Cuba	45.000	2001:100	Suplementos nutricionales y cosméticos.

Solarium Biotecnology	Chile	24.000	2000:4.5 2001:28.6 2002:13	<i>Spirulina</i> fresca, seca y pulverizada.
--------------------------	-------	--------	----------------------------------	---

Tomando en cuenta lo expuesto anteriormente, instalar cultivos masivos de *Arthrospira* en México es posible. Este trabajo pretende sentar las bases para establecer estos cultivos, utilizando tecnología rural y así explotar la posibilidad de utilizarla como complemento alimenticio para humanos y animales.

OBJETIVOS.

- a) Obtener cepas de crecimiento rápido de la especie *Arthrospira maxima*.
- b) Comparar la tasa de crecimiento en diferentes medios de cultivo de las cepas aisladas.
- c) Obtener una relación costo beneficio aceptable para los cultivos más exitosos y el medio de cultivo más económico.

MATERIALES Y MÉTODOS.

La primera fase de este proyecto consistió en obtener cultivos monoalgales de *Arthrospira maxima*. La recolecta se realizó en el Lago Texcoco, Estado de México el 11 de septiembre de 2008, en dos localidades: el Lago Recreativo y el Lago Nabor Carrillo. La toma de las muestras fue directa sin red de plancton, a la orilla de los Lagos en donde se observaban los crecimientos masivos característicos de *Arthrospira*. Se tomaron datos de pH y temperatura con un potenciómetro (Conductronic PC18), conductividad y salinidad del agua con un salinometro conductometro (Licor®) y la posición geográfica con un GPS (GARMIN geko 201) (Tabla 2). También se recolectaron 4 litros de agua del Lago Recreativo para ser utilizada como medio de cultivo. Las muestras y el agua se colocaron en una hielera para trasladarlas al laboratorio (2 horas aproximadamente).

Tabla 2. Condiciones de muestreo en las localidades donde se recolectó *A. maxima* en el Lago de Texcoco, Estado de México el 11 de Septiembre del 2008.

	Lago Recreativo	Lago Nabor Carillo
Hora	10:30 am	10:45 am
Temperatura	22.2°C	23.5°C
pH	11.3	7.93
Sólidos disueltos	5.8 gL ⁻¹	2.82 gL ⁻¹
Salinidad	5.9 ppm 0/00	2.9 ppm 0/00
Conductividad	10.46 mS	5.36 mS
Altitud	2234 msnm	2237 msnm
Coordenadas geográficas	N 19°, 27'55.24" O 98°, 59'53.64"	N 19° 27'48.24" O 98°59'22.57"

Una vez en el laboratorio se procedió a filtrar el agua; esto se realizó en tres etapas la primera fue con 3 mallas de diferentes tamaños para remover todos los materiales sólidos que contenía el agua, la segunda fue un pre filtrado para el cual se utilizó un embudo de vidrio y papel filtro de 0.7µm. (Whatman®). Para la tercera filtración se utilizó un sistema Millipore® de esterilización aséptica de 47 mm con una membrana de nitrocelulosa de

0.22µm también de la marca Millipore®, conectado a las llaves de vacío. Se colocó el agua filtrada en frascos de vidrio de 500 ml y se almacenó en el refrigerador a 4°C.

Tratamiento 1. Obtención de cultivos monoalgales de *Arthrospira maxima*.

Se preparó medio Bourrelly modificado Hegewald (1994) y se le adicionó 0.3gL⁻¹ de Na₂Cl con 15 g/l de NaCl (**Anexo 1**).

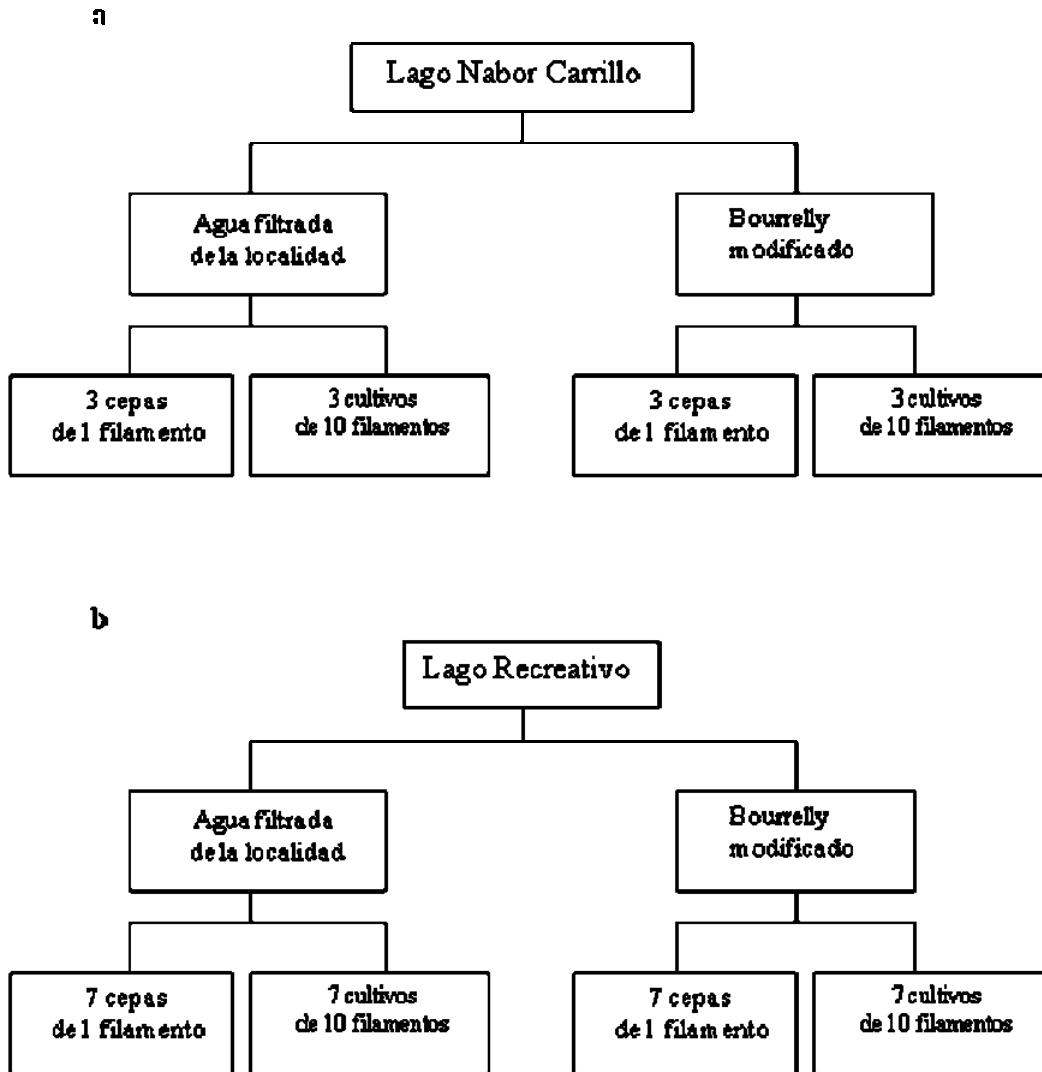
Se aislaron los filamentos de *Arthrospira* para obtener 6 cepas de un filamento del Lago Nabor Carrillo y 14 cepas de un filamento del Lago Recreativo, también 6 cultivos de diez filamentos del Lago Nabor Carrillo y 14 cultivos de 10 filamentos del Lago Recreativo. Tabla 3. Las siembras se realizaron de esta manera debido a que los filamentos recolectados en el Lago Recreativo, aunque pertenecen a la misma especie, eran más gruesos y tenían un color verde más intenso que los del Lago Nabor Carrillo.

