

8  
Rej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES  
Y ANTIMUTAGENICAS DEL ALGA *Spirulina máxima*  
UTILIZANDO *Drosophila melanogaster* COMO  
MODELO EXPERIMENTAL.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA DE ALIMENTOS  
P R E S E N T A :

TERESA MARIA DE LAS NIEVES CASADO HERNANDEZ



MEXICO, D. E.

1999.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

274061



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.

UNAM.

Facultad de Química.

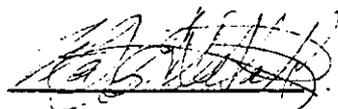
**Jurado asignado:**

**Presidente**            **Prof. Pedro Valle Vega.**  
**Vocal**                **Prof. Bernardo Lucas Florentino.**  
**Secretario**         **Prof. Ma. Esther de la Rosa Duque.**  
**1er. Suplente**      **Prof. Miguel Hernández Infante.**  
**2o. Suplente**       **Prof. Lucia Comejo Barrera.**

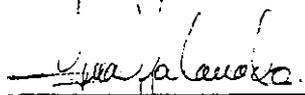
**Sitio donde se desarrolló el tema:** Laboratorio de Química Bioinorgánica,  
departamento de Química Inorgánica y Nuclear. División de Posgrado.

Facultad de Química. U.N.A.M.

**Asesor del tema:** Dra.Ma. Esther de la Rosa Duque.



**Sustentante:** Teresa María de las N. Casado Hernández.



UNAM.

Facultad de Química.

A la memoria de mis padres.

Agradezco a mi familia, en especial a mis hermanos Pepe y León, por estar siempre a mi lado y apoyarme en alcanzar mi sueño.

Quiero agradecer a la Dra. Ma. Esther de la Rosa por su guía y dirección en el presente trabajo, sus consejos y el apoyo que siempre me brindó en los tiempos difíciles.

También quisiera agradecer a la M.V.Z. Teresa Hernández el gran apoyo que me brindó en la realización de este trabajo.

Agradezco a la División de Posgrado por el apoyo y las facilidades que me otorgaron durante toda mi estancia como tesista.

Agradezco a Dios, por todo.

Y Job respondió a Yhavé:  
"Reconozco que lo puedes todo,  
y que eres capaz de realizar  
todos tus proyectos.  
Hablé sin inteligencia de cosas que no conocía,  
de cosas extraordinarias, superiores a mí.  
Yo te conocía sólo de oídas;  
pero ahora te han visto mis ojos.  
Por eso retiro mis palabras y hago penitencia  
sobre el polvo y la ceniza".  
Job 42:1

"Hay otros mundos,  
pero están en éste".  
Eluard.

**INDICE**

		<b>Pag.</b>
I	Resumen	1
II	Introducción	2
III	Objetivos	3
IV	Antecedentes	4
V	Metodología	24
VI	Resultados	32
VII	Discusión	80
VIII	Conclusiones	87
	Bibliografía	89

## I. Resumen.

Se presenta un estudio del Tecuitatl (*Spirulina máxima*). Se reseñan las características relevantes del habitat del tecuitatl, para dar paso al análisis de las propiedades biológicas y nutricionales de la *Spirulina spp.*; Es un alga cianoficea (azul-verde), en forma de filamento helicoidal. Del 60-71% de materia seca (MS) es proteína cruda (PC) de excelente calidad cuya composición es comparable al aminograma tipo propuesto por la FAO. Posee un alto contenido de pigmentos (entre 2.9 y 4.3g de carotenoides / kg MS) que pueden utilizarse con ventaja para la coloración en alimentos de abasto. Se examinan y presentan los resultados de algunos estudios de toxicidad del tecuitatl concluyendo su inocuidad y seguridad de uso para alimentación animal.

De acuerdo a los resultados del proyecto, utilizando *Spirulina* como complemento la velocidad de desarrollo de *Drosophila melanogaster* aumentó y como sustituyente encontramos que aumentó en forma proporcional a la dosis administrada, con respecto al testigo de levadura. El peso alcanzado por los individuos en el caso de medio de complemento fue mayor al alcanzado como sustituyente y en ambos casos notablemente mayor comparado con el testigo de levadura.

De acuerdo al estudio de *Spirulina máxima* como agente antimutagénico los resultados demuestran que tiene una importante acción antimutágena cuando es administrada como complemento y como fuente de proteína sustituyente.

## II. Introducción.

La contaminación del ambiente y la carencia de alimento representan para el hombre actual y del futuro dos importantes problemas a resolver de una forma rápida y eficiente; esta problemática puede resolverse en parte mediante el uso de microorganismos, los cuales tienen la propiedad de adaptarse con suma facilidad a una gran cantidad de medios de cultivo muy heterogéneos para reproducirse, sintetizar nutrimentos de cierta calidad y servir como filtros biológicos. Esto ha provocado que el investigador se interese por esta posibilidad, conocida hoy en día como proteína unicelular.

El gran interés que la *Spirulina* ha causado en los últimos años no se debe únicamente a su uso industrial sino a su importancia biológica y fisiológica. Hasta la fecha los problemas de alimentación continúan siendo de los principales temas en el desarrollo experimental ya que la demanda de consumo no ha sido compensada, principalmente en los países en desarrollo.

La *Spirulina*, como alimento, contiene todos los aminoácidos indispensables y ha sido ampliamente estudiada. (Boonyaratpalin et al., 1989 y Montalvo, 1974)

Actualmente se utiliza en:

- |               |                        |
|---------------|------------------------|
| • Avicultura  | Alimentos              |
| • Acuicultura | Agricultura            |
| • Medicina    | Piscicultura de ornato |
| • Industria   |                        |

Es importante considerar que además de los variados usos que presenta como complemento proteínico y de pigmentación en la avicultura y ganadería, la *Spirulina* puede resultar ser un alimento funcional que presenta un efecto protector frente a problemas de genotoxicidad en los animales a los que se les complementa la dieta con ella, e incluso en el humano.

### III. Objetivos.

- Comprobar la calidad nutrimental y determinar la calidad funcional del alga *Spirulina maximus* como agente antimutagénico en *Drosophila melanogaster*.

#### Objetivos específicos:

1. Determinar el posible aumento de peso en larvas de *Drosophila melanogaster* desde la eclosión hasta las 96 hrs de edad debido a la ingestión de *Spirulina* como sustituyente proteínico y/o como complemento.
2. Determinar la velocidad de desarrollo en larvas de *Drosophila melanogaster* tratadas con *Spirulina*.
3. Determinar el grado de fecundación, fertilidad y viabilidad de *Drosophila melanogaster* en tratamiento con *Spirulina*.
4. Evaluar la capacidad antimutagénica de *Spirulina* en *Drosophila melanogaster* frente a mutágenos potentes.

#### IV. Antecedentes.

En la actualidad uno de los problemas más graves a los que se enfrentan los países en desarrollo es la desnutrición. Debido a la fuerte demanda de consumo humano existente, la producción de cereales no ha resultado suficiente haciéndose necesaria la importación de los mismos; parte de los granos disponibles son destinados a la alimentación animal, principalmente a los monogástricos. En estos países es de gran importancia el desarrollo de nuevas fuentes para alimentar al ganado, evitando así el uso de productos que podrían ser consumidos directamente por el hombre sin descuidar la productividad animal y desarrollando tecnología de producción adecuada a las condiciones particulares en que se lleva a cabo y no adoptando técnicas generadas por países más desarrollados, basadas en el uso de granos, que afectan la balanza comercial de los países en desarrollo. Por tal motivo los recursos destinados a la investigación para desarrollar recursos alimentarios son cada vez mayores.

Se han iniciado trabajos aplicados en la obtención de nutrimentos a partir de microorganismos (en su mayoría unicelulares) los cuales se caracterizan por su alto contenido en proteína, razón por la que se les conoce con el nombre genérico de proteína unicelular (PU). Generalmente el resultado del proceso productivo es la célula deseada del organismo cultivado, con más del 50% de proteína.

Para obtener la PU se han realizado experimentos a partir de cultivos de algas, bacterias, levaduras, mohos y hongos superiores. Estos organismos presentan dificultades singulares tanto en materia de cultivo como en la utilización del producto final.

El consumo de las levaduras está limitado por el alto contenido de ácidos nucleicos de estas especies, a su vez el cultivo de las bacterias y algunas algas resulta peligroso por la posibilidad de contaminación con microorganismos patógenos.

El cultivo de tecuitlatl (*Spirulina máxima*) ha demostrado ser más fácilmente alcanzable ya que la probabilidad de contaminación con microorganismos patógenos es limitada debido a la alcalinidad del agua en la que crece, por otra parte se ha encontrado

que el contenido de ácidos nucleicos (4%) es mucho menor que en las levaduras y bacterias. (Clement, 1975) ( Wachowics y Zagrodzki, 1976).

Una característica importante del tecuitlatl es su alto contenido de proteína que conforma más del 60% de la materia seca y la excelente calidad de las proteínas. Su alto contenido de pigmentos, 4.3g/kg masa seca (MS) de  $\beta$ -carotenos, lo cual permite utilizarlo como único aporte de los mismos con lo que se logra la pigmentación de productos avícolas. Esta coloración es importante en la aceptación del huevo o la carne por parte del consumidor en algunos países.

## **Tecuitlatl.**

### **1. Historia.**

Los aztecas que llegaron a constituir una de las civilizaciones más desarrolladas de la América precolombina, se establecieron alrededor del año 1325 en una isla rocosa del Lago de Texcoco. Su alimentación tenía como principales constituyentes al maíz, frijol, fruta y aves. La estancia de los aztecas en el Lago los orientó a buscar alternativas para complementar su alimentación.

Francisco Hernández, médico y naturista español, es autor de la siguiente crónica: en algunos sitios del Lago de Texcoco brota el tecuitlatl que gana al punto la superficie de las aguas, de donde se saca con redes o se apila con palas. Una vez secado un poco al sol, los indios le dan forma de tortas pequeñas y lo ponen sobre hierbas frescas, se guarda hasta por un año. Se come con las tortillas comunes, tiene sabor a queso y cierto olor a cieno. Es comestible sólo en cantidades reducidas (es decir, en estas cantidades era consumida por los indígenas) y en vez de sal para condimentar al maíz. (en Durand y Chastell, 1980).

Fray Toribio de Benavente llamado Motolinía, quien llegó al Valle de México en el año 1524, tres años después de la caída del imperio azteca, realizó la siguiente descripción: sobre las aguas del Valle de México crece una especie de todo muy fino; en cierta época del año, cuando está más espeso, los indios lo colectan con redes muy finas hasta que sus acales o canoas se llenan. Sobre la tierra o la arena de las cercanías forman capas alisadas de dos a tres brazas (3.4-5.1m) de largo y un poco menos de ancho, permitiendo el secado al sol, hasta que se forma una torta de dos

dedos (3.6cm) de altura; en pocos días se seca reduciéndose el grosor hasta quedar de un espesor similar al de un azulejo. Los indios le comen mucho y lo aprecian bastante. Quien comparta los condimentos empleados por los indios encontrará que tiene mucho sabor y un gusto ligeramente salado.

Tecuitlatl es una palabra nahuatl que significa excremento de piedra, sin embargo esto no implica un sentido negativo en la expresión. Los aztecas llamaban a un hongo que crece sobre el maíz, muy apreciado por ellos, *cuitlacoche* que significa excremento durmiente; mientras que al oro se le decía *teucuitlatl*, es decir, excremento de dioses o *tonotiuhcuitl* que significa excremento del sol. Más aún el emperador Moctezuma llamó a su hijo *Cuitlahuac* que significa lleno de excremento.

Esta alga crece en otros países donde se consume desde hace mucho tiempo, tal es el caso de los *kanenbus* (África) que obtienen la mayor parte de la proteína a partir de la *Spirulina platensis*, esperan a que los vientos la acerquen a la orilla, la recojen concentrándola en una masa espesa. Las mujeres la llevan en una especie de calabaza hasta unos hoyos excavados en la arena, donde dejan el alga hasta que ha perdido la mayor parte de la humedad. Después se completa la desecación al sol sobre unas planchas y se corta la torta resultante en trozos pequeños; los *kanenbus* llaman a este producto *dihe* y lo comen como una salsa espesa, preparada a base de tomate, chile y otras especies. Estos últimos llegaron al continente africano como resultado del tráfico de esclavos. Mientras los *kanenbus* continuaron utilizándola como fuente de proteína, en el México colonial cayó en el olvido, siendo hasta fines de los años sesenta que se le ha vuelto a poner atención.

La identificación definitiva del *teucuitlatl* se realizó en África a raíz del interés mundial por desarrollar fuentes alternativas de proteína desatado en los años cincuenta. El alga africana se clasificó como *Spirulina platensis*, mientras que a la mexicana se le llamó *Spirulina máxima* o *Spirulina gottieri*.

En 1968 el Instituto Francés del Petróleo (IFP) empezó a interesarse por el alga empleada por los *kanenbus* para preparar el *dihe*, iniciando experimentos con el objeto de conocer su potencial nutricional. (Furst, 1978).

Éstos descubrimientos aunados al interés por desarrollar alimentos de alto valor proteínico, originaron una serie de investigaciones sobre el *teucuitlatl*, destacando las del IFP junto con las llevadas a cabo en Sosa Texcoco. En México se implementó una

industria (Sosa Texcoco) dedicada a la obtención de sosa en el Lago, donde tuvo algunos problemas con un alga que se desarrollaba en el mismo. Al tener conocimiento de que los aztecas la consumían, comenzaron a buscar la forma de aprovecharlas; el IFP ofreció su colaboración y se iniciaron una serie de investigaciones sobre el tecuitatl, principalmente referidas al consumo humano. Se instaló una planta para procesar el tecuitatl cosechado en las orillas del 'Caracol', (un inmenso evaporador solar de 3200 m de diámetro y 900 ha de superficie) del Lago de Texcoco, con una producción cercana a las 500 Ton de alga seca por año. (Durand-Chastell, 1980).

## 2. Hábitat de *Spirulina*.

En las lagunas saladas o alcalinas que se forman en las zonas áridas o semiáridas que poseen valles cerrados, debido a que el agua se recoge en cuencas sin salir al mar, concentrándose las sales disueltas en el agua. Si es el caso de que las rocas de los valles estén formadas por sedimentos marinos, se originan lagos salados con base en cloruros y si las rocas son volcánicas, se da lugar a lagunas alcalinas con alto contenido en carbonatos. El caso más común es una combinación de sedimentos marinos y formaciones volcánicas en las rocas, por lo tanto, existe una mezcla de cloruros y carbonatos en las aguas de las cuencas.

El desarrollo del tecuitatl se lleva a cabo en aguas muy alcalinas, con un pH entre 9-11 y con una alta concentración de dióxido de carbono, condiciones que caracterizan a las lagunas alcalinas. El contenido de carbonatos proporciona la disponibilidad del dióxido de carbono, existiendo como requisito una gran cantidad de luz solar sobre el medio en que se encuentra el alga.

La temperatura media es de 30 a 40 °C.

### Características del tecuitlatl.

#### a) Morfología:

Es un alga cianofícea (azul-verde), en forma de filamento helicoidal, a esta configuración se debe el nombre de *Spirulina*. Cada filamento contiene de 250-400 células y mide entre 200 - 300 micras de largo y de 5 - 10 micras de ancho. Su clasificación es:

- Reino: Vegetal
  - Subreino: Protófitos
  - Subdivisión: Seizophyta
  - Clase: Cyanophiceae
  - Familia: Oscillatoriaceae
  - Genero: *Spirulina*
  - Especie: *S. máxima* (en México).
- (Enciclopedia, 1969 y Mondragón, 1984 y Nason, 1979 y Scagel et. al., 1980)

Debido a su agrupación multicelular algunos investigadores creen inconveniente que se le clasifique entre las fuentes de PU. Sin embargo debido a que el nombre genérico de PU se utiliza para indicar un concepto particular de nutrición, más que para ilustrar la morfología del organismo empleado, en este trabajo la consideraremos una fuente de PU, en atención a que forma parte del grupo de soluciones al problema alimenticio basadas en microorganismos.

#### b) Capacidad nutritiva:

Todos los análisis reportados a continuación se realizaron sobre el tecuitlatl desecado, presentación utilizada con fines alimenticios.

## b.1) Análisis bromatológico.

Se utiliza como un medio para conocer la composición química gruesa de un alimento y con ello tener una idea general sobre el potencial del producto.

Tabla 1. ANÁLISIS PROXIMAL DEL TECUITLATL

Referencia	Durand- Chastell,1980	Sautier- Tremolier1975	Vermorel <i>et.al.</i> 1975	Narashima <i>et.al.</i> 1982	Miller 1968
Proteína cruda	60-71%	55.5-73.7%	59.2-80.7%	58.5%	65%
Fibra cruda	0.1-0.9%	-	-	5%	-
Lípidos	6-7%	10.05-12.7% por diferencia	-	6.5%	2%
Carbohidratos	13-16%	17.4-21.9%	-	8.5%	20%
Energía Kcal/g	-	-	4.96-5.53%	-	-
Cenizas	6.4-9%	3.8-7.4%	4.05-10.52%	9%	-
Humedad	4-7%	0.8-7%	6.84-9.19%	6.5%	-

\*Durand-Chastell,1980, Sautier-Tremolier1975, Vermorel *et.al.*1975, Narashima *et.al.*1982, Miller1968

El análisis químico proximal del tecuitlatl lo caracteriza por un alto contenido proteínico. La composición del medio de cultivo influye determinadamente en los nutrientes de cualquier fuente de PU. Además los diferentes procesos de secado afectan el análisis químico proximal. Otra fuente muestra los siguientes datos:

**Tabla 2. ANÁLISIS PROXIMAL DEL TECUITLATL (2).**

<b>Humedad</b>	<b>12.8%</b>	<b>Cenizas</b>	<b>6.8%</b>
<b>Proteína cruda</b>	<b>65.4%</b>	<b>Extrac. libre de N</b>	<b>13.2%</b>
<b>Extracto etéreo</b>	<b>0.5%</b>	<b>Calcio</b>	<b>3.0%</b>
<b>Fibra cruda</b>	<b>1.3%</b>	<b>Fosforo</b>	<b>0.99%</b>

Montalvo, 1974.

Este análisis reportado por Montalvo (1974), muestra también un alto contenido de proteína pero además una mayor humedad en el producto analizado lo que indica que el proceso de desecado no fue satisfactorio.

#### b.2) Proteínas.

Como resultado de un gran número de análisis se informa la cuantificación de un 60% de proteína cruda (PC), basado en materia seca (MS) como valor mínimo y como valor máximo 71% PC MS. (Sosa Texcoco, 1978). Al analizar alga procedente de África (*S. platensis*), se determinó un 58.5% PC MS. (Narashima et.al., 1982).

La proteína del tecuitlatl muestra una composición de aminoácidos (a.a.), muy similar al de la yema de huevo, considerando el aminograma tipo por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), existiendo una gran similitud en el perfil de a.a. del tecuitlatl con el patrón de la FAO-OMS. (Durand-Chastell, 1980 y FAO, 1973).

