



Cultivo experimental de *Arthrospira jenneri* con medio nutritivo de residuos de pescado

Experimental Culture of *Arthrospira jenneri* with waste fish nutrient medium

Alina Zafra Trelles¹, Juan Merino Moya¹, Federico Gonzales Veintimilla¹, Erika Alayo Rodríguez², Johanna Briceño Valera², Edith Rosas Quispe², Jhones Castro Alfaro² y Kriss Vela Alva²

¹Departamento de Pesquería. ²Escuela AP de Pesquería. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se investigó la evolución del cultivo de *Arthrospira jenneri* "espirulina" con residuos de anchoveta a concentraciones de 5, 10 y 15 mL en una corrida experimental realizada de diciembre a enero 2013. Se evaluó la densidad cada dos días a 0,1 mL⁻¹ y las tasas de crecimiento. La muestra de agua se obtuvo del humedal Chou Chou (Salaverry) y la espirulina se separó a través de una malla de 40 µ. Se cultivó un litro de *A. jenneri* con 100 mL de inóculo, 10 ppt de salinidad, 9 de pH y 24°C, en sistema de botellas con aireación y luz continua por 15 días en un invernadero. La densidad de *A. jenneri* fue de 0,76; 1,85 y 2,08 x 10³ tricomas mL⁻¹ y el crecimiento se inició al sexto día con tasas de crecimiento de 0,304; 0,369 y 0,377 día⁻¹ respectivamente. Se concluye que mayor densidad y tasas de crecimiento específico de *A. jenneri* se obtuvo con 15 mL de residuos de anchoveta.

Palabras clave: *Arthrospira jenneri*, espirulina, cultivo, residuos de pescado, densidad, tasa de crecimiento específico.

ABSTRACT

Cultivation of *Arthrospira jenneri* "spirulina" at concentrations of 5, 10 and 15 mL with waste anchovy was investigated in an experimental court conducted from December to January, 2013. Density was evaluated every two days at 0,1 ml and specific growth rate was evaluated. The water sample was obtained in wetland Chou Chou (Salaverry) and spirulina algae were separated through a 40 µ mesh. *A. jenneri* liter of 100 mL inoculums, 10 ppt salinity, pH9 and 24 °C in a bottle system with aeration and light continuous was cultured for 15 days in a greenhouse. The *A. jenneri* density was 0,76; 1,85 and 2,08 x 10³ trichomes mL⁻¹ and growth began on the sixth day with growth rates of 0,304; 0,369 ; 0,377 day⁻¹ respectively. It is concluded that higher density and specific growth rates of *A. jenneri* was obtained with 15 ml of waste anchovy.

Keywords: *Arthrospira jenneri*, spirulina, farming, fish waste, density, specific growth rate.

INTRODUCCIÓN

Espirulina es el nombre común con se conoce al alga multicelular conformada por dos géneros: *Spirulina* y *Arthrospira*, con 15 especies registradas, de las cuales *A. platensis* es la más investigada a nivel mundial en diferentes medios nutritivos y condiciones de parámetros físico químicos¹. Debido a que se puede cultivar extensiva, semi-intensiva e intensivamente y a que le usa como alimento humano y como complemento de dietas de peces y langostinos, China, por ejemplo, produce 19 080 T, con ganancias de US. \$ 16,6 x 10⁶⁻².

En efecto, se ha señalado que, por su elevado porcentaje de pigmentos β-carotenos y ficocianinas con amplia capacidad antioxidante, la espirulina es utilizada para combatir las alergias, el cáncer, el colesterol elevado; como suplemento y complemento de proteína en el cultivo de *Litopenaeus*

schmitti, *Macrobrachium rosenbergii*, *Penaeus monodon*, *Haliotis*, *Oreochromis niloticus* y *O. mossambicus*, con altos rendimientos en el crecimiento y metamorfosis^{2,3,4,5,6} y en el tratamiento de agua residual: *Scenedesmus* sp. remueve el 94,4% de nitrógeno amoniacal, el 77,5% de fosfatos y el 35,5% de materia orgánica¹⁰.