Tabla 3. Aislamiento de filamentos de *A. máxima*

Número de Filamentos	Lago Nabor Carrillo.	Lago Recreativo.	Total.
1	6 cepas	14 cepas	20 cepas.
10	6 cultivos	14 cultivos	20 cultivos.

Una vez que las cepas estuvieron aisladas, se sembraron de la siguiente manera: 3 cepas de 1 filamento del Lago Nabor Carrillo en Bourrelly modificado y 3 cepas de 1 filamento del Lago Recreativo en agua filtrada de la localidad. 7 cepas de 1 filamento en agua filtrada de la localidad y 7 cepas de 1 filamento del Lago Nabor Carrillo en Bourrelly modificado, de la misma manera se sembraron 3 cultivos de 10 filamentos del Lago Nabor Carrillo en Bourrelly modificado y 3 en agua filtrada de la localidad y 7 cultivos de 10 filamentos en agua filtrada.

Diagrama 1. Siembra de los filamentos de *A. máxima* recolectados en el Lago Nabor Carrillo (a) y en el Lago Recreativo (b).



Una vez sembrados, los tubos se colocaron en las cámaras de cultivo a 20°C y se agitaron cuidadosa y suavemente de manera manual durante 10 segundos una vez al día.

De los cultivos que se mantuvieron puros, con filamentos de *Arthrospira* de color verde intenso y flotando, se realizaron resiembras, en 10 tubos de vidrio con 50 ml de Bourelly modificado. Cada tubo se sembró con 1 ml de cultivo de *Arthrospira maxima*, se mantuvieron bajo una lámpara que proporcionaba una temperatura de 22°C. Se agitaron cuidadosa y suavemente de manera manual durante 10 segundos una vez al día.

La evaluación de este tratamiento se realizó por medio de la observación de cambios en la coloración de los tubos, en cuanto los tubos presentaban una coloración verdosa se hicieron preparaciones para observar en el microscopio y confirmar si se trataba de crecimientos de *Arthrospira*.

Los cultivos exitosos se mantuvieron durante toda la fase de experimentación ya que de ellos se extraía el inóculo para las resiembras y experimentos posteriores.

Tratamiento 2. Evaluación del crecimiento de *A. maxima* en el medio Jaipur adicionado con diferentes concentraciones de NaCl.

Para el segundo tratamiento se prepararon 500 ml de medio Jaipur (Anexo 1) y a 10 tubos de vidrio de 80 ml con tapa de baquelita, se les agregó 50 ml de medio cada tubo se sembró con 1 ml del cultivo de *A. maxima*, se numeraron del 1 al 10, los primeros 5 se colocaron bajo una lámpara fuera de las cámaras de cultivo (22°C), el resto de los tubos se colocaron dentro de las cámaras de cultivo (20°C). En 4 de los tubos, el medio fue modificado con 1.5g/100 ml de NaCl y en otros 4 se le adicionaron 15 g/100 ml de NaCl, 2 de los tubos se mantuvieron con el medio original.

Todos los tubos fueron agitados suavemente de forma manual durante 10 segundos una vez al día hasta el término del experimento.

Tratamiento 3. Comparación de las tasas de crecimiento de los filamentos de *A. máxima* en diferentes medios de cultivo.

Para realizar este experimento se prepararon 4 medios de cultivo: Bourrelly modificado, Zarrouck, Jaipur y Antenna cada uno de éstos fue modificado con 15 gL⁻¹ de NaCl (anexo 1).

Se esterilizaron 24 tubos de vidrio de 80 ml. De cada medio se vertieron 50 ml en 6 tubos, cada tubo se inóculó con 1 ml de cultivo de *Arthrospira* de las resiembras que se encontraban en medio Bourrelly.

Estos tubos se colocaron en una cama de luz bajo una lámpara incandescente de 60 watts la cual les proporcionaba una temperatura de 28°C.

Al igual que en los otros tratamientos los tubos se agitaron suavemente de forma manual durante todos los días durante 10 segundos aproximadamente. Los observé durante dos semanas y al día 15, cuando hubo crecimiento visible, comenzó la medición del tiempo de duplicación a través del conteo directo con un Hemocitómetro de 0.100 mm (E. Hartnack)

Por último se obtuvieron los costos de los insumos utilizados en la elaboración de los medios de cultivo y se hizo una comparación entre las tasas de crecimiento que se registraron y el costo de cada medio. Imágenes en **ANEXO 2**.