Tabla 3. AMINOGRAMA DEL TECUITLATL

Aminoácidos indispensables	Durand - Chastell Spirulina máxima.		Vermorel et.al. S. platensis		Narashima S.platensis	Patrón FAO-OMS
	Mínimo (%)	Máximo (%)	Mínimo g/16gN	Máximo g/16gN	g/16gN	g/16gN
Fenilalanina	2.77	3.95	3.90	4.30	3.63	6.08
Isoleucina	3.69	4.13	5.45	5.96	4.93	4.00
Leucina	5.56	5.80	7.90	8.40	7.95	7.04
Lisina	2.96	4.00	3.95	4.95	4.34	5.44
Metionina	1.59	2.17	1.85	2.05	1.99	-
Treonina	3.18	4.17	4.30	4.65	4.02	4.00
Triptófano	0.82	1.13	1.25	1.30	0.88	0.96
Valina	4.20	6.00	5.90	6.00	5.70	4.96
a.a dispensables			Mínimo (%)	Máximo (%)		
Alanina	4.97	5.82	6.25	6.70	6.91	-
Arginina	4.46	5.98	6.90	7.60	6.24	-
Ác. Aspártico	5.97	6.43	9.35	10.40	8.97	-
Cistina	0.56	0.67	0.75	1.00	0.78	-
Glicina	3.17	3.46	4.50	4.80	4.63	-
Ác. Glutámico	8.29	8.94	14.85	16.10	15.10	-
Histidina	0.89	1.08	1.50	1.70	1.11	-
Prolina	2.68	2.97	3.05	3.25	-	-
Serina	3.18	4.00	4.30	4.55	3.65	-
Tirosina	-	-	3.85	4.20	3.46	-

Durand - Chastell, H. 1980. Vermorel, et.al.1975. Narashima, et. al. 1982, FAO-OMS, 1973.

La proporción de aminoácidos (a.a.) indispensables en esta alga al compararse con la de otras fuentes de PU resulta superior.

**Tabla 4. CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS INDISPENSABLES EN ALGUNAS FUENTES DE PROTEÍNA UNICELULAR.**

Fuente PU	Substrato	Val %	Leu %	Ile %	Phe %	Tryp %	Thr %	Lys %
FAO-OMS**	-	50	70	40	61	10	40	54
<i>S.platensis</i> **	-	57	80	49	36	9	40	43
<i>S.máxima</i> **	-	65	80	60	50	14	46	46
<i>Cándida</i> *	gas/aceite	58	78	53	48	13	54	78
<i>Saccharomyces</i> *	suero de leche	54	61	40	28	14	58	69
<i>Scerevisiae</i> *	melaza	55	79	55	45	12	48	82
<i>Aspergillus</i> *	extracto de frijol	52	57	42	38	21	50	59
<i>Fusarium</i> *	almidón	66	60	40	40	-	46	69
<i>Gliocadium</i> *	residuos almidón	47	62	38	30	14	43	53
<i>Trichoderma</i> *	paja de cebada	44	58	35	87	-	49	44

\*Narashima et al., 1982 y \*\*Litchfield, 1978.

Para determinar la calidad nutritiva de PU se utilizan técnicas de evaluación como digestibilidad de la proteína (PD), relación de eficiencia proteica (REP) y valor biológico (VB). Refiriéndonos a tecuitlatl tenemos un 84-86% PD, 2.19 y 2.09 REP y 72 VB; cabe destacar que la adición de metionina o su análogo hidroximetionina, permite tener una REP y un VB similar al de las proteínas animales (Litchfield, 1978). La adición de metionina al tecuitlatl desecado eleva sustancialmente su calidad proteínica, llegando incluso a alcanzar el estandar de referencia de la combinación de caseína y metionina.

(Decken, 1980). Analizando el aminograma se nota que el contenido de lisina y triptófano permiten al tecuitlatl complementar la deficiencia de estos a.a. en la proteína obtenida de los cereales por lo que podría ser un buen suplemento al ingerir una dieta rica en granos. (Narashima et. Al., 1982).

Realizando una comparación entre la proteína vegetal y la animal, la principal diferencia entre ambas, suponiendo perfiles de a.a. similares, radica en los productos asociados en cada una. La proteína animal se obtiene relativamente pura siendo de fácil digestión y metabolización, por el contrario, la mayoría de las plantas sintetizan proteína asociada a celulosa haciéndola poco digerible. Esto no es un problema en el caso del tecuitlatl ya que sus paredes se componen de mucoproteínas. (Durand-Chastell, 1980). Debido a la constitución de la pared celular, no requiere de los procesos drásticos de secado que se emplean en otras algas con objeto de romper la pared celular y que deterioran la calidad de la proteína contenida en el microorganismo. (Decken, 1980).

### b.3) Lípidos.

El tecuitlatl posee una cantidad moderada, predominando los ácidos grasos indispensables y entre estos el ácido  $\gamma$ -linoleico, que es indispensable en la alimentación de peces lo que le confiere un alto valor como nutriente en la piscicultura. (Sosa Texcoco, 1978).

### b.4) Carbohidratos.

La ramnosa es el carbohidrato presente en mayor cantidad (10%). Se encontró que en total posee un 15% MS de estos. (Quillet, 1975).

### b.5) Pigmentos.

La adición de pigmentos en avicultura es una necesidad en los países donde el consumidor exige una coloración amarilla o naranja en el huevo y carne del ave. Añadir colorante a la ración de las aves afecta la economía del avicultor, pero la aceptación del producto logrado obliga a usarlos. Los pigmentos representan un 15% del costo en el alimento avícola en México por lo que es importante encontrar alimentos que provean el color en forma económica e inocua. El uso de pigmentos artificiales es inconveniente por su alto precio, por la dificultad de lograr el resultado deseado y su posible toxicidad. (Buenrostro, 1982).

Entre los pigmentos contenidos en la espirulina se encuentran:

- **Clorofila:** como pigmento verde, los tipos de clorofila contenida se denominan A y B en una proporción de 3:1, la clorofila es una porfirina que contiene magnesio. Contenido en *Spirulina*: 7.6g/kg MS. (Chris,1978 y Sosa Texcoco,1978).
- **Fitol:** es un diptereno derivado de la clorofila, procedente de la hidrólisis de la misma, en promedio contiene 800mg/kg MS. (Sosa Texcoco,1978 y Lehninger,1985 y Spinetti 1984).
- **Ficobilinas:** son tetrapirroles lineales, en contraste con la clorofila que es un tetrapirrol cíclico, difieren también en que carecen de Mg unido y se hayan conjugadas con proteínas específicas: C-ficocianina (azul), C-ficoeritrina (rojo), Alocianina (azul). (Sosa Texcoco,1978 y Lehninger,1985 y Spinetti 1984 y Conn et.al.,1978).
- **Carotenos:** son hidrocarburos tetraterpénicos, lipoides simples, su contenido en la spirulina es de 4g/Kg MS. (Boonyaratpalin,1989 y Montalvo,1974 y Sosa Texcoco,1978) y son:

$\beta$ -caroteno	26%	$\beta$ -caroteno-5,8-epóxido	5%
Equinona	7%	Criptoxantina	23%
Mixoxantofila	24%	Zeaxantina	9%

Todos los carotenoides son de origen vegetal, si se encuentran en los animales es debido a que se han tomado de los mismos directa o indirectamente. (Boonyaratpalin,1989 y Montalvo,1974 ). Las características de algunos carotenos de la *Spirulina* son:

Tabla 5. CARACTERÍSTICAS DE CAROTENOS DE *SPIRULINA*.

Caroteno	Precursor de vit.A	Color	Otro origen
$\beta$ -caroteno	precursor	no pigmenta	Zanahorias
Criptoxantina	precursor	amarillo	Maíz amarillo
Equinona	no precursor	rojo	Erizo de mar
Zeaxantina	no precursor	anaranjado	Alfalfa
Mixoxantofila	no precursor	café	Algas

Buenrostro,1982 yNason,1978 ySpinetti,1984)

Lo anterior permite valorar el alto contenido de carotenoides en el tecuitlatl ( de 2.9 a 4.3 g/kg), de los cuales casi la mitad está formada por  $\beta$ -caroteno y la mayor parte del resto son xantofilas de gran capacidad colorante. (Durand-Chastell,1980). La capacidad colorante del tecuitlatl ha sido evidenciada en estudios realizados anteriormente. (Peraza, 1976) , (Silverio, 1976). La pigmentación lograda es similar a la obtenida con la harina de flor de zempazuchil y superior a la de productos artificiales.(Blum, 1975). El añadir 15 % de tecuitlatl a la ración para gallinas provoca un aumento en el número de huevos obtenidos durante el ciclo de postura, aunque estos huevos tienden a ser un poco más ligeros.

#### b.6) Composición química.

**Tabla 6. CONTENIDO DE MINERALES EN LA SPIRULINA.**

Componente	%
Calcio (mg/100g).*	0.65
Fósforo (mg/100g)*.	8.90
Hierro (mg/100g).*	5.9
Sodio (mg/100g).*	1.00
Cloro (mg/100g).*	4.40
Potasio (mg/100g).**	0.48
Magnesio (mg/100g).**	1.52
Manganeso (mg/100g).**	2.6
Molibdeno (mg/100g).**	0.15
Selenio (mg/100g).**	0.25
Zinc (mg/100g).**	1.8

\*L.Serrano (1994). \*\*Spirulina-Analysis <http://www.spirulina.nl/tabel.html> (1999).

b.7) Vitaminas del alga *Spirulina*.

Las vitaminas presentes en la *Spirulina* son:

- Tiamina (B1) : 39 mg/kg
  - Riboflavina (b2) : 40mg/kg
  - Niacina : 107mg/kg
  - Pantotenato de calcio : 11.2 mg/kg
  - Piridoxina (b6) : 3.0 mg/kg
  - Cianocobalamina (b12) : 2.8 mg/kg
  - Ácido fólico : 0.56 mg/kg
  - Colina : 0.0 mg/kg
  - Inositol : 340.0 mg/kg
  - Biotina : 0.4 mg/kg \*
  - $\delta,\alpha$ -tocoferol (E) : 15mg/kg \*
- (L.Serrano 1994). \* *Spirulina-Analysis* <http://www.spirulina.ni/tabel.html> (1996).

b.8) Contenido de metales en *Spirulina* :

En el alga encontramos cuatro metales distintos en las siguientes cantidades:

- Arsenico : < 0.1 mg/kg
  - Plomo : < 0.5 mg/kg
  - Cadmio : < 0.25 mg/kg
  - Mercurio : < 0.01 mg/kg
- Spirulina-Analysis* <http://www.spirulina.ni/tabel.html> (1996).

## b.9) Toxicidad.

Uno de los principales problemas que se han encontrado al utilizar PU es el alto contenido de aminoácidos que pueden causar cálculos renales o gota en los organismos vivos. El contenido máximo de ácidos nucleicos en el tecuitlatl, es del 4% MS, mucho menor al de otros productores de PU ya que algunas bacterias llegan a tener hasta 16% MS y en las levaduras se ha determinado hasta 11% MS, por lo que el uso del tecuitlatl no se limita para alimentación. (Clement,1975 y Wachowicz, Zagrodzki,1976 y Durand-Chastell,1980 y Litchfield,1978).

El 3% de ácidos nucleicos es un nivel adecuado, mencionando los diferentes procesos químicos y enzimáticos que se han desarrollado para disminuir el porcentaje de ácidos nucleicos en la PU que los tiene en exceso. La ingestión de máximo 2g diarios de ácidos nucleicos también es un excelente nivel de seguridad para adultos sanos. Con lo que hasta 50g al día de tecuitlatl permitirán mantenerse dentro de este estricto límite, aportando de 30-40g de proteína.(Litchfield,1978 y Yaslein et.al.,1968).

Actualmente los usos de la espirulina son:

- **Como alimento proteínico:** es un elemento de aporte proteico en la dieta. Su porcentaje de proteína varía de 55-80%, por lo que se le considera un concentrado proteínico.
- **Alimentación humana:** entre los componentes de la dieta del hombre el que presenta mayores dificultades para su producción y/o adquisición es la proteína, el tecuitlatl es un concentrado de la misma con las proporciones de sus aminoácidos muy similar al patrón propuesto por la FAO-OMS como proporciones ideales para consumo humano. (Durand-Chastell, 1980 y FAO, 1973). La adición de metionina la convierte en una proteína equiparable a la animal. (Litchfield, 1978 y Decken, 1980). Algunos investigadores de la U.N.A.M. resaltan la importancia de este nutrimento al indicar que los habitantes del Valle de México sobrevivieron a la época de hambre de 1448-1451 gracias a la disponibilidad del tecuitlatl. (Gaceta UNAM, 1984). Considerando el contenido de ácidos nucleicos de 4% pueden consumirse hasta 50g del alga sin riesgo alguno y con un aporte de 30-40g de proteína.
- **Nutrición de animales:** para animales monogástricos que requieren de un alto aporte de proteína. También en rumiantes se ha aplicado resultando ser útil como única fuente de proteína para borregos. (Barragán, 1975); a su vez Priestley (1976) confirma el potencial del alga como fuente proteica para los rumiantes; incluso compara la eficiencia productiva del pastoreo con la de varias algas, como se ve en la siguiente tabla:

**Tabla 7. RENDIMIENTO DE CARNE ESPERADO EN BOVINOS CON DISTINTAS RACIONES\***

Fuente de proteína	Kg de proteína de carne de res/ha al año
Tecuitlatl	2430
Algas filamentosas	2000
Chlorella	1570
Ulothrix	166
Pastos	67

\*Considerando una conversión 10:1  
Modificado de Priestley, 1976

Como puede verse, el rendimiento esperado de los animales alimentados con tecuitlatl supera a los otros.

En cerdos se aplica a un límite de 25% de la proteína total de la dieta sin encontrarse efectos indeseables.(Fevrier y Seve,1975).

- **Avicultura:** favorece la ganancia de peso en la cría de pollos y el aumento en la pigmentación de carne e incremento en el número de postura.(Sosa Texcoco.1978) Un buen número de autores se han interesado por la capacidad del tecuitlatl para pigmentar estos productos comparándolo con otros pigmentos artificiales y la flor de zempazuchil, concluyendo en favor del alga.(Buenrostro,1982 y Montalvo,1974 y Peraza,1976 y Silverio,1976). Administrar una ración con 15% de tecuitlatl a las gallinas de postura, redundará en un aumento del número de huevos por ciclo de postura aunque estos tienden a ser un poco más ligeros.(Blum,1975).
- **Acuicultura:** en la alimentación de peces, moluscos y crustáceos. (Sosa Texcoco.1978).La harina de pescado es casi insustituible en la dieta de los peces pero tiene dos problemas importantes, su precio es alto y su producción es limitada problemas que afectan la industria piscícola. El tecuitlatl tiene un efecto favorable en el rendimiento como fuente de proteína ya que tiene las condiciones biológicas y económicas necesarias para sustituir la harina de pescado. (Sandbank y Hopher,1980).
- **Medicina:** aplicación en cirugía como anticoagulante y antibacteriano, se le ha reconocido un polieno antimicrobiano con acción fuertemente tóxica para hongos y levaduras, contiene un alto porcentaje de ácido  $\gamma$ -linoleico reconocido como hipotensor.(García,1985 y Montalvo,1974).
- **Industria:** se aplica en gomas vegetales, mucilagos, espesantes, derivados para cosméticos, detergentes, pinturas, lubricantes y otros aditivos. (García, 1985)
- **Alimentos:** se utiliza en consomés, salsas o como entremés, el wacame en Japón. (García. 1985).
- **Agricultura:** en el mantenimiento de la fertilidad del suelo ya que tiene una gran capacidad de fijación de nitrógeno, especialmente en las regiones donde se cultiva arroz. La presencia de algas azules en los campos inundados reduce la necesidad de fertilizantes ricos en nitrógeno. (Scaget,1980).

- Piscicultura de ornato: contribuye al mejoramiento del crecimiento, la coloración y la sobrevivencia de los peces. Se han realizado pocos estudios sobre este último y no se conoce a que nivel presenta el mejor efecto pigmentante. (García, 1985).

Es importante considerar que además de los variados usos que presenta como complemento proteínico y de pigmentación en la avicultura y ganadería, la *Spirulina* puede resultar ser un alimento funcional que presenta un efecto protector frente a problemas de genotoxicidad en los animales a los que se les complementa la dieta con ella, e incluso en humanos.

La exposición a concentraciones potencialmente tóxicas de elementos inorgánicos es un problema mundial. Los ácidos nucleicos y enzimas metabólicas y de reparación, pueden interactuar como compuestos químicamente inertes como los metales, que al penetrar en las células se transforman en metabolitos químicamente activos. Dado que esos compuestos tienen actividad genotóxica con consecuencias carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas, es necesario investigar los mecanismos de repuesta a la exposición de tales compuestos y en qué condiciones se pueden disminuir los efectos deletéreos.

Se tienen evidencias experimentales *in vivo* utilizando células somáticas de *Drosophila*, de los efectos moduladores sobre el daño genético inducido por la radiación ionizante y compuestos químicos como los metales cuando se administran clorofilas, carotenos y vitamina C; por lo que es necesario investigar la interacción de tales compuestos con las enzimas que intervienen en la detoxificación o antimutagenicidad. Los metales pesados se encuentran en forma natural en el medio ambiente y algunos de ellos juegan un papel importante en el metabolismo celular. Su concentración en el medio y en los tejidos vegetales y animales ha aumentado debido al desarrollo industrial en todo el mundo, aumentando el riesgo a que la humanidad esta expuesta y que se expresa como: teratogénesis, carcinogénesis y mutagénesis.

La importancia que tiene evaluar el incremento de las tasas de mutación en los organismos expuestos a mutágenos químicos, ha motivado el implemento de experimentos en numerosos laboratorios, para la determinación de la actividad

mutagénica de los metales pesados. Las investigaciones realizadas con dicha finalidad, a demostrado gradualmente que en los sistemas biológicos probados se inducen cambios significativos en el material genético. El rápido desarrollo de la tecnología de los últimos años, ha incrementado la posibilidad de que ocurra daño genético en los seres vivos, como resultado de la contaminación del medio ambiente debida al uso cada vez más amplio de las radiaciones y de diversos tipos de agentes químicos. Considerando que las consecuencias del daño mutacional en el genoma de los seres vivos se transmitirá a las generaciones futuras más que por los individuos expuestos, el estudio de los procesos mutacionales resulta de especial interés por las implicaciones que tiene en los campos de la genética de la carcinogénesis y de la teratogénesis. Se han identificado como mutágenos a diferentes categorías de compuestos químicos, entre los cuales se encuentran: aditivos alimentarios, drogas, pesticidas, cosméticos, contaminantes industriales y de ocurrencia natural, etc. (de Serres, 1976).

Se ha demostrado además que las moléculas de ADN pueden interactuar también con compuestos químicamente inertes, que al penetrar en las células se transforman en metabolitos químicos activos (Miller, 1970). Los diferentes tipos de mutágenos químicos tienen mecanismos de acción específicos, por lo que se hace necesario realizar la evaluación de la actividad mutagénica particular que muestran las diversas sustancias a las que pueden estar expuestos los seres humanos. Tal evaluación se fundamenta en los siguientes principios:

- Ningún mutágeno químico debe ser liberado al medio ambiente, o bien no debe permitirse su empleo si se cuenta con un sustituto que no sea mutagénico.
- Debe existir una íntima relación entre los procedimientos seguidos para excluir del mercado, así como para reglamentar el uso de los agentes mutagénicos a los que el hombre puede ser expuesto.
- Si los beneficios seguidos con el uso de un mutagénico resultan ser muy importantes, al hacer un análisis riesgo-benefico puede permitirse que se utilice sólo bajo su adecuado control (Bridges, 1976; Fomenko et al; 1973).

Entre los mutágenos que se encuentran en el medio ambiente en forma natural, cuyas concentraciones se han incrementado notablemente en zonas industriales se puede mencionar a los metales. Dado que algunos tienen actividad carcinogénica, se han realizado investigaciones con diferentes sistemas de prueba para determinar si son así mismo, mutagénicos (Sirover y Loeb, 1978; Miller, 1970).