El cultivo de espirulina se puede realizar en aguas salobres y alcalinas, de modo artesanal, semi-industrial e industrial, teniendo en cuenta que los estanques deben tener ángulos redondos, con superficies entre 5 a 40 m²; las cosechas se pueden realizar entre los 15 a 20 días usando inóculos de medio nutritivo del 10 al 20%, en condiciones de luminosidad^{7,8,9}. De este modo, *S. maxima* y *S. platensis*, las microalgas más investigadas, han sido cultivadas en medio nutritivo Zarrouk con rendimientos de 60 a 68%, asimismo, en medios a base de: fertilizantes foliares, abonos de animales y efluentes de industrias pesqueras, con la idea de abaratar costos. Así, por ejemplo, *S. maxima* fue cultivada con efluentes orgánicos y se obtuvieron densidades de 530, 1380, y 9500 tricomas/mL después de 2, 15 y 30 días con inóculos de 200 mL^{11,12}.

A. jenneri es una microalga que habita en pozos o charcas de agua poco profundas, de suelos salitrosos de permanente filtración y en medios sulfurosos y carbonatados, como las de Puerto Chicama¹³. Cultivada en medio Zarrouk, se obtiene 297067 tricomas/mL³, mientras que si se utiliza medios a base de residuos de pescado se logra un crecimiento de 1,30 x10⁴ tricomas/mL con pH de 9,0 a 9,5 cuando el alga se aisla de los humedales de Salaverry. En el cultivo de *Spirulina platensis* var. *Paracas*^{15,16} con residuos orgánicos de excrementos se produce 204,6 cél/mL y presenta una tasa de crecimiento específico de 0,4 d⁻¹ y remueve el fósforo en 41,6 %. El conocimiento de la tecnología de cultivo de *A. jenneri* a diferentes escalas es el principal fundamento científico debido a que en Trujillo La Libertad existe un gran porcentaje de tierras no cultivables y que se podrían aprovechar si se conoce la tecnología de cultivo. Además usar otra fuente alternativa de medios nutritivos más cómodos que los artificiales es una ventaja económica y el reciclaje natural que realiza la espirulina brinda una de las funciones ecológicas importantes en la cadena trófica. Igualmente el manejo del cultivo de la espirulina puede ofrecer mayor oportunidad de alimento y empleo para las comunidades costeras por los múltiples usos de esta microalga en la Acuicultura, alimentación y medicina.

El objetivo de la investigación fue realizar el cultivo experimental de *Arthrospira jenneri* "espirulina" con medio nutritivo de residuos de pescado.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó el cultivo experimental de *A. jenneri* "espirulina" entre diciembre 2012 a enero 2013 con una muestra de agua del humedal ChouChou (Salaverry) y de mayo a diciembre se colectó muestras mensuales de agua en los ecosistemas naturales de los humedales El Tubo (Malabrigo), ChouChou (Salaverry) y Huanchaco (Fig. 1).

En la experimentación se implementó un invernadero 5,0 x 6,0 x 1,8 m para que brinde condiciones de ambiente seco con disponibilidad de aireación y luz para desarrollar los cultivos de espirulina con medio nutritivo a base de anchoveta.

En la corrida experimental, se colectó 10L de agua en un balde plástico en los humedales ChouChou (Salaverry), e in situ se midió la salinidad con un refractómetro Aquatic Ecosystem, pH con un pH Testr 1, y la temperatura con un termómetro Taylor model 9842N. Esta muestra se revisó al microscopio a 4 y 10 X luego se filtró en una malla de 40 µ para separar la espirulina.