RESULTADOS.

Tratamiento 1. Obtención de cultivos monoalgales de *A. maxima*.

Las cepas del Lago Nabor Carrillo que fueron sembradas en agua filtrada de la localidad no registraron ningún crecimiento. En cambio en los cultivos de 10 filamentos con las mismas condiciones hubo 1 de los 3 que logro mantenerse. De las 7 cepas del Lago Recreativo que fuero sembradas en Bourrelly modificado solo 1 de ellas tuvo éxito, lo mismo sucedió en el caso de los cultivos de la misma localidad y con el mismo medio pero de 10 filamentos. De las 3 cepas del Lago Nabor Carrillo que fueron sembradas en Bourrelly modificado 2 de estas prosperaron y para el caso de los cultivos de 10 filamentos con las mismas condiciones sólo 1 logró mantenerse. En la ultima condición en la que 7 cepas del Lago Recreativo fueron sembradas en agua filtrada solo 1 tuvo éxito en cambio en el caso de los cultivos de 10 filamentos con las mismas condiciones 3 de los 7 cultivos tuvieron la misma suerte.

Tabla 4. Resultados del tratamiento 1 obtención de cultivos monoalgales.

Origen de los filamentos	Número de filamentos	Medio de cultivo	Cultivos iniciales	Cultivos exitosos.
Lago Nabor Carrillo	1	Agua filtrada	3	0
Lago Nabor Carrillo	10	Agua filtrada	3	1
Lago Recreativo	1	Bourrelly modificado	7	1
Lago Recreativo	10	Bourrelly modificado	7	1
Lago Nabor Carrillo	1	Bourrelly modificado	3	2
Lago Nabor Carrillo	10	Bourrelly modificado	3	1
Lago Recreativo	1	Agua filtrada	7	1
Lago Recreativo	10	Agua filtrada	7	3

Tratamiento 2. Evaluación del medio Jaipur adicionado con diferentes concentraciones de NaCl.

En este tratamiento se evaluó a lo largo de 4 semanas el crecimiento de *A. maxima* en medio Jaipur adicionado con diferentes concentraciones de sal, este tratamiento también se evaluó con la observación de cambios en la coloración de los tubos.

Ninguno de los cultivos de este tratamiento tuvo éxito, esto se atribuye a las bajas temperaturas ($>20^{\circ}\text{C}$) que se registraron durante los meses de noviembre y diciembre de 2008. Al cabo de cuatro semanas de observación, no se registró ningún crecimiento de *Arthrospira*, salvo en algún tubo que se observó bajo el microscopio y en el que vio que efectivamente había filamentos de *Arthrospira* pero en una cantidad tan pequeña que pudieron corresponder a la presencia del inóculo y no al crecimiento de los cultivos.

Por otro lado en todos los tubos, de manera asincrónica, aparecieron manchas blanquecinas de aspecto algodonoso, se realizaron preparaciones y se constató que se trataban de hongos por lo que se procedió a retirar los tubos y eliminarlos para evitar la contaminación de otros cultivos.

Tratamiento 3. Comparación de los tiempos de duplicación de los filamentos de *Arthrospira máxima* en diferentes medios de cultivo.

No hubo crecimiento en los cultivos que utilizaron medio de cultivo Bourrelly Figura 1.

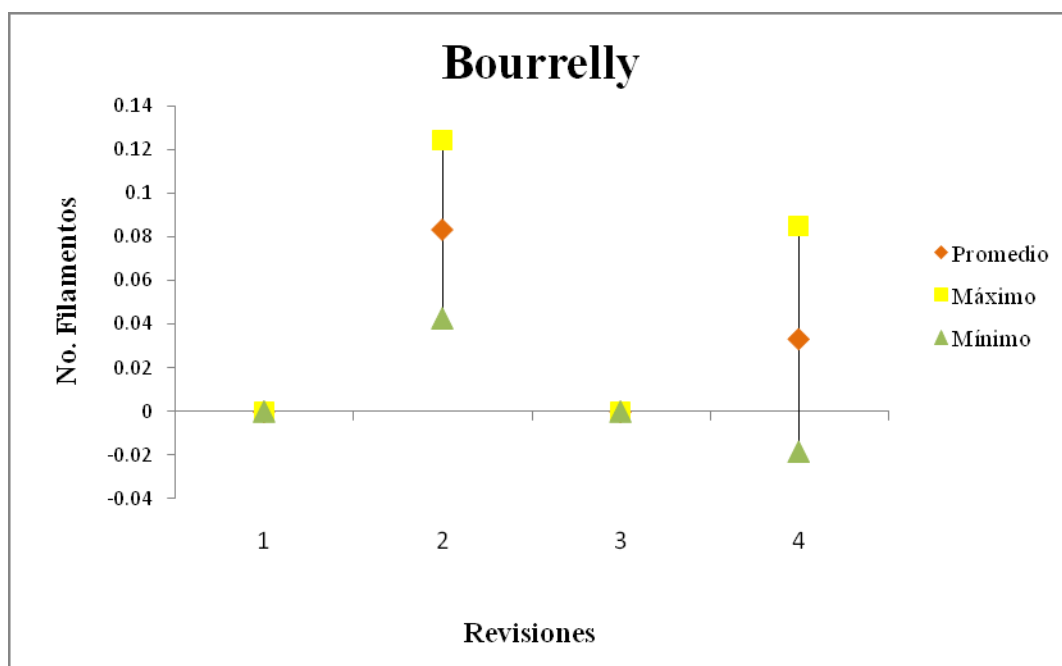


Figura 1. Promedio de filamentos de *A. maxima* encontrados en 6 tubos en medio Bourrelly a lo largo de 4 revisiones.

El crecimiento que se registró en el medio Zarrouck fue del tipo aritmético con una variación muy pequeña. Figura 2.