Se han realizado estudios utilizando compuestos de ocurrencia natural en los alimentos con el fin de evaluar su efecto antimutagénico ante mutágenos en el ambiente. Entre estos trabajos tenemos el siguiente:

El cromo es un elemento abundante en la naturaleza y aunque no se encuentra libre, sus compuestos están diseminados en el suelo, el aire y el agua produciendo efectos nocivos tanto en el ambiente biótico como en el abiótico. Constituye un riesgo a la salud porque induce, entre otros trastornos, fibrosis y cáncer de pulmón en personas ocupacionalmente expuestas. A nivel celular el cromo hexavalente produce rupturas simples en el ADN y puentes cruzados ADN-proteínas, intercambio de cromátidas hermanas, errores en la reparación del ADN *in vitro* y transformación celular.

Graf *et al.* (1992), utilizando la técnica de mutación y recombinación somáticas (SMART), encontraron que el cromo VI es altamente genotóxico en *Drosophila* y descubrieron que el origen del 90% de las manchas encontradas, fueron originadas por recombinación mitótica por lo que se le considera un agente clastogénico eficiente.

Ya que se ha descrito que la Vitamina C es un antioxidante que puede actuar como antimutágeno y anticarcinógeno, se consideró importante evaluar su efecto sobre la genotoxicidad del trióxido de cromo. Para esa investigación se utilizó la técnica estándar de mutación y recombinación somáticas en el ala de *Drosophila*. Los resultados indican que el ácido ascórbico en las concentraciones usadas (0.1, 0.05 y 0.025M) no es tóxico y que reduce la frecuencia de mutación inducida por el trióxido de cromo. (Olvera, *et al.* 1994).

Se han realizado pruebas del efecto antimutagénico de la sal sodica de cobre (clorofilina) que llamaremos SSC y metilmetano sulfonato en la prueba de ala en *Drosophila melanogaster* utilizando larvas de 48 y 72 horas de edad. (Olvera, *et al.* 1994).

Estos resultados (Tabla 8, parte A) sugieren que el daño inducido por MMS se redujo en un 50% después del pretratamiento con 5% de SSC. Un segundo experimento (Tabla 8, parte B) sugiere una eficacia un poco mayor de MMS para inducir manchas y una reducción relativamente mayor en las manchas con SSC en las larvas más viejas.

**Tabla 8. EFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON SSC SOBRE LA GENOTOXICIDAD DE MMS EN LARVAS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEDIDA EN LA PRUEBA DE MANCHAS EN ALA.**

Manchas					
Tratamiento	No. ala	S.S.	L.S.	TW	Total
<b>Parte A</b>					
5% sucrosa	40	22(0.55)	4(0.1)	2(0.05)	28(0.70)
5% SSC	40	21(0.52)	4(0.1)	1(0.02)	26(0.64)
6mM MMS	36	88(2.44)	203(5.63)	50(1.38)	341(9.45)
SSC, MMS	40	53(1.32)	86(2.15)	25(0.62)	164(4.09)
<b>Parte B</b>					
5% sucrosa	40	25(0.62)	2(0.5)	0(0.00)	27(0.67)
5% SSC	40	26(0.65)	2(0.05)	2(0.5)	30(0.72)
6mM MMS	36	223(7.43)	419(13.7)	145(4.83)	787(25.95)
SSC, MMS	40	73(1.82)	162(4.05)	73(1.82)	308(7.69)

Parte A, tratando larvas de 48 horas de edad; parte B, tratando larvas de 72 horas de edad.  
O. Olvera, et al.

Las clorofilas y sus derivados solubles en agua, las clorofilinas, han demostrado ser altamente efectivas como antimutagénicos contra una gran variedad de sustancias como las monitoreadas con *Salmonella* (Lai C, et al. 1980); *Neurospora* (Robins, E. 1986); *Saccharomyces cerevisiae* (Bronzetti, G. et al. 1990) y *Drosophila*.

Las propiedades antimutagénicas de las clorofila/clorofilinas pueden deberse a su habilidad para formar complejos inactivos con derivados mutagénicos, su actividad como secuestradores de radicales, o inhibir la transformación de promutágenos en mutágenos al interferir en el sistema enzimático microsomal.

El sistema citocromo P-450 esta altamente desarrollado en *Drosophila melanogaster* y actua convirtiendo muchos promutágenos en su forma de mutágenos (Baarz, A. et al. 1977).

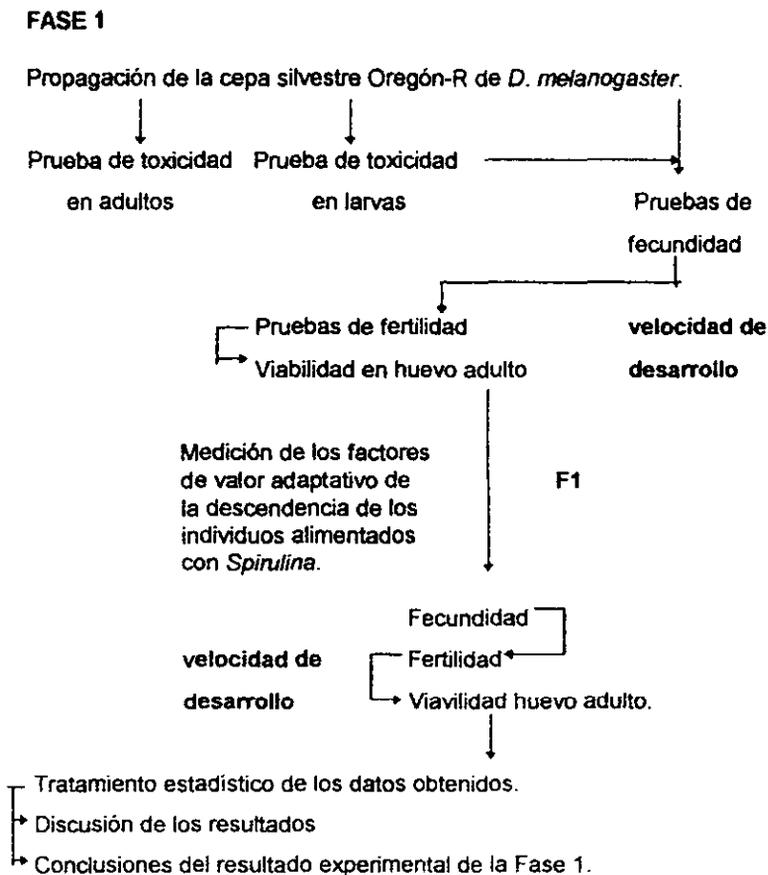
Cabe aclarar que a pesar de que la SSC actúa como un antimutágeno en presencia de MMS en *Drosophila melanogaster*, aunque se ha reportado que no interfiere con el daño inducido en el DNA por el MMS en *Saccharomyces cerevisiae* (Bronzetti, G. et al. 1988). Los resultados en *Drosophila melanogaster* difieren de aquellos en levaduras con MMS, debido probablemente a diferencias metabólicas entre ambos sistemas de prueba.

Otro estudio realizado en México se refiere a la tartrazina y la inhibición de su actividad genotóxica por *Spirulina máxima*. Los colorantes sintéticos son aditivos de uso generalizado en la industria alimentaria, algunos de ellos se sospecha pueden inducir efectos genotóxicos, tal es el caso de la tartrazina. Existen evidencias científicas de que las mutaciones cromosómicas son factores para el desarrollo de carcinogénesis y que pueden prevenirse por la identificación de agentes antígenotóxicos, son de interés principalmente aquellos de origen natural como el alga *Spirulina máxima* y pigmentos, entre estos, los carotenos y clorofila a los que se les han atribuido propiedades antígenotóxicas. En vista de la importancia que esta alga representan los extractos fue objeto de estudio evaluar su capacidad para inhibir la genotoxicidad inducida por tartrazina en las células meióticas de *Tradescantia* lo cual dará idea de su papel como alimento funcional.

Los resultados obtenidos muestran que el extracto inhibe el efecto genotóxico de tartrazina (7.47( 0.77 MCN/100 tétradas) hasta un 38% y con los pigmentos la mayor inhibición se obtuvo con la mezcla  $\beta$ -caroteno-clorofilina (43%) y disminuyó con la presencia de ficocianina (34%). Se concluyó que el alga *Spirulina máxima* ofrece un doble beneficio al humano. Se debe considerar y aprovechar por un lado el nutricio y por otro como alimento funcional. (Elvira R. et al. 1998).

## V. Metodología.

Se evaluaron las propiedades nutrimentales y antimutagénicas de la *Spirulina* para determinar su eficiencia como alimento funcional. Se probó la eficacia nutritiva de la *Spirulina* (medida como incremento en peso y mejorando factores de valor adaptativo), comparándola con la de la levadura de cerveza en larvas de *D. melanogaster*. Utilizando la prueba de SMART en ojos, se probó el potencial antimutagénico del alga exponiendo individuos de *D. melanogaster*, alimentados con *Spirulina*, a Metil metano sulfonato.



**FASE 2**

- Propagación de las cepas  $y+/y+$  y  $wl/w$  de *D. melanogaster*.  
 Donde  $y$ : yellow y  $w$ : white.
- Obtención de larvas transheterocigas  $y+/w$ .
  - Tratamientos con: *Spirulina* frente a metil metano sulfonato (MMS).
  - Obtención de los adultos que emerjan después de los tratamientos para cuantificar como eventos terminales el potencial antimutagénico de la *Spirulina*.
  - Tratamiento estadístico de los datos obtenidos (Análisis de  $X^2$ ).
  - Discusión de los resultados.
  - Conclusiones del resultado experimental.
  - Reporte de los resultados obtenidos en Fase 2 y Fase 1 para documento de tesis profesional.

**Materiales y reactivos****Tabla 9. MEDIOS SPIRULÍNICOS ( 125ml DE MEDIO).**

Concentración	Fuente proteínica	Concentración	Fuente proteínica
1S	1.093g <i>Spirulina</i>	1C	1.093g levadura 3.282g <i>Spirulina</i>
2S	2.187g <i>Spirulina</i>	2C	1.458g levadura 2.916g <i>Spirulina</i>
3S	4.375g <i>Spirulina</i>	3C	2.187g levadura 2.187g <i>Spirulina</i>
4S	8.75g <i>Spirulina</i>	4C	2.916g levadura 1.428g <i>Spirulina</i>
5S	17.5g <i>Spirulina</i>	5C	3.282g levadura 1.093g <i>Spirulina</i>

Tercera Casado Hdez. 1998.

Tabla 10. BASE DE MEDIO.

Compuesto	Gramos o ml
Agar en fibra.	1.375g
Harina de maiz.	7.75g
Sacarosa.	4.5g
Dextrosa.	3.25g
Levadura en polvo (en caso de testigo).	4.375g
Ácido propiónico.	0.625ml
Tegosept.	0.625ml

Laboratorio de Bioinorgánica. Facultad de Química. UNAM

La propagación de la cepa silvestre Oregón-R de *D. melanogaster*, se hizo en un medio de levadura que ya ha sido probado como efectivo y que contiene una concentración de 34g de levadura/L. Las moscas adultas se pasan a frascos lecheros que contienen una cantidad suficiente de medio el cual ha solidificado y secado (de lo contrario las alas de las moscas se pegan en la superficie húmeda y mueren) y se dejan en una estufa de cultivo a temperatura de 24°C completando su ciclo en 10 días (Demerec, M. 1975); estos mismos adultos se pueden pasar a frascos nuevos permitiendo nuevas posturas. Se trabajó con la descendencia de la propagación.

Se alimentó una determinada cantidad de moscas con los diferentes medios spirulínicos previamente definidos con el fin de observar los posibles problemas que se presentaran en el manejo y la aceptación de las moscas por la nueva fuente de proteína. Después de verificar que las moscas aceptaban la *Spirulina* y de observar que los medios con alta concentración de la misma solidificaban muy rápido provocando complejidad en su manejo se varió la cantidad de agar agregado para lograr una menor viscosidad, se prosigió con la Fase 1.

Para la medición de ganancia en peso de las larvas se permitió la ovoposición de un número considerable de moscas en frascos lecheros con los medios espirulínicos hasta contar con un número adecuado de huevos (aproximadamente durante 4-6 horas de ovoposición). Se retiraron los adultos y se introdujeron los frascos a la estufa (T:24°C).

Después de 96 horas de estado larvario (ya que las primeras 24 horas transcurren como huevo) se sacaron las larvas removiéndolas del medio con agua dentro del frasco lechero y posteriormente filtrándolas con tela de poro delgado. Se limpiaron las larvas del medio adherido bajo chorro suave de agua destilada utilizando una pizeta y se contaron aproximadamente el mismo número en cada concentración pesándolas en balanza analítica y pasándolas después a una probeta de 10ml con un volumen de agua medido para determinar su aumento en volumen. El mismo tratamiento se siguió para el testigo.

#### Medición de la velocidad de desarrollo:

Se permitió la ovoposición de moscas OR-R en frascos lecheros con medios spirulínicos y posteriormente se retiraron los adultos con el fin de obtener moscas que toda su vida hayan sido alimentadas con el medio experimental; una vez emergidas estas moscas son las que se utilizaron para el siguiente paso. Se colocó sobre la boca de frascos lecheros vacíos, que contienen un número mínimo de 50 parejas de moscas, una caja petri de 5cm de diámetro que tiene cada medio spirulínico. La caja petri se selló con cinta adhesiva, el frasco se voltea boca abajo, se introdujo en la estufa a 24°C y se permitió la ovoposición de un buen número de huevos en aproximadamente 4-6 horas para sincronizar la edad de los individuos a tratar. Posteriormente se retiraron los adultos y se procedió a la cuenta de 100 huevos por cada concentración bajo el microscopio; los huevos se introdujeron en viales que con las diferentes concentraciones de medio y de acuerdo a la concentración en donde fueron obtenidos. Se permitió su desarrollo en la estufa a 24°C y a partir del día de emergencia esperado (en el caso de medios spirulínicos se espera un día de adelanto en la emergencia sucediendo en el noveno día del ciclo) se comienzan a separar las moscas emergidas por medio de la administración de éter ya que para poder examinar las moscas es necesario inmovilizarlas mediante el empleo de éter al igual que cuando son transferidas a frascos de cultivo para hacer cruces. Bastan unas cuantas gotas de éter y se pueden conservar en este estado varios minutos con el empleo de un etinizador convencional; posteriormente se colocan sobre una superficie, para mover las moscas se usa un transportador que puede ser un pincel o un objeto puntiagudo de metal. Se debe tener cuidado en no sobreanesteciar las moscas ya que puede interferir en el diagnóstico o matarlas por sobreexposición.

Una vez separadas las moscas en machos y hembras vírgenes y de obtener los datos de aumento en la velocidad de desarrollo (número de individuos emergidos por día) se procedió a realizar cruza entre machos y hembras vírgenes con tratamiento, hembras vírgenes tratadas con machos no tratados, hembras vírgenes no tratadas con machos tratados, hembras vírgenes y machos no tratados, para determinar fertilidad, entendiéndose como la viabilidad de huevo-adulto que indica el porcentaje de individuos que llegan al estado adulto del total de aquellos que fueron engendrados (Salceda, V. 1970).

Para realizar estas cruza se propagaron las moscas en los medios spirulínicos y en medio de levadura para obtener las moscas no tratadas para cada caso. Una vez que las hembras vírgenes tuvieron la madurez adecuada (4 días después de nacidas) se procedió a colocarlas con los machos en frascos lecheros tapados con cajas petri que tenían medio normal (levadura) y se esperó a la ovoposición en temperatura controlada de 24°C. Después se contó una cantidad de huevos conocida y se sembraron en viales o frascos lecheros con medio de levadura y se mantuvieron a 24°C hasta su emergencia. Simultáneamente se midió la fecundidad que es el porcentaje de huevos que fueron puestos por 100 hembras. Para esto se utilizó la fórmula en el que se presentó el mejor desarrollo para las moscas con medio spirulínico de complemento al igual que el de sustituyente y realizando las mismas cruza se contaron los huevos puestos una caja petri y se sacó el porcentaje de huevos puestos por cada una de las cien hembras en cada cruza.

En la fase 2 para evaluar la capacidad antimutagónica de la *Spirulina* frente a un mutágeno potente, el metilmetanosulfonato (MMS), se propagaron las cepas yellow (y) y white (w) de la misma forma que para Oregón-R. Se realizaron pruebas de mutación y recombinación somáticas (SMART) en ojos (Friedrich E. *et al*, 1991) (E.W. Vogel, 1989), en cada uno de los medios propuestos en la Fase 1.

En esta prueba se utilizan los individuos de las cepas diferentes de *D.melanogaster*. De la primera cepa se usan los machos y/Y. El marcador y: es una mutación recesiva localizada en la banda 0.0 del cromosoma X, que se manifiesta

fenotípicamente con moscas de cuerpo color amarillo, pels de color café en puntas amarillas, pelos y venas en las alas de color amarillo.

De la segunda se usaron las hembras *w*. White es una mutación localizada en la posición 1-1.5, que da un fenotipo de ojos blancos.

Se realiza la cruce de las cepas para obtener larvas transheterocigas *y+ / +w* de la siguiente forma:



Se aislaron hembras vírgenes y posteriormente se cruzaron durante 12 horas y se posieron a ovipositar en cajas petri con el medio de cultivo fresco elegido. Los huevos se incubaron por 72 horas (24 horas en estado de huevo y 48 en estado de larva) para obtener larvas del segundo estadio. Se formaron grupos con 200 larvas cada uno de los medios a los que se aplicó el siguiente tratamiento con MMS.

Tabla 11. TRATAMIENTO CON METILMETANOSULFONATO (MMS).

TRATAMIENTO	DURACIÓN
Sol. de MMS en concentración de: 0.02M + medio instantaneo.	Hasta emergencia fuera de la pupa.
Sol. de MMS en concentraciones de: 0.04 M + medio instantaneo.	Hasta emergencia fuera de la pupa.
Sol. de MMS en concentraciones de: 0.06 M + medio instantaneo.	Hasta emergencia fuera de la pupa.

La *Spirulina* se adquirió en centros de menudeo al público de Tiendas Nutrisa en presentación en polvo para consumo humano de la marca Pronat ultra, envasada en México por Abastecedora de Productos Naturales S.A. de C.V.

Se prepararon las diluciones y se colocó en viales 1g de medio instantaneo + 2.5 ml de la solución de MMS.

Las soluciones se prepararon por dilución a partir de la más concentrada de la siguiente forma:

Cálculo de soluciones de Metilmetano sulfonato (MMS):



P.M.: 110.13

$\delta = 1.229 \text{ g/ml}$

Pureza 98%

De acuerdo a la pureza reportada tenemos:  $110.13 \text{ --- } 100\%$   
 $X1 \text{ --- } 98\%$

Donde  $X1 = \text{P.M.} = 107.927 \text{ al } 98\%$

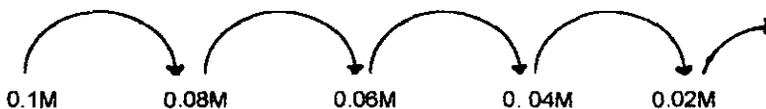
Entonces:

$(1.299 \text{ g} / 1 \text{ ml}) (1 \text{ mol} / 107.927 \text{ g}) = (0.012 \text{ mol/ml}) (1000 \text{ ml} / 1 \text{ L}) = 12.0359 \text{ M en solución.}$

Si  $C_1V_1 = C_2V_2$  entonces:  $V_1 = C_2V_2 / C_1$  para 25ml de solución 0.1M

$$V_1 = \{ (0.1 \text{ M}) (0.025 \text{ L}) \} / 12.0359 \text{ M} = 2.077 \times 10^{-4} \text{ L}$$

$V_1 = 0.2077 \text{ ml de MMS para un volumen final de } 25 \text{ ml.}$



Hasta un volumen final de 10ml con agua desionizada.