El medio nutritivo se preparó con residuos de pescado, se pesó 100 g de anchoveta en una balanza Camry y luego se aforó a 1L con agua potable en un vaso de precipitación por 20 minutos, posteriormente se filtró con papel de filtro y algodón para separar los restos de piel y vertebras y se almacenó en botellas plásticas de 1L además se conservó al ambiente. Este medio nutritivo se agregó con una pipeta de 1, 5 y 10 ml en el sistema de botellas de cultivo de la espirulina en la experimentación.



Fig. 1. Recolección de la muestra de espirulina *A. jenneri* en los humedales de ambiente natural El Tubo (izquierda), ChouChou (centro) y Huanchaco (derecha) en Malabrigo, Salaverry y Huanchaco.

Luego se realizó el cultivo de 1 L de espirulina con las condiciones de salinidad, pH y temperatura del ambiente natural por 15 días en un set de baterías de botellas de 2,5 L con un inóculo algal de 100 ml e identificadas con concentraciones correlativas de 1 a 15 ml. Posteriormente se seleccionaron las concentraciones de 5, 10 y 15 ml de residuos de anchoveta para determinar los parámetros de densidad y crecimiento.

La densidad de la espirulina se evaluó cada dos días contando el número de tricomas en 0,1 ml¹⁷, y luego se expresó en tricomas por mililitro, en cuanto al crecimiento se determinó a través del número de tricomas por día de cultivo y a la tasa de crecimiento específico¹⁸ (μ) día⁻¹. Finalmente se realizó el análisis estadístico de tendencia central en Past y el Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cultivo experimental de *A. jenneri* con muestra procedente del humedal ChouChou de Salaverry (Fig.2) las densidades fueron de 0,76; 1,85 y 2,08 x 10³ tricomas ml⁻¹, obtenidas a 5, 10 y 15 ml con el medio nutritivo de residuos de anchoveta (Tabla 1). Esto indicaba que la relación entre la concentración del medio nutritivo y la densidad de la espirulina fue directa. Lo mismo ocurrió con *S. maxima* al triplicar su densidad a 1,38 x 10³ tricomas/ml a los 15 días con efluentes orgánicos usando 200 ml de inóculo¹².

Sin embargo, en las experimentaciones de cultivo de *A. jenneri* con medios nutritivos Zarrouk³ y f/2 Guillard¹⁴ a los 13 y 10 días se obtuvieron mayores densidades 2,97 x 10⁵ y 1,48 x 10⁴ tricomas ml⁻¹ respectivamente. Esto posiblemente se deba a que estos medios nutritivos son más completos en su composición que el medio preparado por residuos de anchoveta que fue una fuente alternativa de bajo costo.

Además una de las diferencias en su composición fueron las vitaminas y otra de ellas, la presencia de carbonatos que ayudan a mantener el pH por encima de 8 como ocurre con el medio Zarrouk.

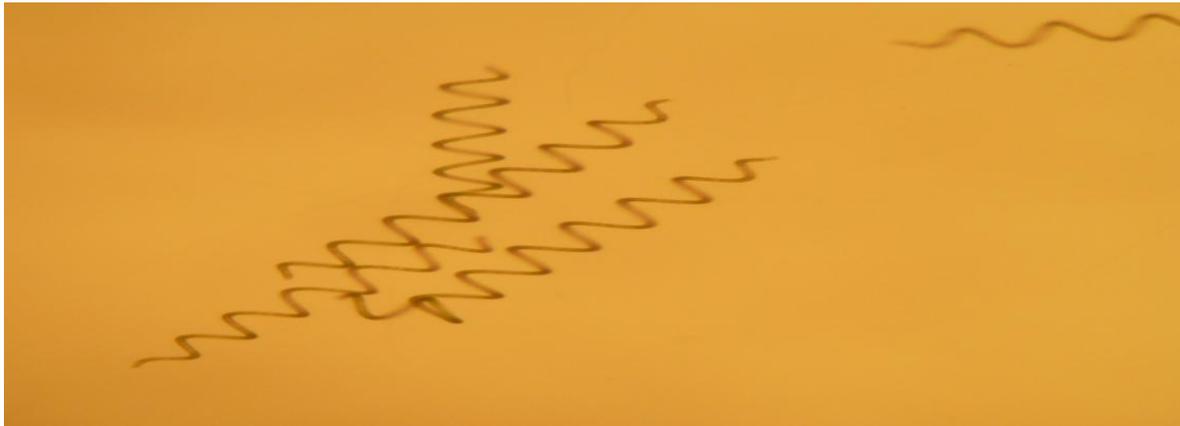


Fig. 2. Muestra de *A. jenneri* (10 X) obtenida del Humedal ChouChou de Salaverry.