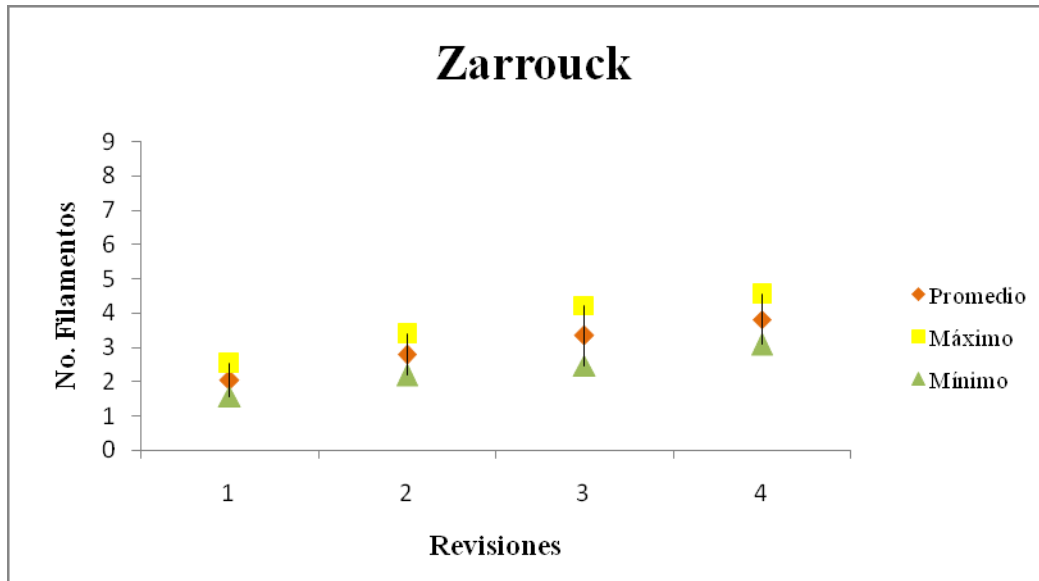


Figura 2. Promedio de filamentos encontrados de A. maxima en medio Zarrouck modificado a lo largo de 4 revisiones.

En el medio Jaipur se observó que en la revisión inicial la variación en los valores fue muy grande, en la revisión 2 se registró un incremento en el promedio de filamentos encontrados en los conteos y la variación fue muy pequeña, en la revisión 3 volvió a incrementarse el crecimiento de los cultivos, sin embargo en la revisión 4 se registró un ligero decremento en el crecimiento y la variación aumentó con respecto a la revisión 3 y 4 aunque no llegó a ser tan grande como en la revisión 1. Figura 3.

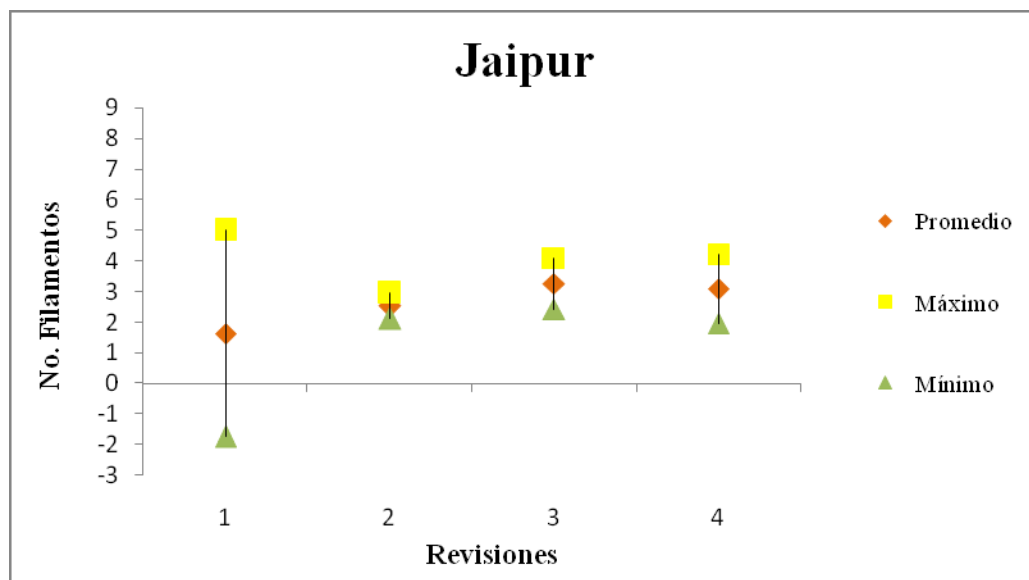


Figura 3. Promedio de filamentos de *A. maxima* encontrados en medio Jaipur modificado a lo largo de 4 revisiones.

Durante las tres primeras revisiones el cultivo presentó un crecimiento aritmético y a la cuarta revisión tuvo una ligera caída.

En el caso del cultivo en el que se utilizó medio Antenna modificado, las dos primeras revisiones no presentaron un crecimiento importante pero para la revisión 3 este se incrementó de manera notable aunque también su variación aumentó considerablemente en la revisión 4 se registró otro incremento en el promedio de filamentos aunque su variación se mantuvo muy amplia. Figura 4.