Se corrieron grupos como blancos positivos del mutágeno MMS para probar las concentraciones más adecuadas y donde se tuviera la mejor respuesta. Los blancos positivos se realizaron con concentraciones de: 0.1, 0.08, 0.06, 0.04 y 0.02. Las diluciones se prepararon siguiendo las medidas de seguridad necesarias y se utilizó larvas de la cruz heteróciga alimentadas con levadura.

Las larvas del grupo experimental se lavaron como se explicó anteriormente para separarlas del medio de *Spirulina* y se distribuyeron en grupos de igual número de individuos en viales con medio. Se puso, para las larvas de cada concentración de *Spirulina*, 1g de medio instantáneo + 2.5ml de la concentración seleccionada de sol. de MMS y además se corrió un testigo en cada caso que contenía larvas de la concentración de *Spirulina* a tratar, medio instantáneo y 2.5ml de agua. Se hizo por duplicado. Una vez en los viales con tratamiento estos se colocaron en la estufa a 24°C para que completaran su desarrollo. Cuando las moscas emergieron, se eterizaron y se pusieron en una solución de alcohol que tiene como fin mantener los ojos en el mejor estado para su lectura.

Bajo el microscopio estereoscópico, con aumento de 40X, se analizaron los ojos de los adultos obtenidos. Las omatidias mutadas (blancas en los ojos rojos y rojas en los ojos blancos) se registraron como manchas de la siguiente forma:

- Dosis.
- Genotipo evaluado.
- Número de ojos examinados.
- Número de manchas.
- Cuenta de manchas chicas (2, 3, 4 omatidias).
- Total de manchas chicas.
- Cuenta de manchas grandes (5, 6, 7, 8 y >8 omatidias)
- Total de manchas grandes.
- Frecuencia de manchas en 100 ojos.
- Distribución relativa de las manchas en tamaños.
- Evaluación estadística de los datos (se aplica la prueba estadística de  $X^2$  con un nivel de significancia de  $p < 005$ ).

## VI. Resultados.

A continuación se presentan los resultados obtenidos. Los primeros resultados (I) corresponden al peso ganado por las larvas alimentadas con los medios spirulínicos comparadas con un testigo de levadura. Los segundos (II) corresponden a la velocidad de desarrollo.

I)

**Tabla 12. PESO Y VOLUMEN DE LAS LARVAS ALIMENTADAS CON MEDIO REGULAR (TESTIGO).**

Medio	Peso (g)	Volumen (ml)
levadura (17.5g/500ml)	1.45	0.2

**Tabla 13. PESO GANADO POR LAS LARVAS ALIMENTADAS CON MEDIOS ESPIRULÍNICOS.**

Medio sustituyente	peso (g)	Medio complemento	Peso (g)
1S	1.21	1C	3.42
2S	3.14	2C	2.17
3S	4.41	3C	3.97
4S	3.42	4C	4.00
5S	3.52	5C	4.94

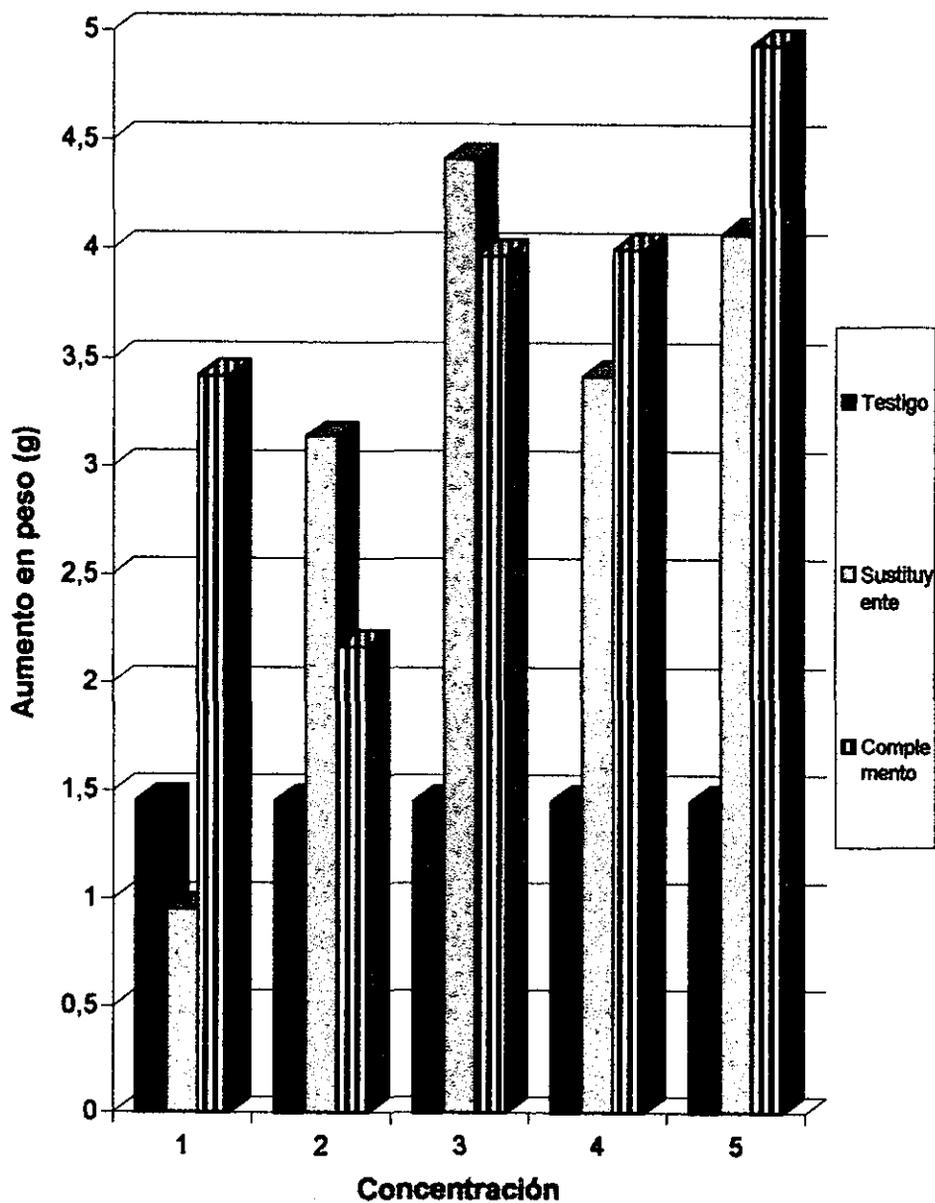
**Tabla 14. VOLUMEN GANADO POR LAS LARVAS ALIMENTADAS CON MEDIOS ESPIRULÍNICOS.**

Medio sustituyente	Volumen (ml)	Medio complemento	Volumen (ml)
1S	0.125	1C	0.4
2S	0.3	2C	0.35
3S	0.4	3C	0.2
4S	0.2	4C	0.3
5S	0.175	5C	0.2

Tabla 15. TAMAÑO DE LARVAS.

Medio	Largo (cm)	Ancho (cm)
5S	0.3	0.08-0.1
5C	0.4	0.1-0.15
Testigo (levadura)	0.15	0.08-0.1

**Gráfica 1.**  
**Comparación de la ganancia en peso en las larvas.**



II)

Resultados medio de *Spirulina* como complemento.

Tabla 16. NÚMERO TOTAL DE ADULTOS EMERGIDOS POR DÍA. TESTIGO.

CONCENTRACIÓN	huevos	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
Levadura	100	0	0	29	36	5

Tabla 17. NÚMERO TOTAL DE ADULTOS EMERGIDOS POR DÍA. MEDIO DE COMPLEMENTO.

Ensayo 1

Concentración	huevos totales	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1C	100	0	49	29	2
2C	100	9	61	4	2
3C	100	48	20	1	0
4C	100	39	23	5	3
5C	100	60	10	2	0

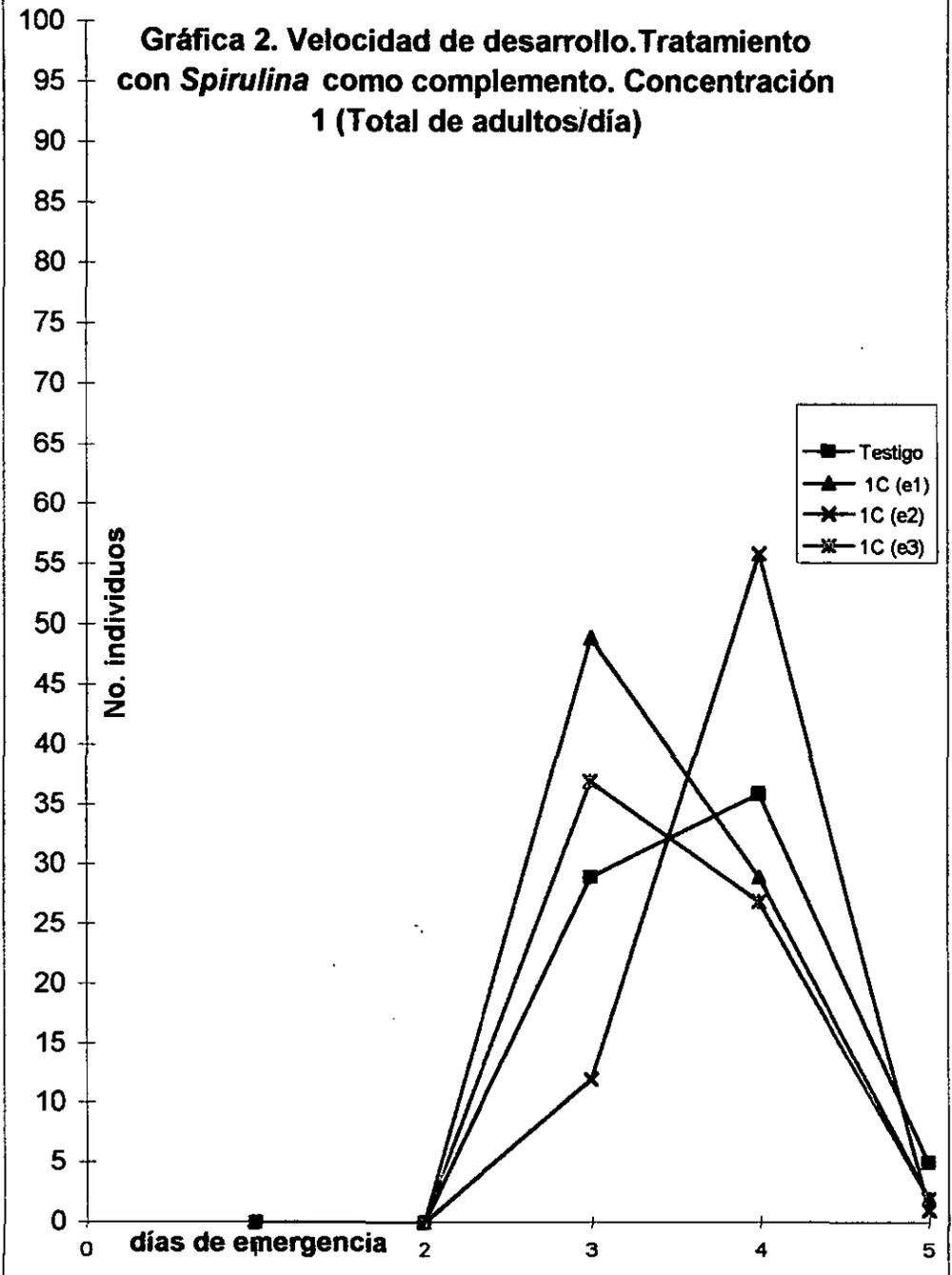
Ensayo 2

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1C	100	0	0	12	56	1
2C	100	0	22	50	9	4
3C	100	3	55	4	7	0
4C	100	1	54	24	7	1
5C	100	0	62	5	8	0

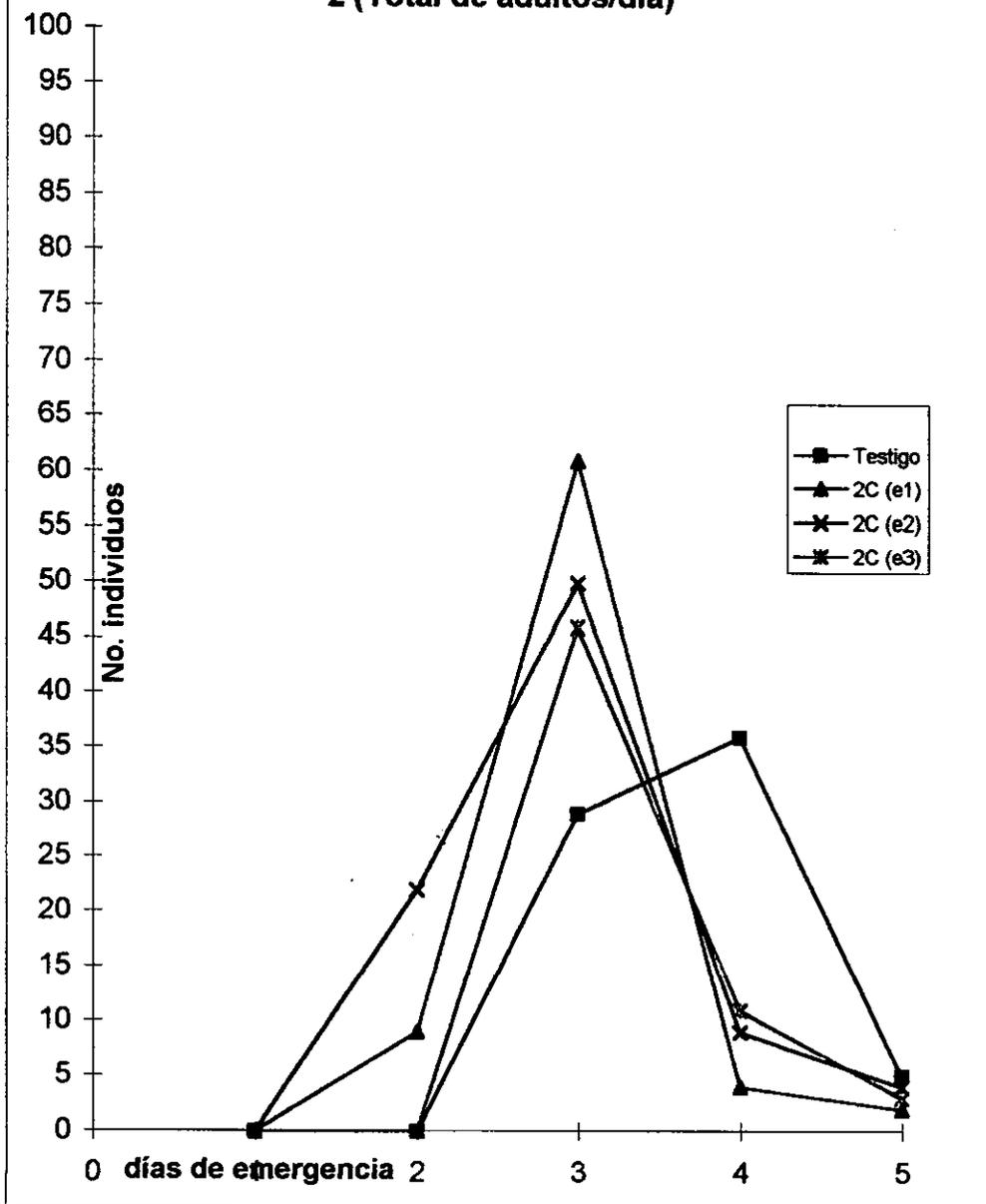
**Ensayo 3**

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1C	100	0	0	37	27	2
2C	100	0	0	46	11	3
3C	100	3	35	11	0	0
4C	100	0	3	53	2	2
5C	100	2	54	32	0	0

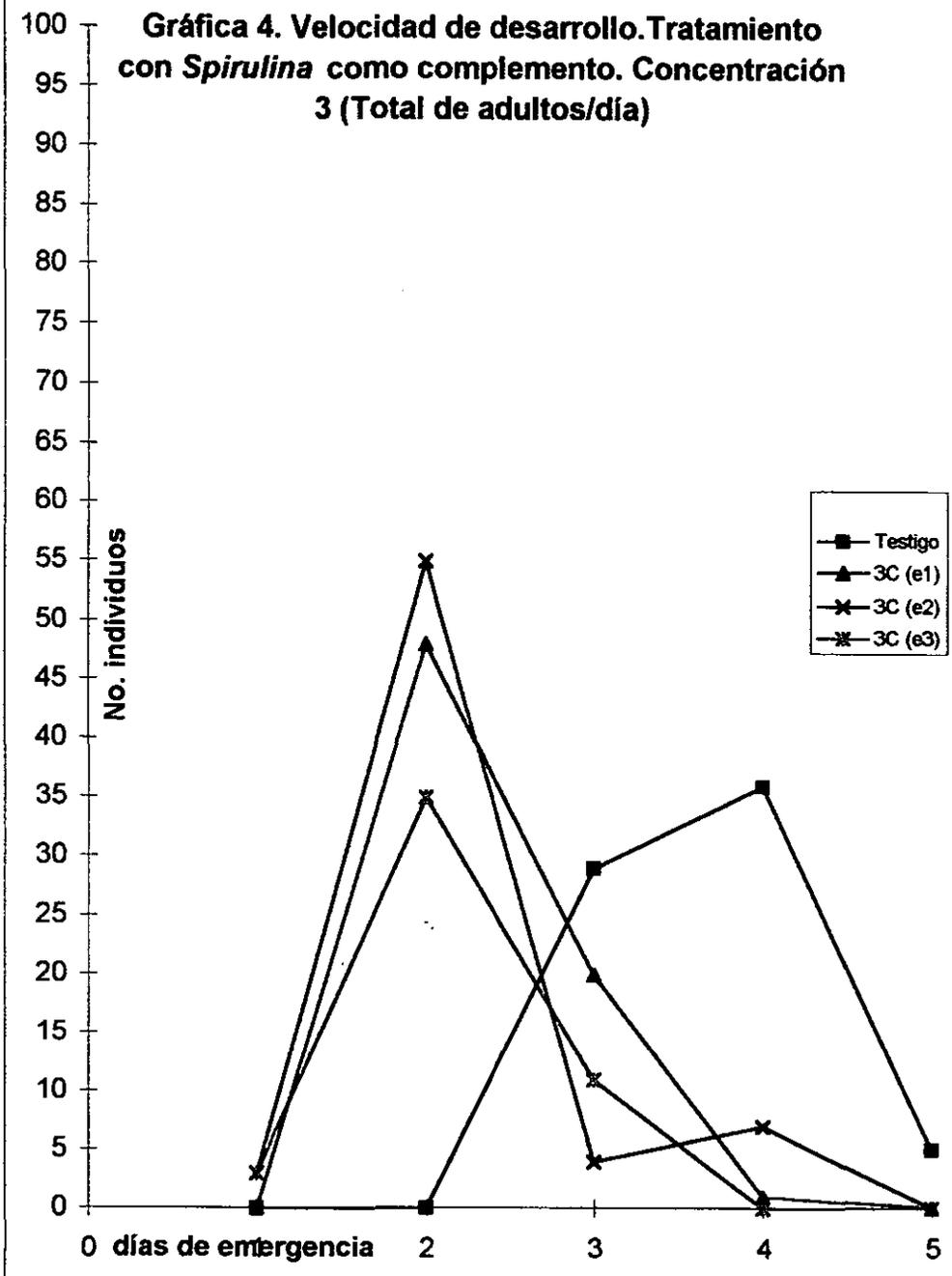
**Gráfica 2. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 1 (Total de adultos/día)**