En cuanto al crecimiento de *A. jenneri*, recién al sexto día los cultivos lograban el punto de inflexión en el crecimiento de espirulina y las tasas de crecimiento fueron de 0,304, 0,369 y 0,377 día⁻¹ para las concentraciones de 5, 10 y 15 ml, similar tasa de crecimiento de crecimiento (0,400 día⁻¹) se obtuvo con *S. platensis* emplear aguas residuales como medio nutritivo^{15,16}.

Al comparar estos resultados con los obtenidos por Luján³ y Alayo¹⁴ se puede decir que el tiempo de adaptación de *A. jenneri* fue el mismo debido a que necesita de la primera semana para adecuarse a las condiciones experimentales, este crecimiento no fue exponencial por las fluctuaciones en la segunda semana de cultivo. Esto se debe a que la, salinidad, pH y temperatura influyen en el cultivo. Aunque uno de los parámetros desencadenantes para la densidad y crecimiento de la espirulina fue la temperatura y en esta experimentación se mantuvo debajo del requerimiento óptimo (Tabla 2).

De mayo a diciembre en el 2013 no se encontró espirulina en las muestras de agua de los humedales El Tubo de Puerto Malabrigo, ChouChou (Salaverry), y Huanchaco. Una de las causas principales es que la espirulina necesita de temperaturas entre 25 a 35°C¹⁹ y aguas mineralizadas, pero en los humedales investigados las condiciones ambientales en cuanto a la temperatura, salinidad y pH fueron desfavorables para su crecimiento y reproducción. Así la Temperatura Superficial del Mar en el litoral de La libertad fluctuó entre 15 a 18°C²⁰ con características de año frío mientras que la temperatura mínima en los humedales El Tubo, ChouChou y Huanchaco fue de 17°C. Si se considera el rango óptimo de temperatura para espirulina esta se encontraba por debajo de su tolerancia entre 8 y 18°C provocando menor densidad y crecimiento.

Los humedales presentaron temperaturas de agua entre 17 a 19°C, muchas de las charcas estuvieron secas como ocurrió en el humedal El Tubo, donde además la salinidad fue 90 ppt como promedio, en Huanchaco ocurrió lo contrario en cuanto a la salinidad, muchas de las pozas artificiales estuvieron afectadas por la erosión marina e igualmente estaban secas y las que tuvieron agua presentaron una salinidad de 5 ppt. En Salaverry, en la salida preliminar de enero 2013 la temperatura estuvo en 24°C, pero en las muestras de agua de mayo a diciembre en este humedal no se encontró espirulina. Se observó la presencia de sal en la orilla y el olor del agua era fétido además la temperatura fluctuaba entre 17 a 18°C (Tabla 2). En la revisión microscópica de ésta agua se encontró protozoarios y euglenas lo que indicaba contaminación.

En el humedal de Huanchaco, la temperatura fluctuó entre 17 y 19 °C (Tabla 2), en su composición sólo se encontraron diatomeas y clorofitas y la salinidad fue de 5 ppt, menor a los otros dos humedales. En este humedal los tres parámetros de temperatura, salinidad y pH estuvieron por debajo del óptimo requerido para la espirulina.