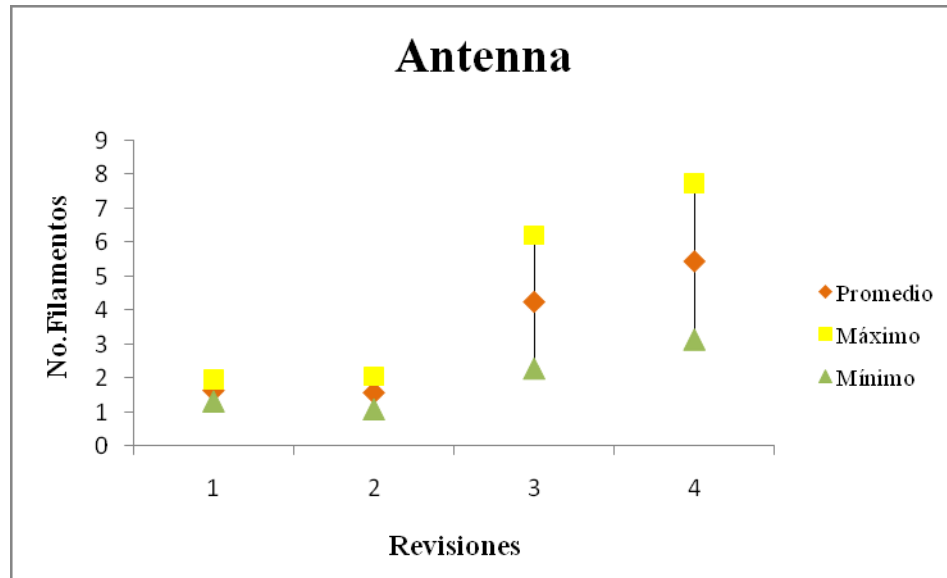


Figura 4. Promedio de filamentos de *A. maxima* encontrados en medio Antenna modificado a lo largo de 4 revisiones.

Tabla 5 . Costos por litro de los insumos utilizados en la elaboración de medios de cultivo.

Medio de cultivo	Costo por litro
Bourelly modificado	\$ 27.34 pesos por litro
Jaipur	\$ 0.55 pesos por litro
Antenna	\$ 4.99 pesos por litro
Zarrouck	\$ 5.71 pesos por litro

Al momento de hacer la comparación de los promedios de filamentos entre los cuatro medios de cultivo utilizados, encontramos que:

El medio que presentó los crecimientos más altos fue el Antenna modificado.

El medio Zarrouck modificado y Jaipur modificado se comportaron de una manera muy similar aunque para la revisión 4 el promedio de filamentos en el primero de ellos siguieron aumentando y para el segundo el promedio de filamentos encontrados declino ligeramente con respecto a la revisión anterior.

Bourelly no tuvo ningún crecimiento a lo largo de las cuatro revisiones se mantuvo cercano el cero.

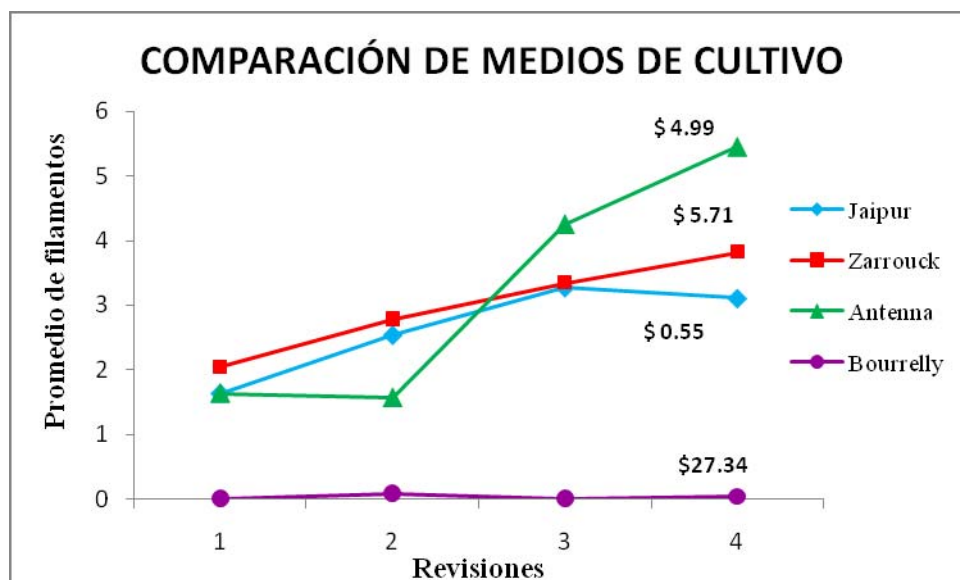


Figura 5. Promedios de filamentos en los diferentes medios de cultivo y sus costos.

DISCUSIÓN.

La mayor parte de los cultivos exitosos del tratamiento 1 (obtención de cultivos monoalgales) provenían del Lago Recreativo, tal vez debido a la calidad del agua en que se encontraban, ya que los registros que se obtuvieron el día del muestreo indican que la salinidad, el pH, la conductividad y los sólidos disueltos eran considerablemente mayores en el Lago Recreativo que en el Lago Nabor Carrillo, muy probablemente estas condiciones mantenían a los filamentos en mejores condiciones, lo que los hizo resistentes al estrés al que fueron sometidos y de esta manera pudieron darse los crecimientos en el laboratorio, cabe señalar que desde las primeras observaciones al microscopio estos filamentos lucían más gruesos y con una coloración más intensa debido a esa característica se decidió hacer un número mayor de siembras con filamentos de esa localidad.

Hubo 34% más cultivos exitosos en el caso de los cultivos de 10 filamentos, esto sugiere, que para el inicio de cultivos masivos es recomendable iniciar con 10 filamentos, aunque gracias a que también se obtuvieron resultados favorables con las siembras de 1 filamento se pueden tomar en cuenta para cultivos que requieran ser monoclonales.

Para el caso de los cultivos de 10 filamentos los resultados nos mostraron que la mayor parte de los cultivos exitosos fueron sembrados con filamentos tomados del Lago Recreativo y en el caso de los medios de cultivo la mitad de nuestros tubos exitosos crecieron en agua filtrada de la localidad y la otra mitad en Bourrelly modificado.

Esto lo podemos atribuir a la naturaleza alelopática de *Arthrospira* ya que al ser solamente 1 filamento este tardaba mas tiempo en alcanzar una concentración que impidiera la colonización del medio por otros microorganismos como ocurría en el caso de los tubos que se contaminaron con hongos, o tal vez tiene una explicación meramente probabilística, ya que si el estrés del cambio fue muy fuerte en el caso de los cultivos de 10 filamentos existían 10 probabilidades de éxito y así, si uno, dos, tres, o nueve filamentos no resistían el cambio, había otro u otros que si lo hacían y a partir de ellos iniciaba el crecimiento, en cambio en las cepas de 1 solo filamento si este perecía, el cultivo fracasaba.