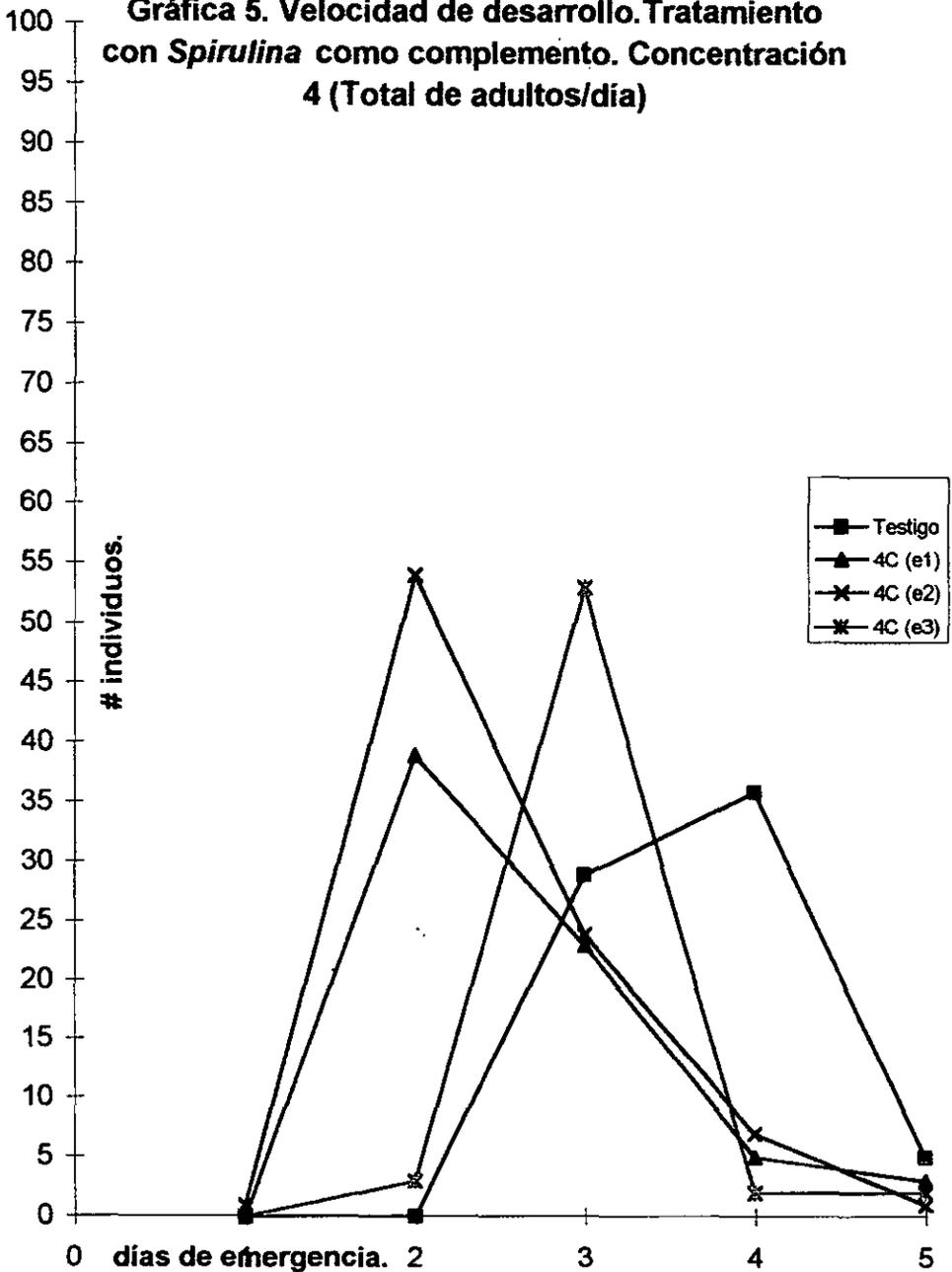
**Gráfica 3. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 2 (Total de adultos/día)**



**Gráfica 4. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 3 (Total de adultos/día)**



**Gráfica 5. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 4 (Total de adultos/día)**



**Gráfica 6. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 5 (Total de adultos/día)**

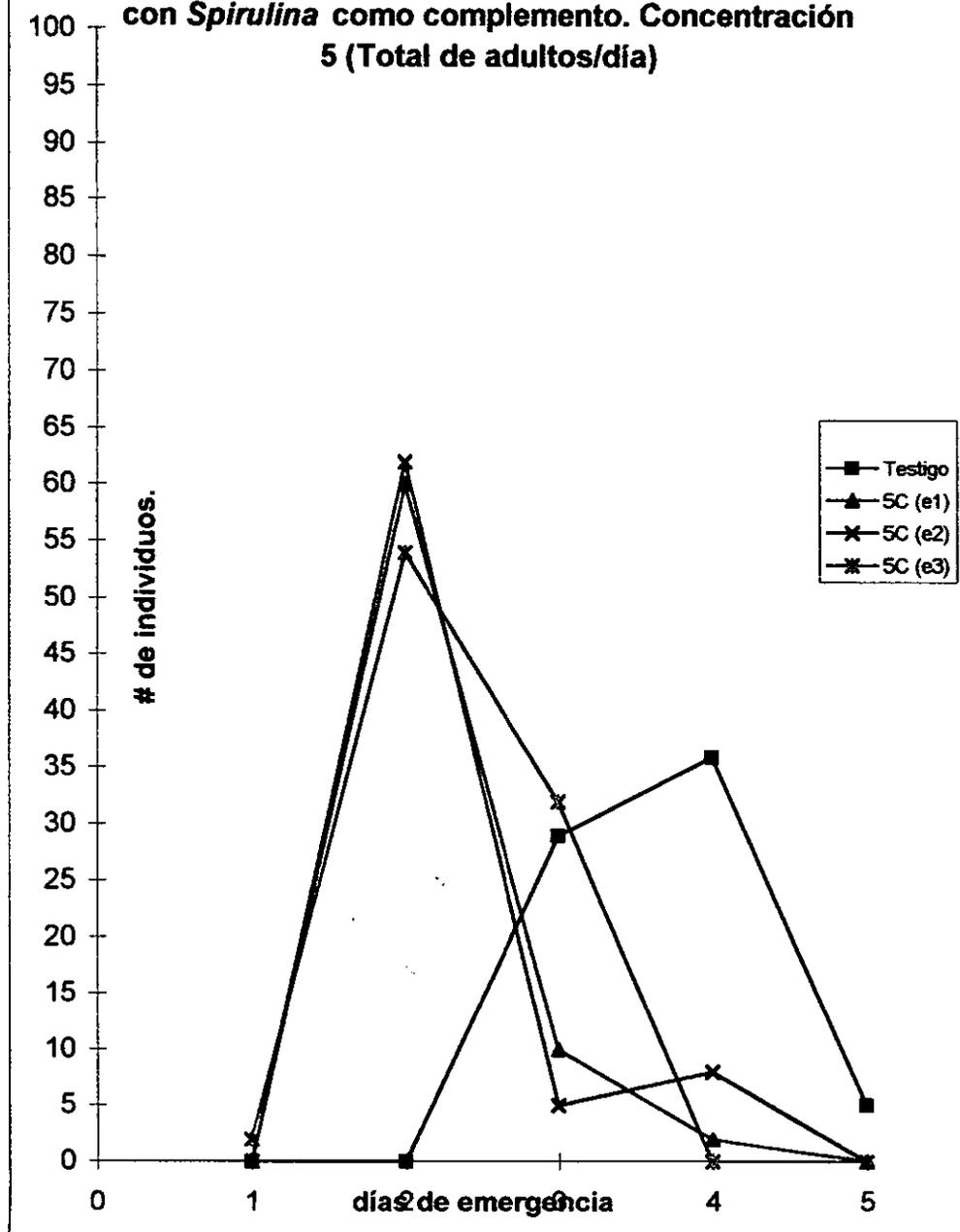


Tabla 18. NÚMERO TOTAL ACUMULADO DE ADULTOS EMERGIDOS. TESTIGO.

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
Levadura	100	0	0	29	65	70

Tabla 19. NÚMERO TOTAL ACUMULADO DE ADULTOS EMERGIDOS. MEDIO DE COMPLEMENTO.

## Ensayo 1

Concentración	huevos totales	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1C	100	0	49	78	80
2C	100	9	70	74	76
3C	100	48	68	69	-
4C	100	39	62	67	70
5C	100	60	70	72	-

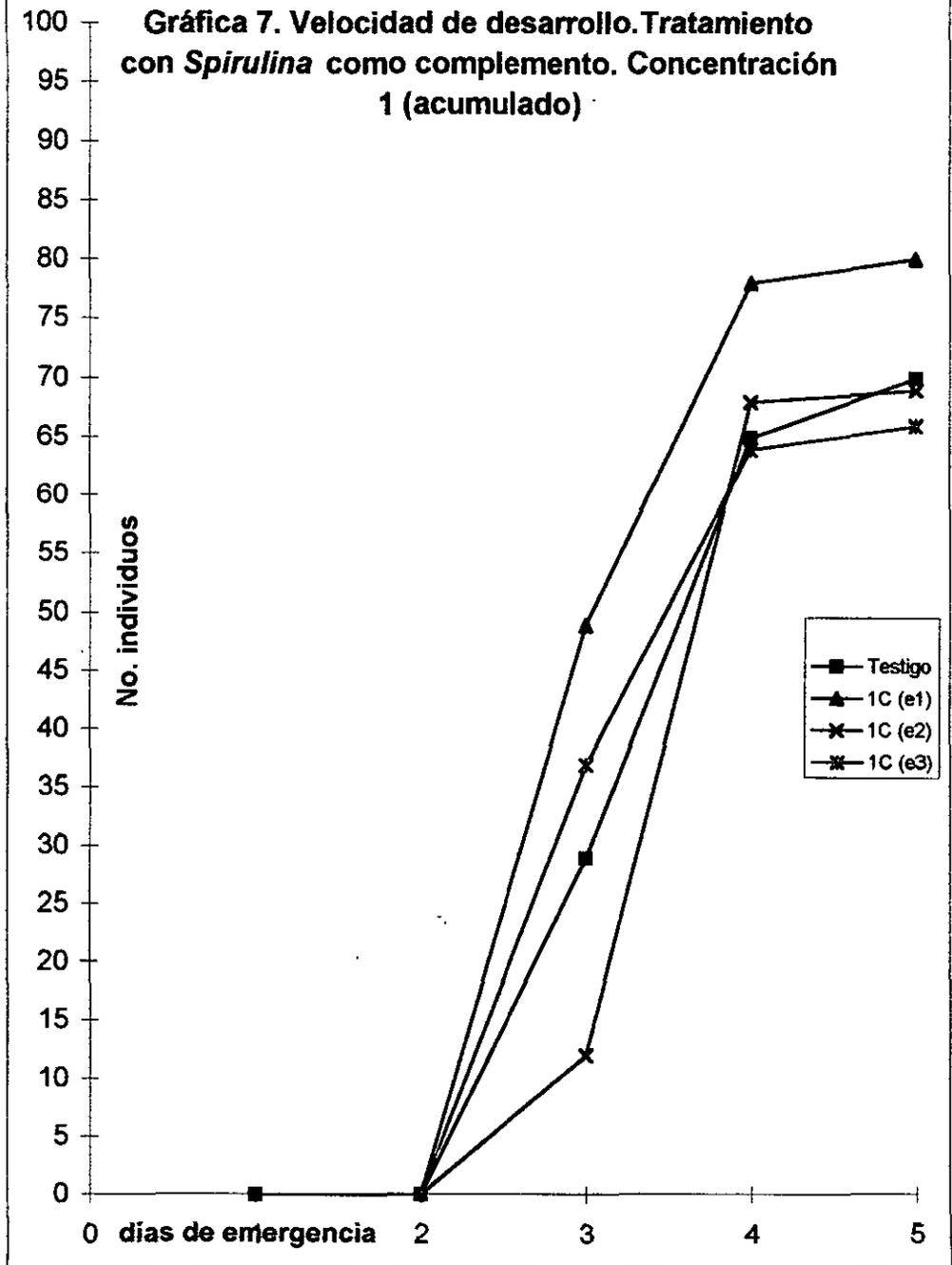
## Ensayo 2

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1C	100	0	0	12	68	69
2C	100	0	22	72	81	85
3C	100	3	58	62	69	-
4C	100	1	55	79	86	87
5C	100	0	62	67	75	0

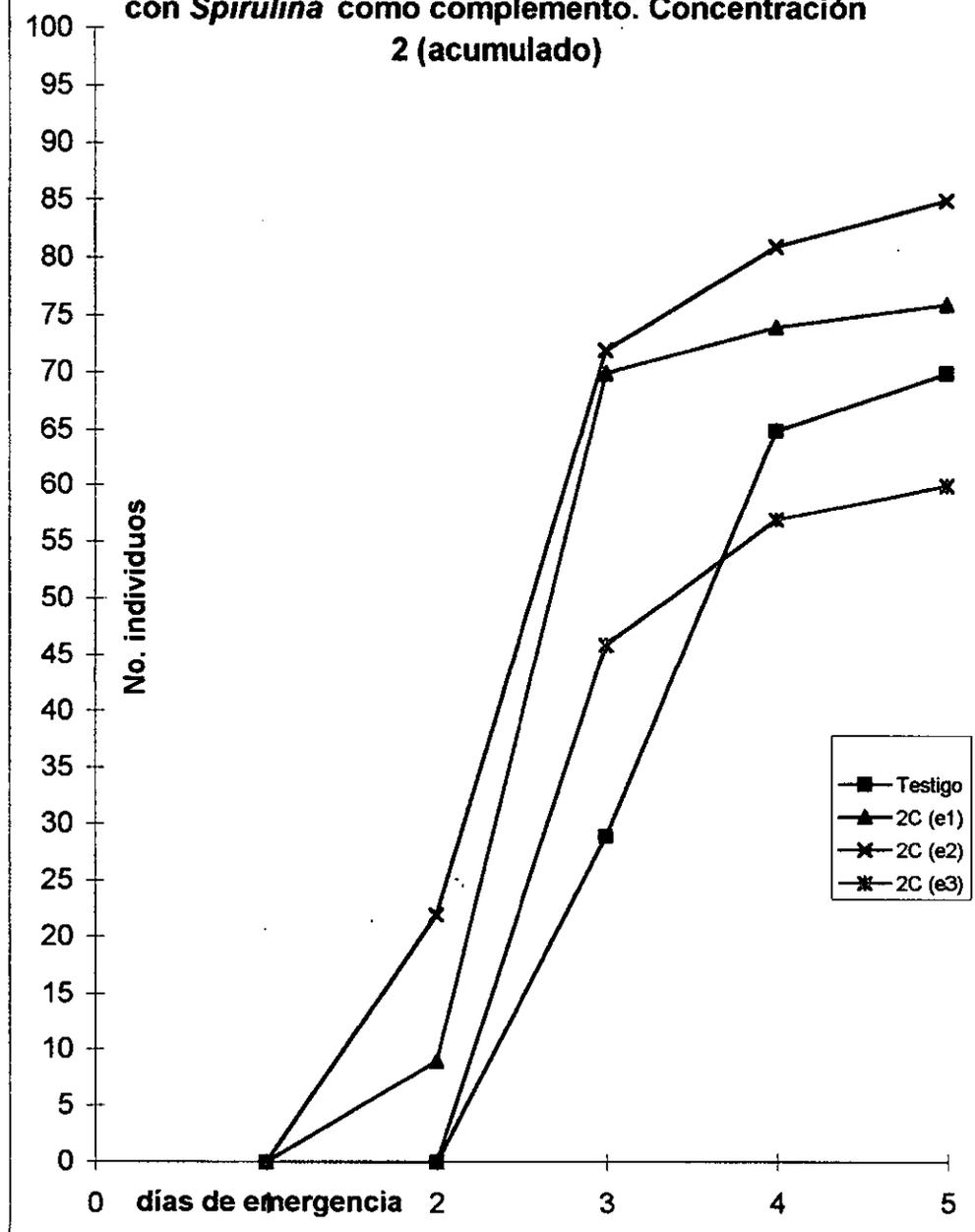
## Ensayo 3

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1C	100	0	0	37	64	66
2C	100	0	0	46	57	60
3C	100	3	38	49	-	-
4C	100	0	3	56	58	60
5C	100	2	56	88	-	-

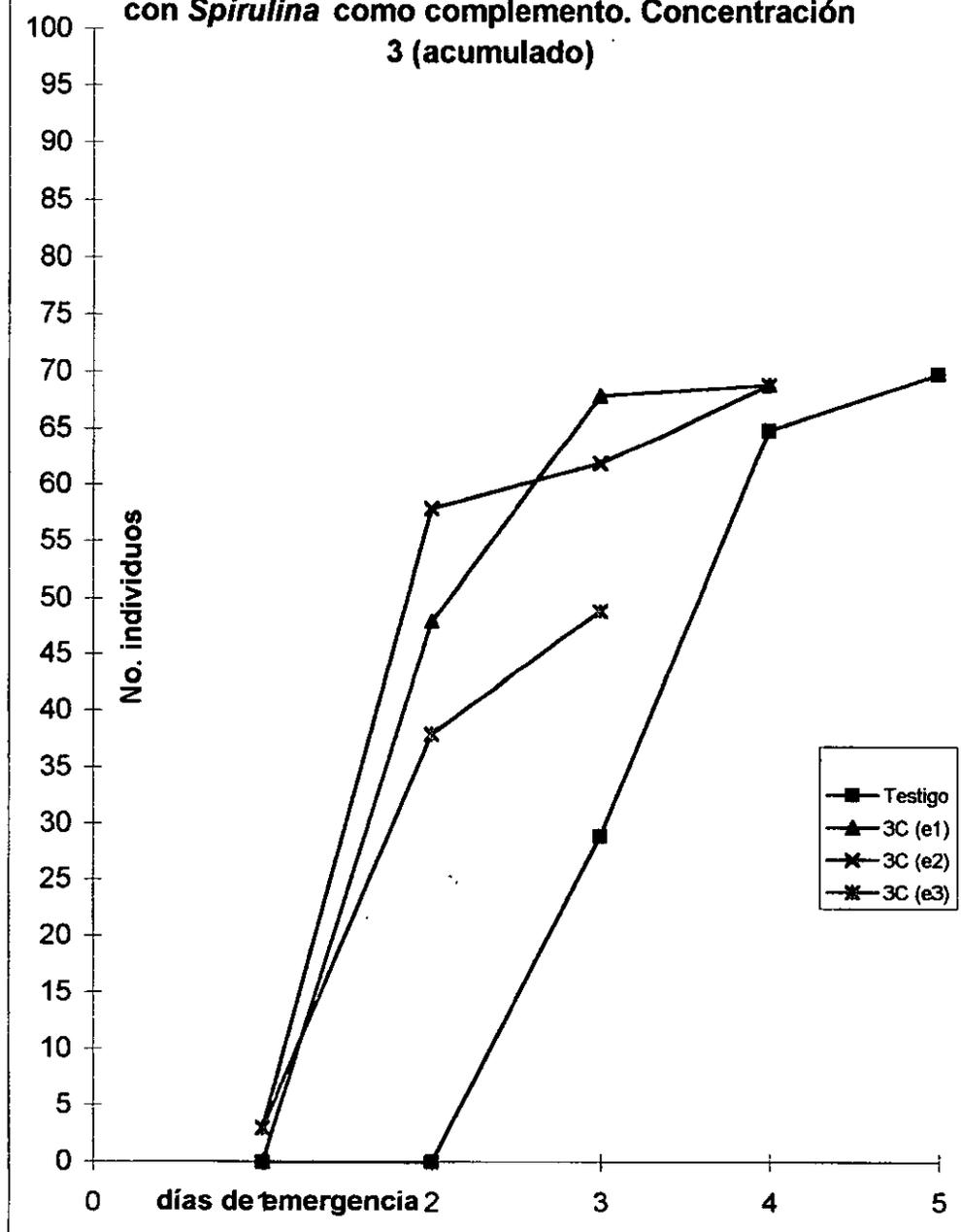
**Gráfica 7. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 1 (acumulado)**