El cultivo de espirulina con residuos de anchoveta se obtuvo en 15 días, con una relación directa entre la concentración y la densidad y tasa de crecimiento. Es muy importante experimentar con fuentes alternativas de medios nutritivos²¹ para cultivar microalgas, debido a que los residuos de pescado son una alternativa de disminuir costos porque se aprovecha los nutrientes de los residuos orgánicos para transformarlos en biomasa algal.

Aun falta experimentar, si un medio nutritivo con mayor concentración de materia prima (residuos de pescado) puede incrementar la densidad de tricomas y disminuir el tiempo de adaptación de la espirulina.

Algunas experimentaciones paralelas con este medio nutritivo de residuos de anchoveta en aguas provenientes de la crianza de peces ornamentales permitió un crecimiento de 9×10^6 cél/ml de *Chlorellavulgaris*, en tres días de cultivo (Fig.3).

Esto permite inferir que se logra el crecimiento en diferentes especies de microalgasy que se debe continuar experimentando con los parámetros de cultivo para la espirulina.

Tabla 1. Densidad (tricomas ml⁻¹) de *A. jennifer* obtenidas con concentraciones de 5,10 y 15 mL de residuos de anchoveta con muestra procedente del humedal ChouChou de Salaverry realizado de diciembre a enero 2013.

Medio nutritivo [mL]	Tricomas de espirulina a 0,1 ml Días de cultivo															Total 1mL	
	1	3	5	7	9	11	13	15	1	3	5	7	9	11	13		15
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	2	2	2	110
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	3	4	3	150
3	0	0	2	1	4	0	2	2	4	2	5	4	5	5	6	5	470
4	0	0	3	2	3	2	4	3	6	4	6	6	4	8	5	8	640
5	4	1	4	4	4	4	5	3	5	2	6	6	6	6	8	8	760
6	3	2	3	2	5	5	9	8	11	8	6	12	3	10	9	10	1050
7	0	2	4	5	3	4	4	6	1	12	4	10	8	10	8	13	940
8	2	2	4	2	12	4	10	10	8	8	7	12	12	12	14	14	1330
9	1	1	0	2	11	3	14	10	8	14	10	12	7	10	10	14	1270
10	5	6	6	8	10	8	12	12	11	16	10	18	12	18	18	15	1850
11	5	4	6	4	5	5	8	8	10	10	11	12	5	14	9	14	1300
12	4	4	6	6	8	8	8	10	10	10	12	15	12	16	10	16	1550
13	5	5	8	5	10	8	10	12	12	14	14	16	12	18	12	16	1770
14	5	6	8	6	10	10	10	14	14	14	14	22	16	24	16	16	2030
15	6	6	10	5	12	8	14	18	14	18	16	18	16	20	13	14	2080

Tabla 2. Salinidad (‰), pH y temperatura (°C) promedio del agua en los humedales El Tubo de Malabrigo, ChouChou de Salaverry y Huanchaco, y Temperatura Superficial del Mar promedio (TSM) del litoral La Libertad²⁰

Meses 2013	El Tubo –Malabrigo			Chou Chou–Salaverry			Humedal–Huanchaco			TSM (°C)
	S	pH	T	S	pH	T	S	pH	T	
	(‰)		°C	(‰)		°C	(‰)		°C	
Mayo			18			17			19	18
Junio			18			17			18	17
Julio			18			17			17	16
Agosto			17			17			17	15
Setiembre	90	10	17	10	9	18	35	5	17	16
Octubre			17			17			17	16
Noviembre			17			17			17	16
Diciembre			18			18			18	17



Fig. 3. Prueba del medio nutritivo de residuos de anchoveta en el crecimiento de *Chlorella Vulgaris*