Esta situación también podría atribuirse a una combinación de ambas situaciones

A pesar de que los datos consultados en la bibliografía mencionaban que una temperatura menor de los 20 grados, no permitirían crecimientos significativos, para el tratamiento 2, no logramos establecer las condiciones óptimas. Sin embargo observamos que esos intervalos de temperatura, no sólo no permiten crecimientos, sino que ni siquiera permiten mantener cultivos, ya que incluso los inóculos perecieron.

Los resultados obtenidos en el tratamiento tres fueron completamente inesperados ya que debido al éxito que obtuvimos en el tratamiento uno se esperaba encontrar un crecimiento

mayor, Estos resultados aunados al costo tan elevado (\$27. 34) de los insumos que se requirieron para elaborar este medio nos hace descartarlo.

Al momento de hacer la comparación de los promedios entre los cuatro medios encontramos que Bourrelly no tuvo ningún crecimiento a lo largo de las cuatro revisiones se mantuvo cercano el cero y tomando en cuenta que es el medio de cultivo mas costoso definitivamente queda descartado en la operación de una granja de cultivo. El medio Zarrouck modificado presento un crecimiento lineal como se esperaba ya que este medio fue diseñado por un fisiólogo que realizó los primeros estudios detallados y sistemáticos de *Arthrospira* y esta pensado en cubrir las necesidades de estos organismos pero también es más costoso que los dos restantes (Aproximadamente de \$5.70 por litro).

Los resultados más interesantes a comparar son los que se registraron para los medios Antenna modificado y Jaipur modificado ya que a pesar que el segundo registró un crecimiento menor e incluso una ligera caída en la revisión 4 su costo es de tan solo \$.55 centavos de peso por lo que lo hace sumamente accesible y un muy buen candidato para incluirse en la operación de una granja rural de cultivo masivo de *Arthrospira* como actualmente se realiza en Jaipur, India.

El medio Antenna modificado a pesar de que registro un crecimiento mayor que el medio Jaipur en las revisiones 3 y 4 es mucho más costoso que el Jaipur aproximadamente \$4.99 pesos por litro lo que nos hace dudar sobre cual medio será el mejor nutrimento para *Arthrospira* y represente el menor costo de producción.

Aunque logramos aumentar la temperatura de los cultivos (28°C) no logramos llegar a la temperatura que se registra en la literatura como óptima (35°C) para lograr el crecimiento exponencial, debido a esto no podemos hacer comparaciones y conclusiones certeras acerca de la conveniencia de utilizar un medio u otro. Para hacerlo se requiere realizar mas pruebas por un periodo mas largo.

Gracias a los resultados obtenidos en esta investigación la conclusión mas importante es que en México es posible la instalación de granjas de cultivo rural de *Arthrospira* ya que, entre otras ventajas, en el Lago de Texcoco contamos con una especie que además de aportar múltiples beneficios a la salud también es completamente segura para el consumo tanto humano como animal y se encuentra adaptada a las condiciones ambientales regionales.

CONCLUSIONES

Las filamentos que se obtienen del Lago de Texcoco pertenecen a la especie de *Arthrospira maxima*, la cual se ha demostrado en diversos estudios posee efectos benéficos en la salud humana además de seguridad toxicológica.

Para obtener cultivos monoalgales en laboratorio de *Arthrospira* se puede utilizar agua filtrada o medio Bourrelly modificado.

Para obtener los inóculos para cultivos masivos es recomendable iniciar con cultivos de 10 filamentos.

Es posible obtener cultivos clonales de *Arthrospira* a partir de cepas de 1 filamento.

La temperatura es un factor fundamental en el crecimiento de *Arthrospira* y por lo tanto en el éxito de los tratamientos que se realicen con esta. Si ésta no supera los 20 °C el tratamiento está condenado al fracaso y a la invasión de otros microorganismos como hongos a los medios de cultivo lo que podría representar un grave problema.

El medio Bourrelly no es una opción en el establecimiento de granjas de cultivo masivo ya que es sumamente costoso y su preparación es muy complicada.

El medio Zarrouck registra un crecimiento estable y continuo pero resulta costoso para lo que se le requiere, por lo tanto tampoco es una buena opción para una granja.

Si sólo tomamos en cuenta el crecimiento que se registró en los diferentes medios recomendaríamos el medio Antenna pero como también incluimos los precios de éstos, el medio Jaipur resulta muy conveniente debido a su bajo costo y fácil preparación. Para poder determinar cual de estos medios es el ideal por la cantidad de nutrimentos y los costos que esto implique es necesario alargar el tiempo de investigación y llevar a cabo mas revisiones para observar el comportamiento del crecimiento hasta que el cultivo comience a decaer.

BIBLIOGRAFIA

Abdulqader G, Barsanti L y Tredici M (2000) Harvest of *Arthrospira platensis* From Lake Kossorom (Chad) and its household usage among the Kananebu. *Journal of Applied Phycology*. 12:493:498.

Álvarez M y Gallardo T (1989) Una revisión sobre la biotecnología de las algas. *Bot Complutensis* 15: 9-60.

Arredondo B y Vázquez R (1991) Aplicaciones Biotecnológicas en el Cultivo de Microalgas. *Ciencia y Desarrollo*. XVII (98): 99-111.

Antenna Technologies (2005) *Spirulina*: some scientific foundations. Accesible en: <http://www.antenna.ch/>

Anónimo (1991) SOSA Texcoco, S.A. de C.V. (mimeografiado).

Becker EW 1994 Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge, Cambridge University Press.

Belay A (1997) Mass culture of *Spirulina* outdoor-The Earthrise Farms Experience en: Vonshak A (Ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell-biology and Biotecnology. Taylor & Francis. New York: 131-158.

Belay A (2002) The Potential Application of *Spirulina (Arthrospira)* as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. *The Journal of the American Nutraceutical Association*. 5-(2): 26-48.