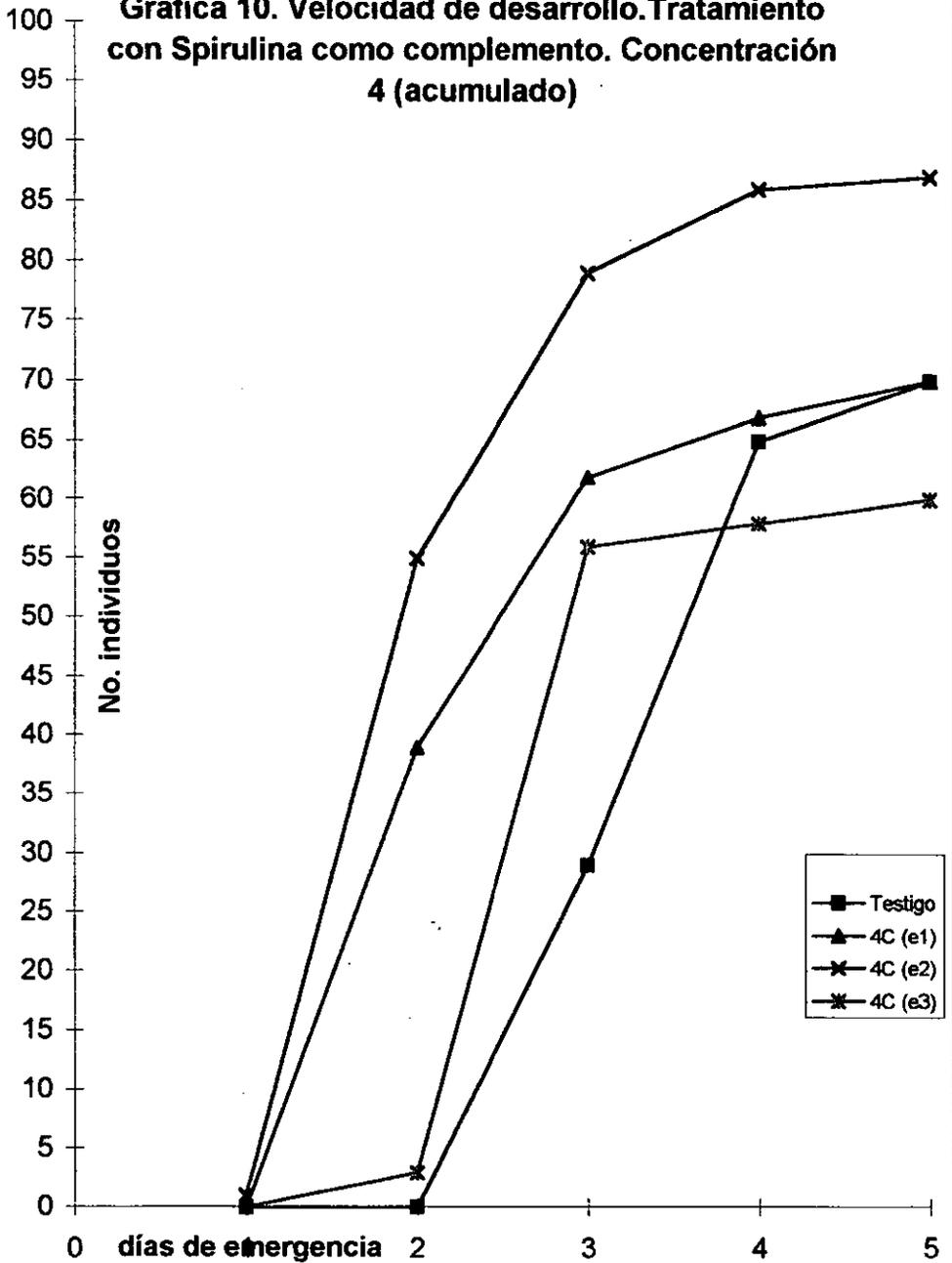
**Gráfica 8. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 2 (acumulado)**



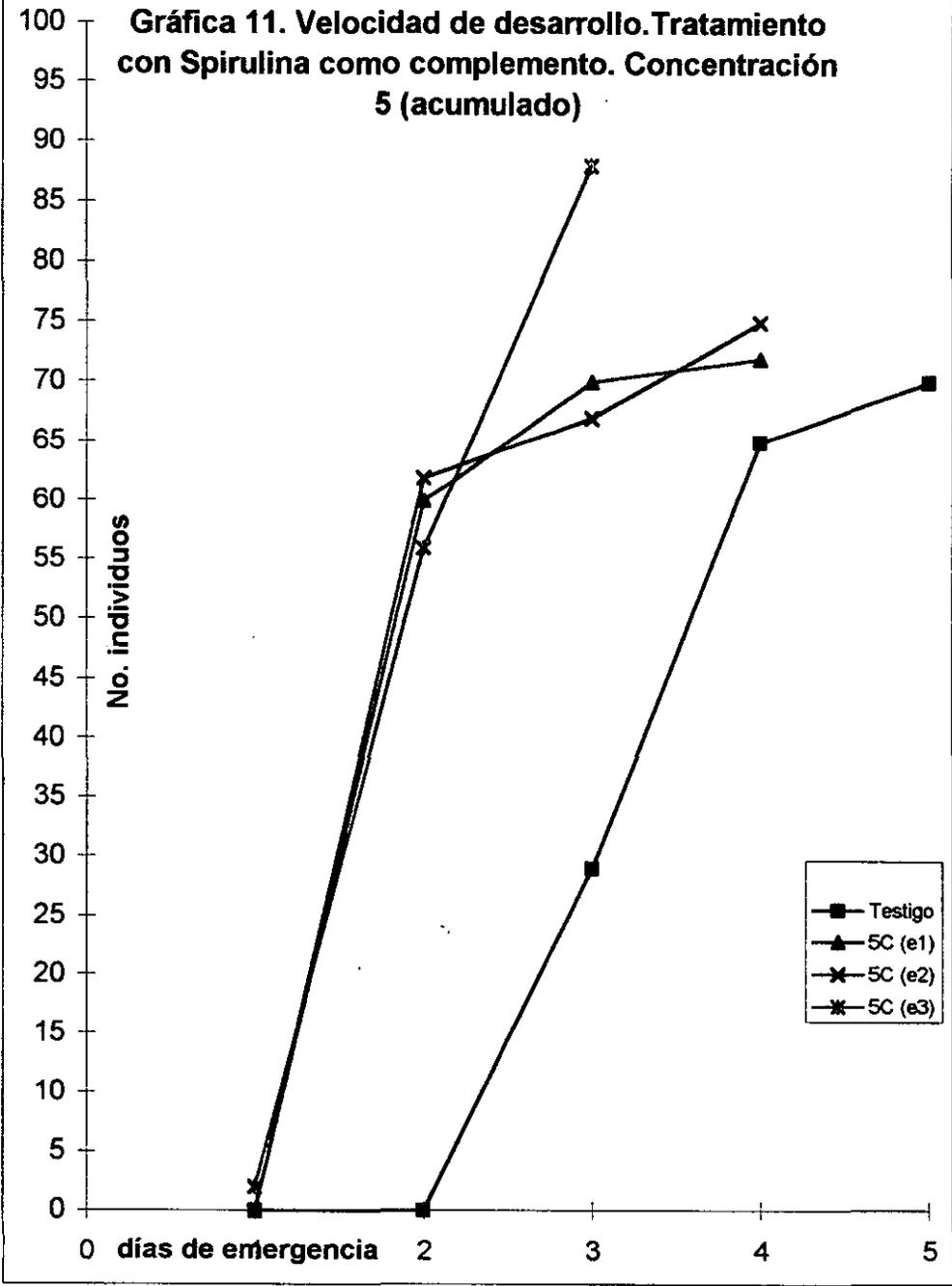
**Gráfica 9. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como complemento. Concentración 3 (acumulado)**



**Gráfica 10. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como complemento. Concentración 4 (acumulado)**



**Gráfica 11. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como complemento. Concentración 5 (acumulado)**



Resultado de las cruces entre los individuos tratados con *Spirulina*.

Donde T = tratados (as)

Conteo de huevos por cruce:

Tabla 20. HUEVOS OBTENIDOS SIN TRATAMIENTO CON *SPIRULINA*. (TESTIGO).

TESTIGO: ♀ x ♂

Repetición	Levadura
1	233
2	133
3	129

Tabla 21. HUEVOS OBTENIDOS CON TRATAMIENTO DE MEDIO DE COMPLEMENTO.

ENSAYO 1: ♀<sup>T</sup> x ♂<sup>T</sup>

Repetición	1C	2C	3C	4C	5C
1	345	385	270	128	101
2	203	152	143	51	103
3	213	294	63	69	81

ENSAYO 2: ♀<sup>T</sup> x ♂

Repetición	1C	2C	3C	4C	5C
1	267	372	342	85	50
2	144	299	229	82	89
3	119	283	226	100	127

ENSAYO 3: ♀ x ♂<sup>T</sup>

Repetición	1C	2C	3C	4C	5C
1	12	47	53	20	7
2	41	22	32	20	1
3	33	33	67	10	8

**Tabla 22. ADULTOS EMERGIDOS EN EL GRUPO TESTIGO.**

Repetición	Levadura
1	191
2	99
3	101

**Tabla 23. ADULTOS EMERGIDOS CON TRATAMIENTO DE MEDIO DE COMPLEMENTO.****ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 1.**

Repetición	1C	2C	3C	4C	5C
1	298	310	221	96	87
2	181	112	122	51	71
3	174	233	53	57	67

**ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 2.**

Repetición	1C	2C	3C	4C	5C
1	225	302	291	71	36
2	114	270	202	71	69
3	183	238	194	83	108

**ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 3.**

Repetición	1C	2C	3C	4C	5C
1	8	31	42	12	5
2	32	17	26	15	1
3	26	28	57	8	5

**Tabla 24. PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS EN EL GRUPO TESTIGO.**

Repetición	Levadura (%)
1	81.97
2	74.43
3	78.29

**Tabla 25. PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS. TRATAMIENTO CON MEDIO DE COMPLEMENTO.**

**PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 1**

Repetición	1C (%)	2C (%)	3C (%)	4C (%)	5C (%)
1	86.37	80.51	95.31	35.55	86.14
2	89.16	73.68	90.47	35.66	68.93
3	81.69	79.25	76.81	90.47	82.71

**PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 2**

Repetición	1C (%)	2C (%)	3C (%)	4C (%)	5C (%)
1	84.26	81.18	85.08	83.53	72.00
2	79.16	90.30	88.21	86.58	87.34
3	64.79	84.10	85.84	83.00	85.04

**PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 3**

Repetición	1C (%)	2C (%)	3C (%)	4C (%)	5C (%)
1	100	87.10	85.71	83.33	80.00
2	93.75	76.47	100	86.66	100
3	76.92	85.71	92.98	75.00	62.5

**Tabla 26. PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS. TRATAMIENTO CON MEDIO DE COMPLEMENTO.**

**PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 1.**

Dosis	1C	2C	3C	4C	5C
% PROM.	85.74	77.81	92.89	53.89	84.42

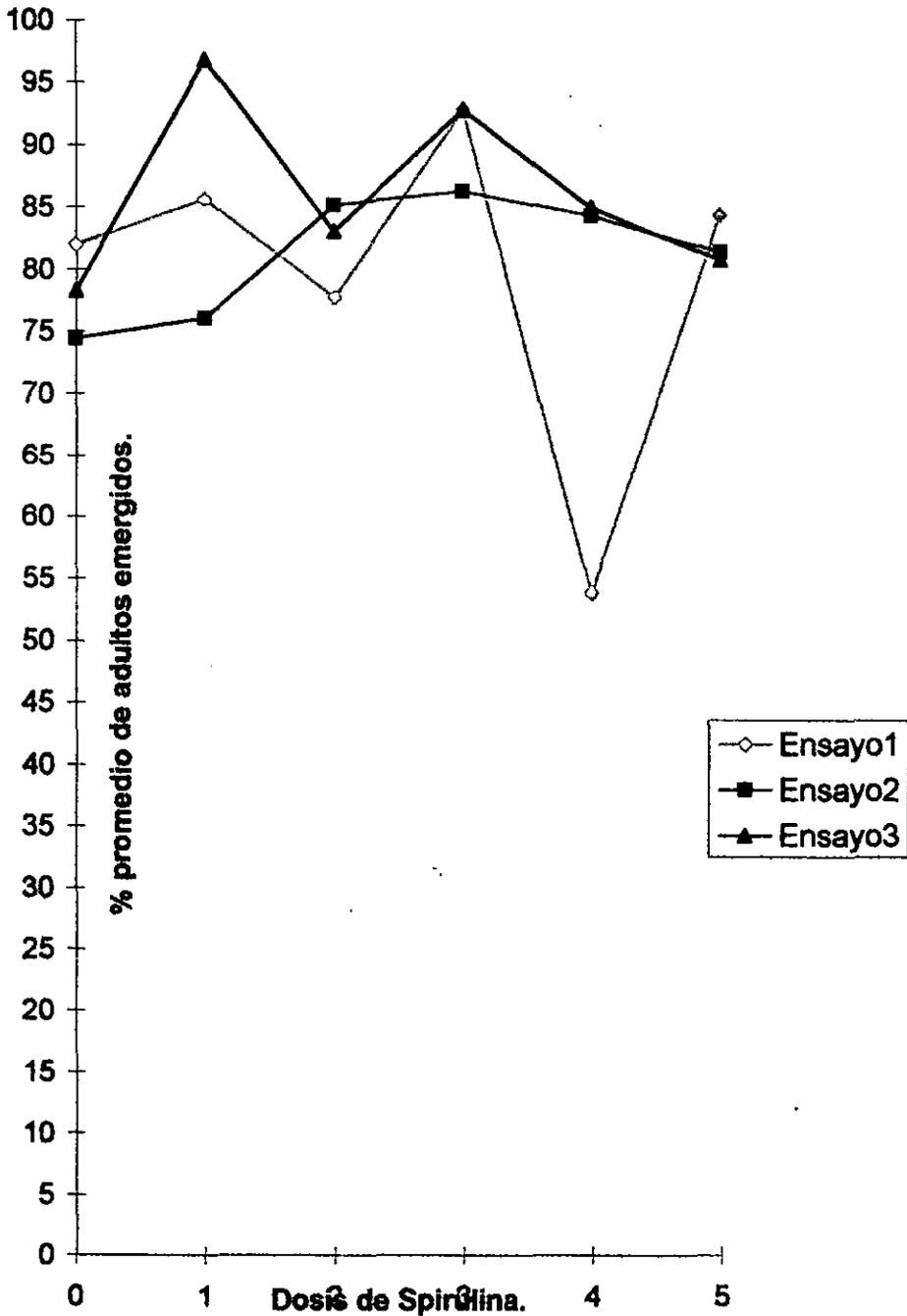
**PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 2.**

Dosis	1C	2C	3C	4C	5C
% PROM.	76.07	85.19	86.37	84.37	81.48

**PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 3.**

Dosis	1C	2C	3C	4C	5C
% PROM.	96.87	83.09	92.89	84.99	80.83

**Gráfica 12. Viabilidad huevo-adulto en medio complemento.**



**Resultados medio de *Spirulina* como sustituyente.****Tabla 27. NÚMERO TOTAL DE ADULTOS EMERGIDOS POR DÍA EN EL GRUPO TESTIGO.**

CONCENTRACIÓN	huevos	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
Levadura	100	0	0	22	32	16

**Tabla 28. NÚMERO TOTAL DE ADULTOS EMERGIDOS POR DÍA. MEDIO SUSTITUYENTE.****Ensayo 1**

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1S	100	0	12	13	14	40
2S	100	0	17	11	27	31
3S	100	13	52	13	7	4
4S	100	5	64	23	1	-
5S	100	4	64	21	2	-

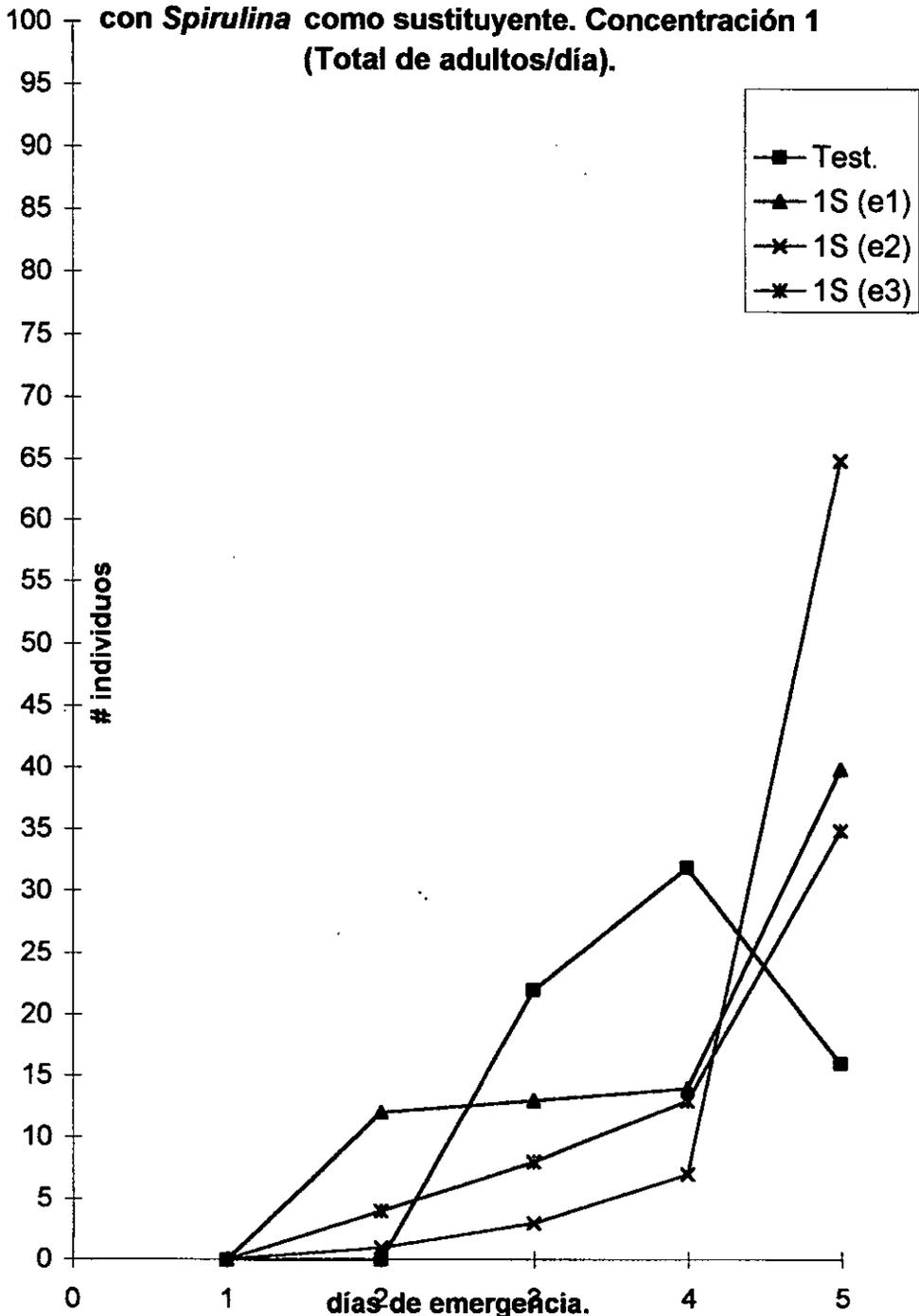
**Ensayo 2**

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1S	100	0	1	3	7	65
2S	100	1	1	4	47	27
3S	100	10	47	20	4	-
4S	100	11	62	17	-	-
5S	100	4	61	29	-	-