CONCLUSIÓN

- En el cultivo experimental de *Arthrospira jenniferi* "espirulina" la mayor densidad y tasa de crecimiento fue de $2,08 \times 10^3$ tricomas mL⁻¹ y 0,377 día⁻¹ a una concentración de 15 mL de residuos de anchoveta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Volkman H, Imianovsky U, Oliveira J, Sant E. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in desalinated wastewater and salinated Synthetic medium: protein content and Amino-acid profile. *Brasil J Microbiol* 2008; 39: 98-101.
2. Ahsan M, Habib B, Parvin M, Huntington T. A Review on culture production and use spiruline as food for human and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries on Aquaculture circular-FAO, 2008.
3. Luján M. Cultivo en condiciones de laboratorio de *Arthrospira jenniferi* (Hassall) Stizenberg "espirulina" procedente de Puerto Chicama (La Libertad-Perú). Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2000.
4. Chamorro G, Salazar M, Gómez K, Pereira C, et al. Actualización en la farmacología de *Spirulina Arthrospira* un alimento noconvencional. *Arc Latinoamer Nutric* 2002; 52(3):232-240.
5. Ramírez L, Olvera R. Conocimiento acerca del alga *Spirulina (Arthrospira)*. *Interciencia* 2006; 31(9):1-5.
6. Jaime B, Villarreal H, García T, Gaxiola R. Empleo del polvo de *Spirulina platensis* en la alimentación de zoeas y mysis de *Litopenaeus schmitti*. *Avan Nutric Acuic* 2004; 617: 635
7. Jourdan J. Cultivo artesanal de *Spirulina*. <http://www.spirulinaresource.com/microgourden.html> 2000.
8. Costa J, Lindes G, Atala D, Mibielli G, Kruger T. Modelling of growth conditions for Cyano-bacterium *Spirulina platensis* in microcosmo. *World J Microbiol & Biotechnol* 2000; 16:15-18.
9. Ayala F, Ayala A. Cultiva tu espirulina. *Soluciones Naturales. Rev Athanor* 2010; 82: 87-90.
10. Andrade C, Vera A, Cardenas C, Morales E. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Rev Téc Ing* 2009; 2(29): 126-134.
11. Ratana C, Chirasuwan N, Siangdung W, Paithoonrangsarid K, et al. Cultivation of *Spirulina platensis* using pig wastewater in a semi-continuous process. *J Microbiol Biotechnol* 2010; 20 (3):609-614.
12. Pedraza P. Cultivo de *Spirulina* máxima para suplementación proteica. *Livestock Research for Rural Development* 1989; 1(1):1-10.
13. Fernández A. Taxonomía e Importancia de *Arthrospira jenniferi* (Hassall) Stizenberg "Spirulina" (Oscillatoriaceae – Cyanophyceae). En: 2da Jorn Invest Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú 1994; pp.112-117.
14. Alayo E. Crecimiento poblacional y nivel proteico de *Arthrospira jenniferi* "espirulina" en base a residuos de pescado. Tesis de Biólogo Pesquero. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2012.
15. Pelizer L, Carvalho J, Sato S. *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivations conditions. *Electronic J Biotech* 2002; 5(3): 251-257.
16. Mezzomo N, Galon A, Siebert R, Oliveira P, et al. Cultivation of microalgae *Spirulina platensis (Arthrospira platensis)* from biological treatment of Swine wastewater. *Cien Tecnol Aliment. Campinas* 2010; 30(1):173-178.
17. Planchón G, Fuentes R. Esquema de guía de cultivo de *Spirulina*. UNM San Marcos. Cochabamba, Bolivia. 1993.
18. Guillard R. Division rates. In: J. Stein (ed.). *Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements*. Cambridge Univ. Press. 1973; pp.289-311.
19. Rodríguez A, Triana F. Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. (*Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio. Tesis Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. 2006
20. IMARPE. Temperatura Superficial del Mar. [acceso: 19/3/2013] Disponible en: [Satelite.imarpe.gob.pe/uprsig/sst-provhtml.2013](http://satelite.imarpe.gob.pe/uprsig/sst-provhtml.2013).
21. Rosales N, Bermúdez J, Moronta R, Morales E. Gallinaza: un residual avícola como fuente alternativa de nutrientes para la producción de biomasa microalgal. *Bogota Colombiana de Biotecn.* 2007; 9(1): 41-48.