Benemann J (1985) *Spirulina* Production-Microalgae Biotecnology: Products, Process and Opportunities. OMEC International, Inc. Washington. (6)1-88.

Borowitzka M (1999) Comercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* 70: 313-321.

Borowitzka M (2005) Culturing Microalgae in Outdoors Ponds. En: Andersen R. (Ed.) *Algal Culturing Techniques*. Phycological Society of America. pp: 205-218.

Carlozzi P y Pinzani E (2004) Growth Characteristics of *Arthrospira platensis* Culture Inside a New Close-Coil Photobioreactors Incorporating a Mandrel to Control Culture Temperature. *Wiley InterScience* Accesible en: www.interscience.wiley.com / DOI:10.1002/bit.20425.

Chamorro G, Salazar M, Gómez de Lima-Araujo K, Pereira dos Santos C, Ceballos G y Fabila-Castillo L (2002) Actualización en la Farmacología de *Spirulina (Arthrospira)*, un alimento no convencional. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 52: 232-240.

Ciferri O (1983) *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews* 47(4): 551-57.

Cohen Z (1997) The Chemicals of *Spirulina*. En: Vonshak, A (Ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor & Francis. Londres, pp. 175-203.

Eykelenburg V (1980) *Spirulina platensis* Morphology & Ultrastructure. Ph.D. Dissertattion. Delftse Universitarie Pers.

Gibbs R (1982) *Spirulina*, New Protein Concentrate. *R&D International Magazine of Scientific Research and Development in Mexico*. 2(6):5-8.

Godínez JL, Ortega MM, Garduño G, Oliva MaG, Vilaclara G (2001) Traditional knowledge of Mexican continental algae. *Journal of Ethnobiology* 21: 57-88

Martínez I y Villezca P (2003) La alimentación en México: Un Estudio a Partir de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares. *Revista de Información y Análisis*. Número 21. pp 26-37.

Muhling M, Belay A y Whitton B (2005) Variation in fatty acid composition of *Arthrospira (Spirulina)* strains. *Journal of Applied Phycology*. 17:137-146.

Paniagua-Michel J, Dujardin E y Sironval C (2004). Crónica Azteca: El Tecuitlatl, concentrado de algas *Spirulinas* fuente de proteínas comestibles del pueblo de los Aztecas. Accesible en: [www. Spiralsprings.com/h_textos/Crónica%20 azteca.pdf](http://www.Spiralsprings.com/h_textos/Crónica%20azteca.pdf).

Rangel G (2009) “Déficit alimentario, el eslabón mas débil de la pobreza” *La Jornada, Guerrero*, 3 Abril 2009, Opinión, 1.

Ramírez-Moreno L y Olvera-Ramírez R (2006) Uso Tradicional y Actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.) *Interciencia*. 31 (9): 657-663.

Sánchez M, Bernal-Castillo J, Roza C y Rodríguez I. (2003) *Spirulina (Arthrospira)*: An Edible Microorganism. Review. Accesible en: www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum/vol8n1/bernal.htm.

Shimamatsu H (2004) Mass Production of *Spirulina*, an Edible Microalga. *Hydrobiologia* 512:39-44.

Srivastava P (2007) Manual for *Arthrospira* Mass Production and Processing Using Rural Technology. Ajmer, Government College Ajmer.

Tomasselli L, Palandri MR y Tredici MR (1996) On The Correct Use of *Spirulina* Designation. *Algological Studies* 83:539-548.

Tomasselli L (1997) Morphology, Ultraestructura and Taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. En: Vonsahk A (Ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. Taylor & Francis. Londres, RU. pp.1-15.

Torzillo G. (1997) Tubular Bioreactors. En: Vonshak A (Ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor & Francis. pp: 101-115

Vonshak A (1997 a) Appendix V En: Vonshak A (Ed.) *Spirulina Platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor & Francis. Londres,

Vonshak A (1997 b) Outdoor Mass Production of *Spirulina*: The Basic Concept. En: Vonshak A (Ed.) *Spirulina Platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor & Francis. Londres, 79-99.

Vonshak A y Tomasselli L (2000) *Arthrospira (Spirulina) Systematics and Ecophysiology*. En: Whitton, B. A. y Potts,M. (Eds.) *The Ecology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, Holanda. Pp. 505-522.

ANEXO 1

Medios empleados para el cultivo de *A. maxima*.

Medio de cultivo BOURRELLY (modificado por Hegewald et al. 1994) para clorofitas

(Preparación de soluciones.)

Nitrato de potasio KNO ₃	10g/100ml
Fosfato de potasio K ₂ HPO ₄	1g/100ml
Sulfato de magnesio hepta-hidratado MgSO ₄ 7H ₂ O	1g/100ml
Nitrato de calcio Ca(NO ₃) ₂	1g/100ml

VITAMINAS.

Biotina	3.3 mg/100 ml
B ₁₂	0.5 mg /100ml
Tiamina	20ml/1000ml
FeEDTA	930 mg/80 ml

Elementos traza.

Cloruro de manganeso MnCl ₂ .4H ₂ O	0.99 g/100ml
Sulfato de cobalto CoSO ₄ .7H ₂ O	0.28 g/100ml
Sulfato de cobre CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.05 g/100ml
Sulfato de zinc ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.315 g/100ml
Acido bórico H ₃ BO ₃	0.62 g/100ml
Molibdato de amonio hidratado (NH ₄) ₆ Mo 7O 24. 4H ₂ O	0.18 g/100ml
Sulfato de niquel NiSO ₄ .6H ₂ O	0.263 g/100ml
Vanadato de amonio NH ₄ VO ₃	0.146 g/100ml

Es recomendable utilizar agua bidestilada.