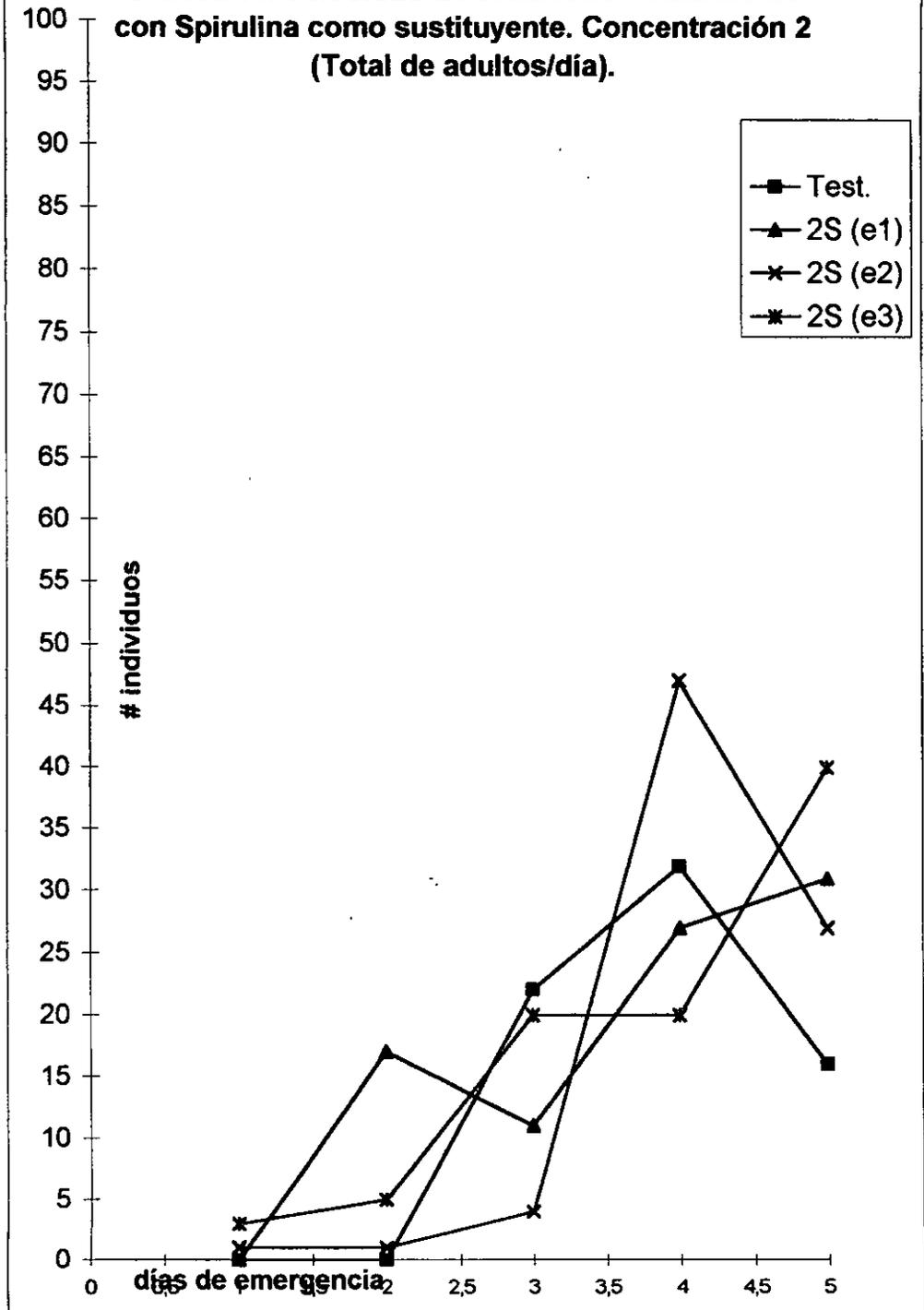
## Ensayo 3

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1S	100	0	4	8	13	35
2S	100	3	5	20	20	40
3S	100	5	41	20	15	-
4S	100	10	62	6	5	-
5S	100	13	67	8	-	-

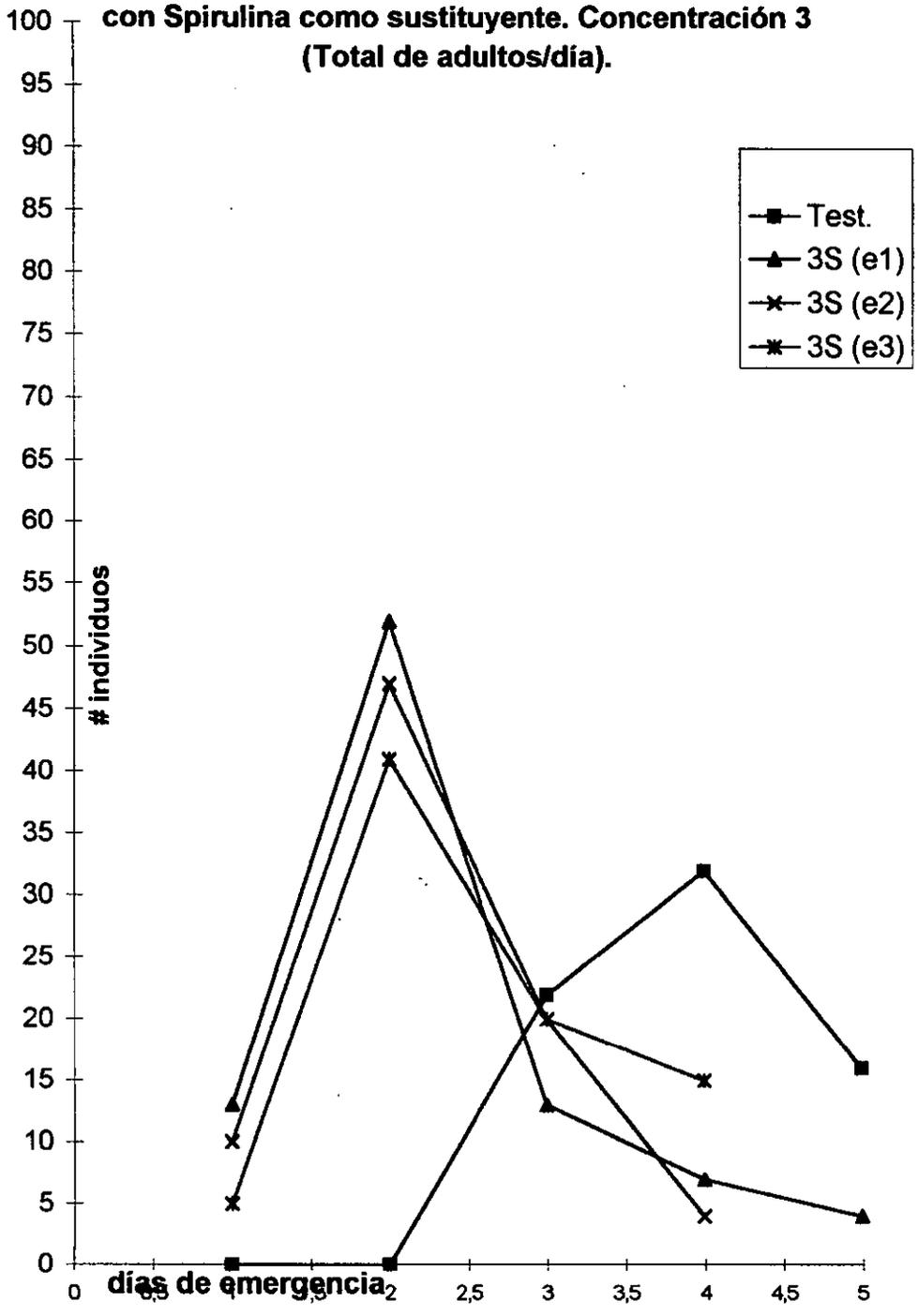
**Gráfica 13. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como sustituyente. Concentración 1 (Total de adultos/día).**



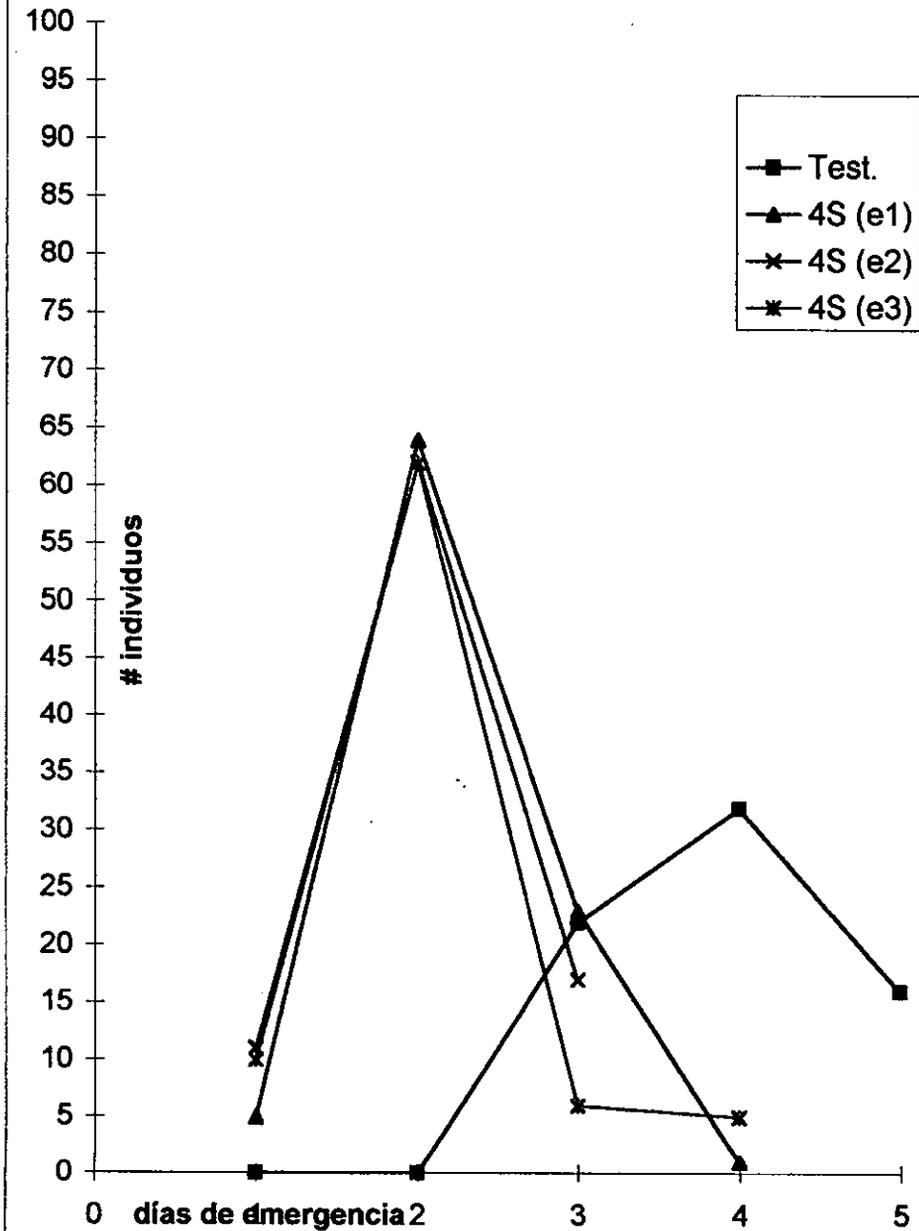
**Gráfica 14. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como sustituyente. Concentración 2 (Total de adultos/día).**



**Gráfica 15. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como sustituyente. Concentración 3 (Total de adultos/día).**



**Gráfica 16. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como sustituyente. Concentración 4 (Total de adultos/día).**



**Gráfica 17. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como sustituyente. Concentración 5 (Total de adultos/día).**

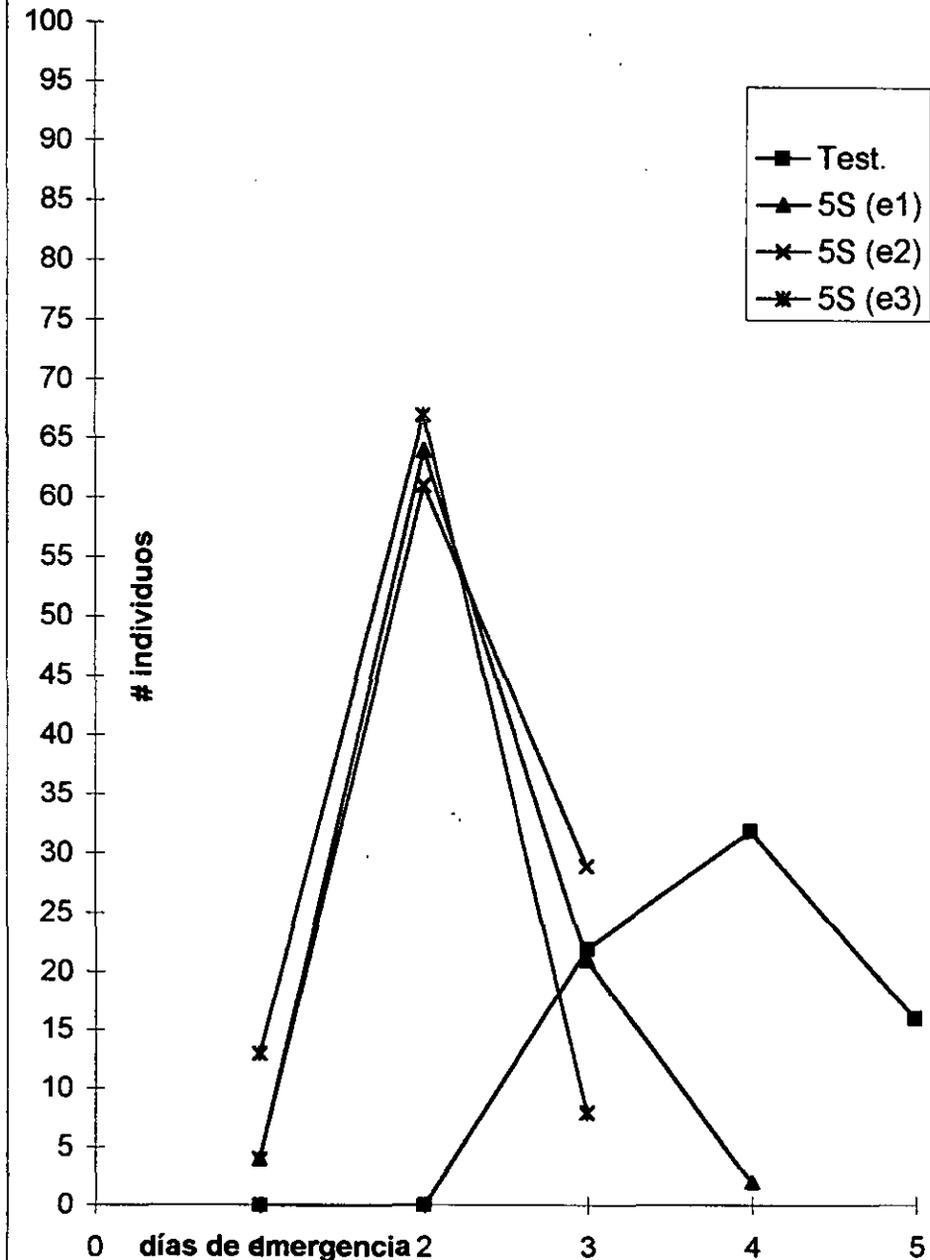


Tabla 29. NÚMERO TOTAL ACUMULADO DE ADULTOS EMERGIDOS. TESTIGO.

CONCENTRACIÓN	huevos	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
Levadura	100	0	0	22	54	70

Tabla 30. NÚMERO TOTAL ACUMULADO DE ADULTOS EMERGIDOS. SUSTITUYENTE.

## Ensayo 1

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1S	100	0	12	25	39	79
2S	100	0	17	28	55	86
3S	100	13	65	78	85	89
4S	100	5	69	92	93	-
5S	100	4	68	89	91	-

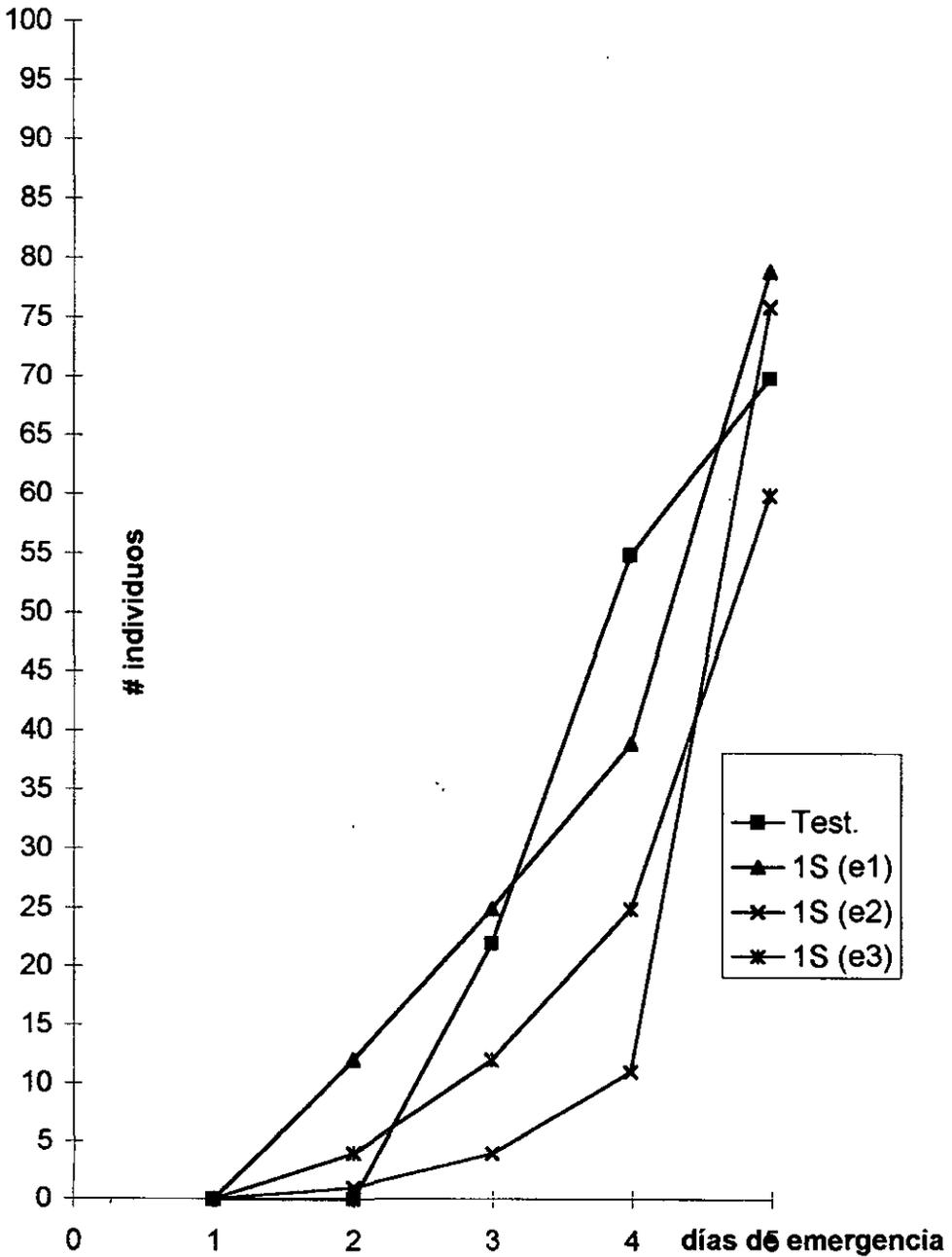
## Ensayo 2

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1S	100	0	1	4	11	76
2S	100	1	2	5	52	79
3S	100	10	57	77	81	-
4S	100	11	73	90	-	-
5S	100	4	65	94	-	-