Una vez elaboradas las soluciones tomar:

Nitrato de potasio KNO ₃	2ml/1000ml
Fosfato de potasio K ₂ HPO ₄	4ml/1000ml
Sulfato de magnesio hepta- hidratado MgSO ₄ ·7H ₂ O	3ml/1000ml
Nitrato de calcio Ca(NO ₃) ₂	3ml/1000ml

Vitaminas

Biotina	3.3mg
B12	0.5mg
	En 100ml
Tiamina	10 ml/ 1000 ml
FeEDTA	

Elementos traza.

Cloruro de manganeso MnCl ₂ · 4H ₂ O	1ml/100ml
Sulfato de cobalto CoSO ₄ · 7H ₂ O	0.1 ml/100ml
Sulfato de cobre CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.1ml/100ml
Sulfato de zinc ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.2ml/100ml
Acido bórico H ₃ BO ₃	0.5ml/100ml
Molibdato de amonio hidratado (NH ₄) ₆ Mo 7O 24 · 4H ₂ O	0.1ml/100ml
Sulfato de niquel NiSO ₄ · 6H ₂ O	1ml/100ml
Vanadato de amonio NH ₄ VO ₃	0.1ml/100ml

La solución final de un litro se esterilizó por filtración un sistema Millipore® de esterilización aséptica de 47 mm con una membrana de nitrocelulosa de 0.22µm también de la marca Millipore®, conectado a las llaves de vacío.

Este medio fue modificado para ser utilizado en el cultivo de *Arthrospira* con la adición de 0.3g/L de Na₂CO₃ y 15 g/L NaCl.

El pH de este medio fue ajustado a 10.

MEDIO ANTENNA (1999)

Bicarbonato de sodio (Na ₂ HCO ₃)	16g/L
Nitrato de potasio (KNO ₃)	2g/L
*cloruro de sodio. (NaCl)	1g/L
**Fosfato de amonio(NH ₄ HPO ₄)	0.1g/L
Te negro	1ml/L
Sulfato de hierro (FeSO ₄)	10mg/L
Sulfato de magnesio (MgSO ₄)	0.1g/L
Sulfato de potasio (K ₂ SO ₄)	0.5g/L
Cloruro de calcio(CaCl ₂)	0.1g/L

*Se utilizó sal de mesa.

** Fosfato mono-amoniaco (NH₄) H₂PO₄, o di-amoniaco (NH₄)₂HPO₄ mono-potásico KH₂PO₄.

Este medio se modificó con la adición de 15g/L de NaCl (usamos sal de mesa).

No se utilizó el té negro como lo indica en el manual.

Se utilizó agua sin cloro.

Se ajustó el pH =10.

El costo aproximado de los insumos para la preparación de este medio es de \$ 4.99 pesos por litro.

MEDIO JAIPUR (Srivastava 2007).

La formula de este medio se tomo de “Mannual for *Arthrospira* mass production and processing using rural tecnology” (Srivastava 2007)

Las sustancias que se utilizaron fueron:

Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	6.0g/L
NPK15:15:15*	1.0g/L
Superfosfato *	0.1g/L
Sulfato de Magnesio (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0.2g/L

*fertilizantes agricolas

Este medio se modificó con 15g/L de NaCl.

Para la preparación de este medio se utilizo agua sin cloro. No se utilizó la cáscara de nuez, que menciona el manual.

Se ajustó el pH= 10.

El costo de los insumos para la preparación de este medio es de \$.55 centavos por litro.

MEDIO ZARROUK (Srivastava 2007)

Bicarbonato de sodio(NaHCO_3)	4.5g/L
Fosfato de potasio(K_2HPO_4)	0.5g/L
Nitrato de sodio (NaNO_3)	2.5g/L
Sulfato de potasio (K_2SO_4)	1.0g/L
Cloruro de sodio (NaCl)	1.0g/L
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2g/L
Cloruro de calcio (CaCl_2)	.004g/L
EDTA	0.08g/L

Se modificó este medio con la adición de 15g/L de NaCl.

Se utilizó agua sin cloro.

Se ajustó el pH=10.

El costo aproximado de los insumos para preparar este medio es de \$5.71 pesos por litro.

ANEXO 2.

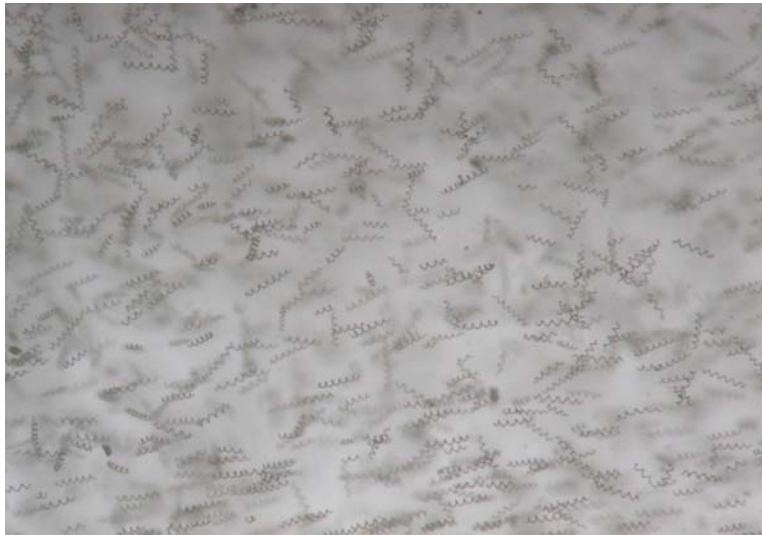


Imagen 1. Filamentos de *A. maxima* recolectados en el Lago de Texcoco, Edo Mex.



Imagen 2. Primera etapa de filtración del agua colectada para cultivo.



Imagen 3. Tercera etapa de filtración del agua para cultivo con un equipo de esterilización aséptica conectada a vacío.



Imagen 4. Aislamiento de los filamentos de *A. maxima*.



Imagen 5. Cultivos de *Arthrospira* fuera de las cámaras de cultivo.



Imagen 6. Cultivos de *Arthrospira* dentro de las cámaras de cultivo.



Imagen 7. Cultivos de *A. máxima* en cama de luz con termómetro del tratamiento 3