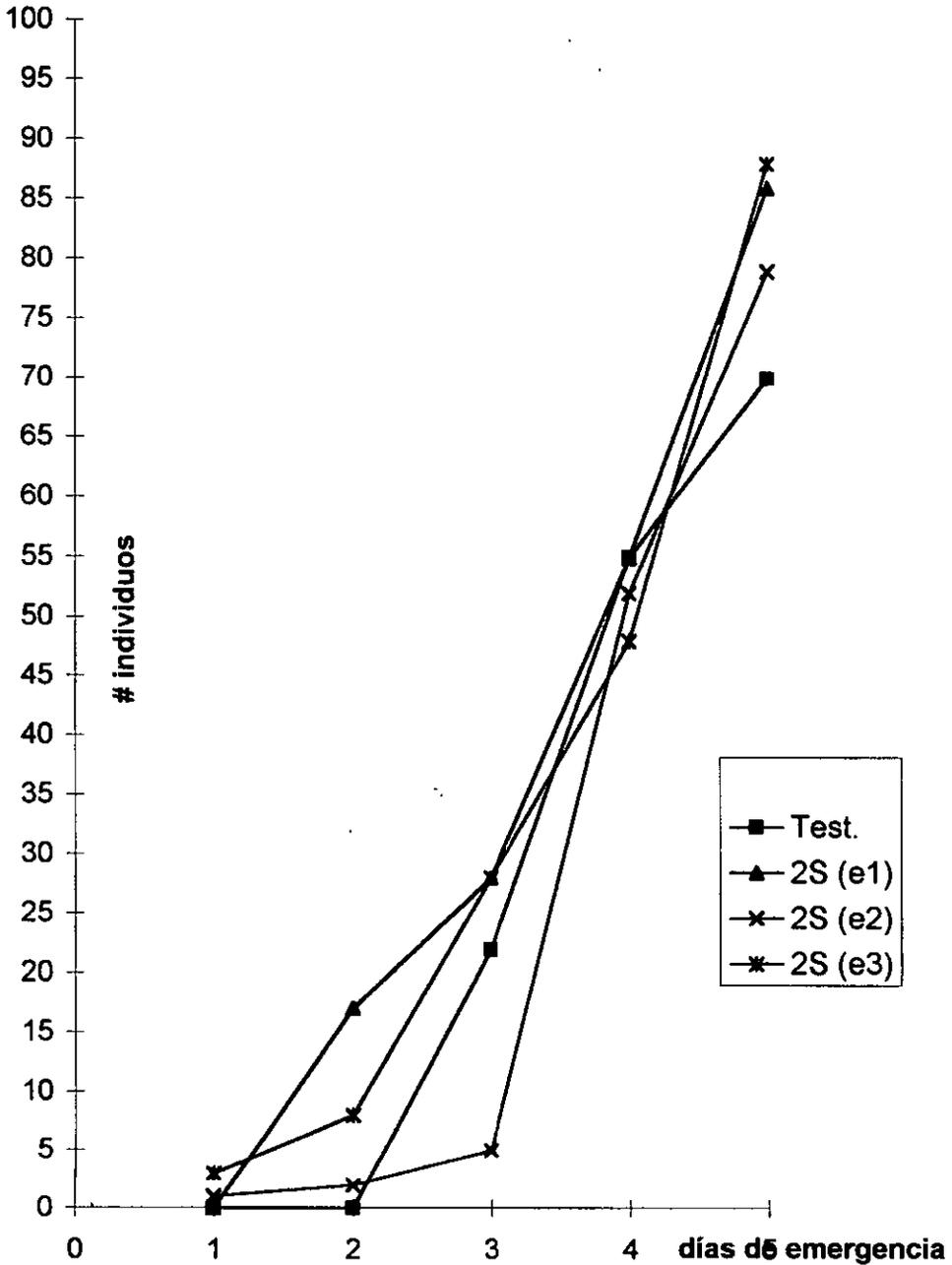
## Ensayo 3

Concentración	huevos totales	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12
1S	100	0	4	12	25	60
2S	100	3	8	28	48	88
3S	100	5	46	66	81	-
4S	100	10	72	78	83	-
5S	100	13	80	88	-	-

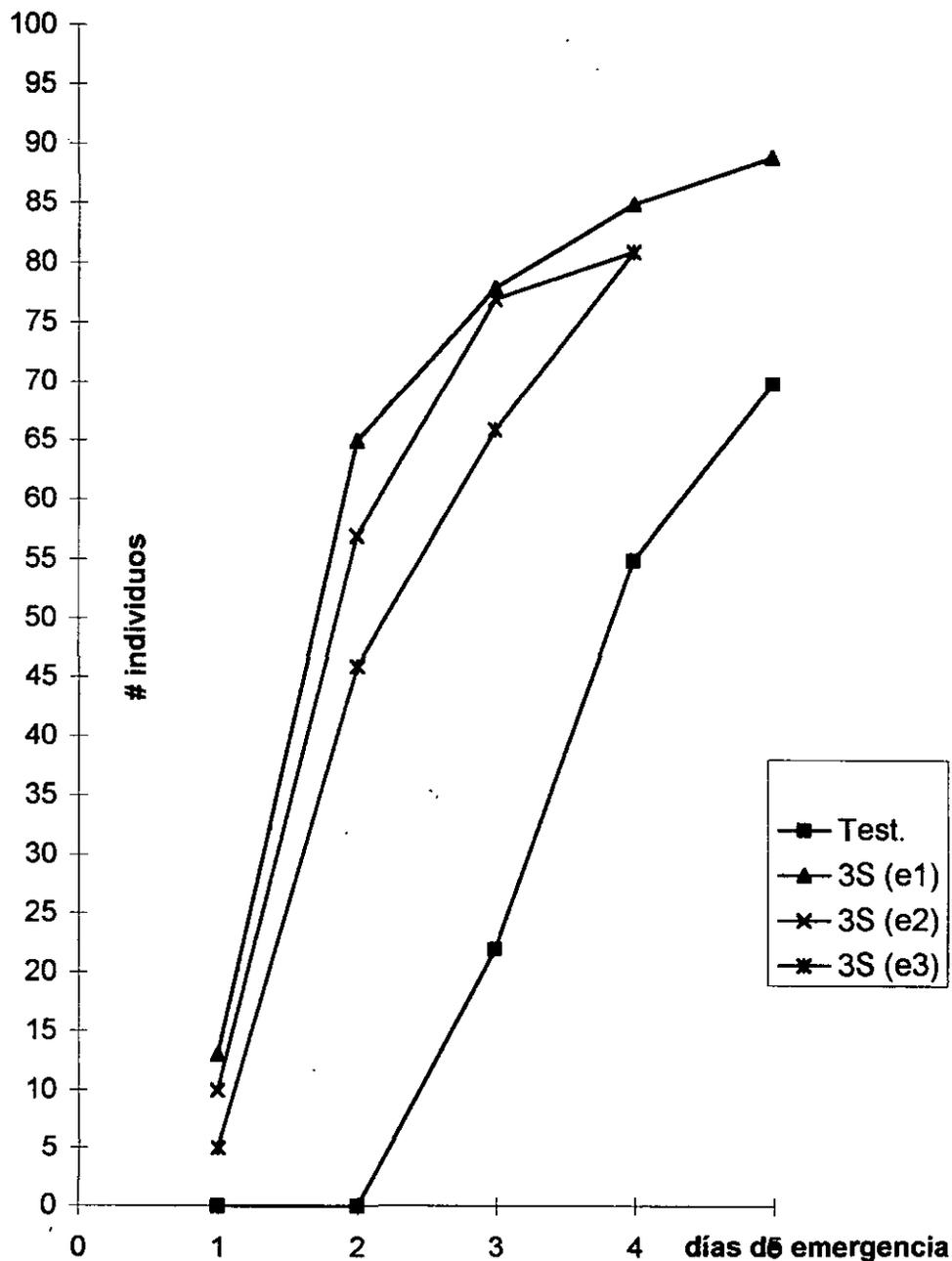
**Gráfica 18. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como sustituyente. Concentración 1 (acumulado).**



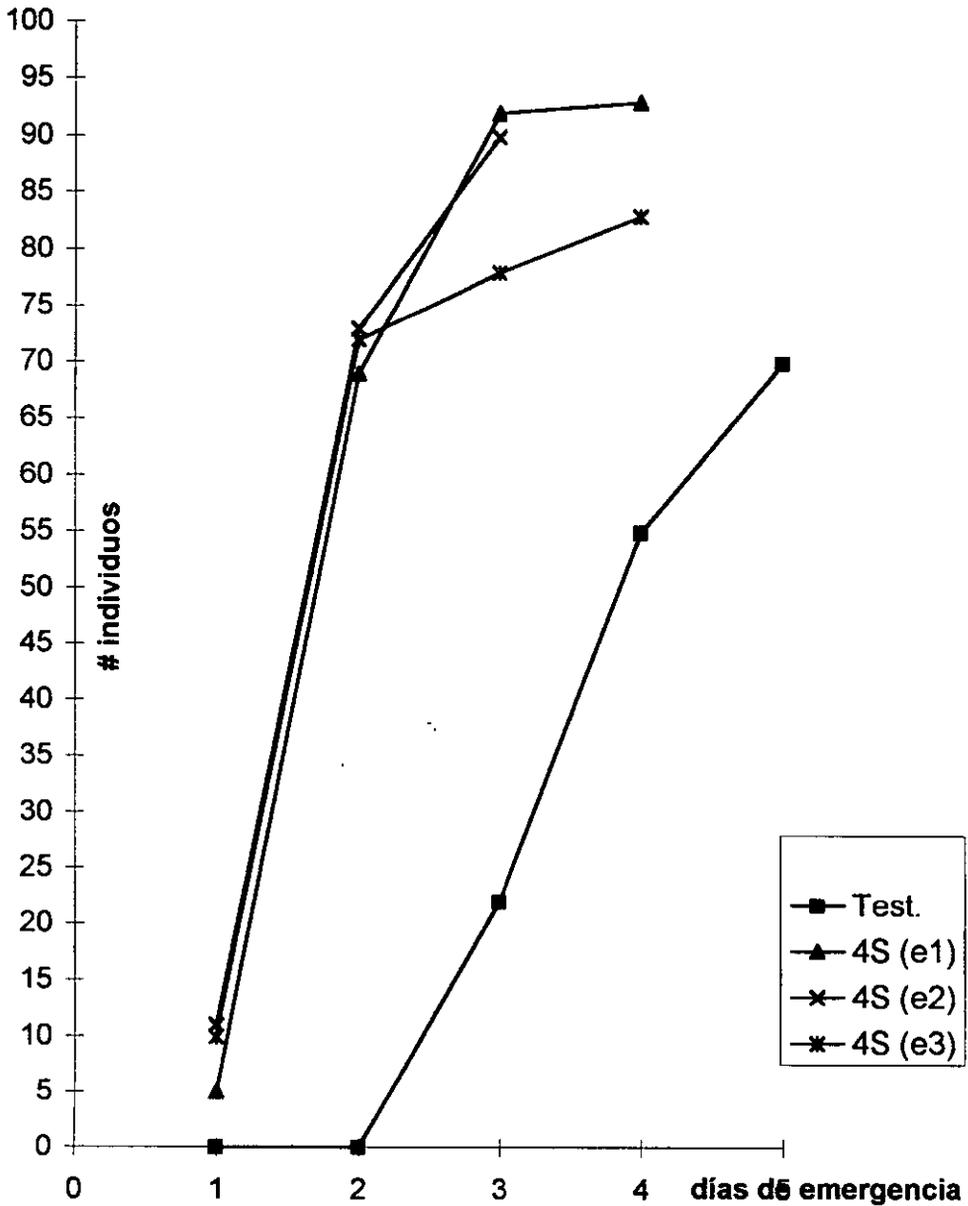
**Gráfica 19. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como sustituyente. Concentración 2 (acumulado).**



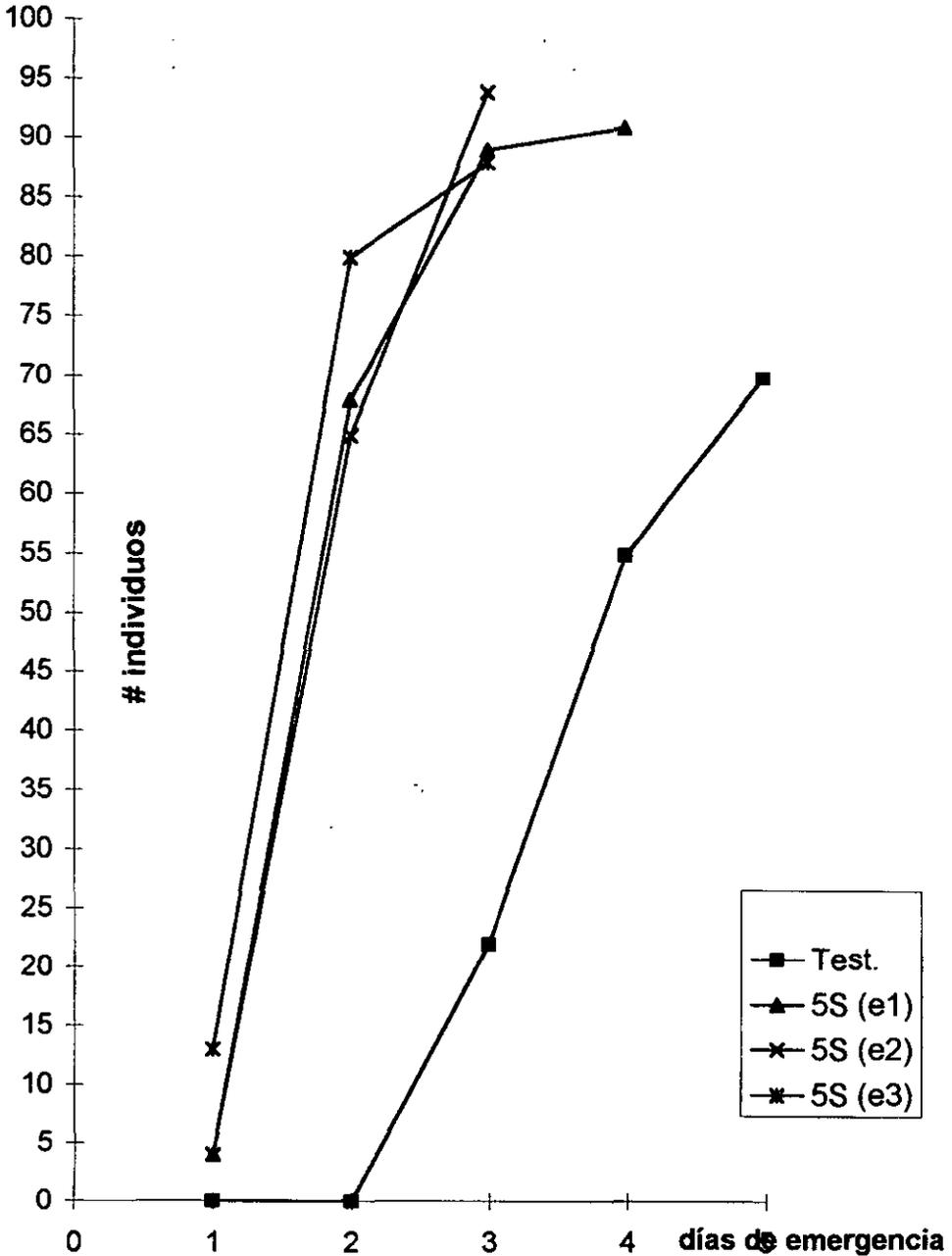
**Gráfica 20. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como sustituyente. Concentración 3 (acumulado).**



**Gráfica 21. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con Spirulina como sustituyente. Concentración 4 (acumulado).**



**Gráfica 22. Velocidad de desarrollo. Tratamiento con *Spirulina* como sustituyente. Concentración 5 (acumulado).**



Resultado de las cruza entre ls individuos tratados con *Spirulina*.

Donde T = tratados (as)

Conteo de huevos por cruza:

Tabla 31. HUEVOS OBTENIDOS SIN TRATAMIENTO CON *SPIRULINA*. (TESTIGO).

TESTIGO: ♀ x ♂

Repetición	Levadura
1	100
2	100
3	100

Tabla 32. HUEVOS OBTENIDOS CON TRATAMIENTO DE MEDIO SUSTITUYENTE.

ENSAYO 1: ♀<sup>T</sup> x ♂<sup>T</sup>

Repetición	1S	2S	3S	4S	5S
1	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	100

ENSAYO 2: ♀<sup>T</sup> x ♂

Repetición	1S	2S	3S	4S	5S
1	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	100

ENSAYO 3: ♀ x ♂<sup>T</sup>

Repetición	1S	2S	3S	4S	5S
1	47	41	100	81	2
2	37	51	70	100	26
3	56	52	96	76	13

Tabla 33. ADULTOS EMERGIDOS EN EL GRUPO TESTIGO.

Repetición	Levadura
1	73
2	76
3	80

Tabla 34. ADULTOS EMERGIDOS CON TRATAMIENTO DE MEDIO SUSTITUYENTE.

## ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 1.

Repetición	1S	2S	3S	4S	5S
1	79	79	91	89	86
2	96	83	94	96	91
3	81	93	87	97	91

## ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 2.

Repetición	1S	2S	3S	4S	5S
1	77	83	87	80	94
2	79	80	94	64	91
3	86	91	84	87	96

## ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 3.

Repetición	1S	2S	3S	4S	5S
1	47	40	93	79	2
2	32	51	69	93	23
3	54	49	92	76	11

Tabla 35. PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS EN EL GRUPO TESTIGO.

Repetición	Levadura (%)
1	73
2	76
3	80

**Tabla 36. PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS TRATAMIENTO CON MEDIO SUSTITUYENTE.**

**PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 1**

Repetición	1S (%)	2S (%)	3S (%)	4S (%)	5S (%)
1	79	79	91	89	88
2	96	83	94	96	91
3	81	93	87	97	91

**PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 2**

Repetición	1S (%)	2S (%)	3S (%)	4S (%)	5S (%)
1	77	83	87	80	94
2	79	80	94	64	91
3	86	91	84	87	96

**PORCENTAJE DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 3**

Repetición	1S (%)	2S (%)	3S (%)	4S (%)	5S (%)
1	100	97.56	93	97.53	100
2	86.48	100	98.57	93	88.46
3	96.43	94.23	95.83	100	84.61

**Tabla 37. PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS. TRATAMIENTO CON MEDIO SUSTITUYENTE.**

**PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 1.**

Dosis	1S	2S	3S	4S	5S
% PROM.	85	85	90.6	94	89.3

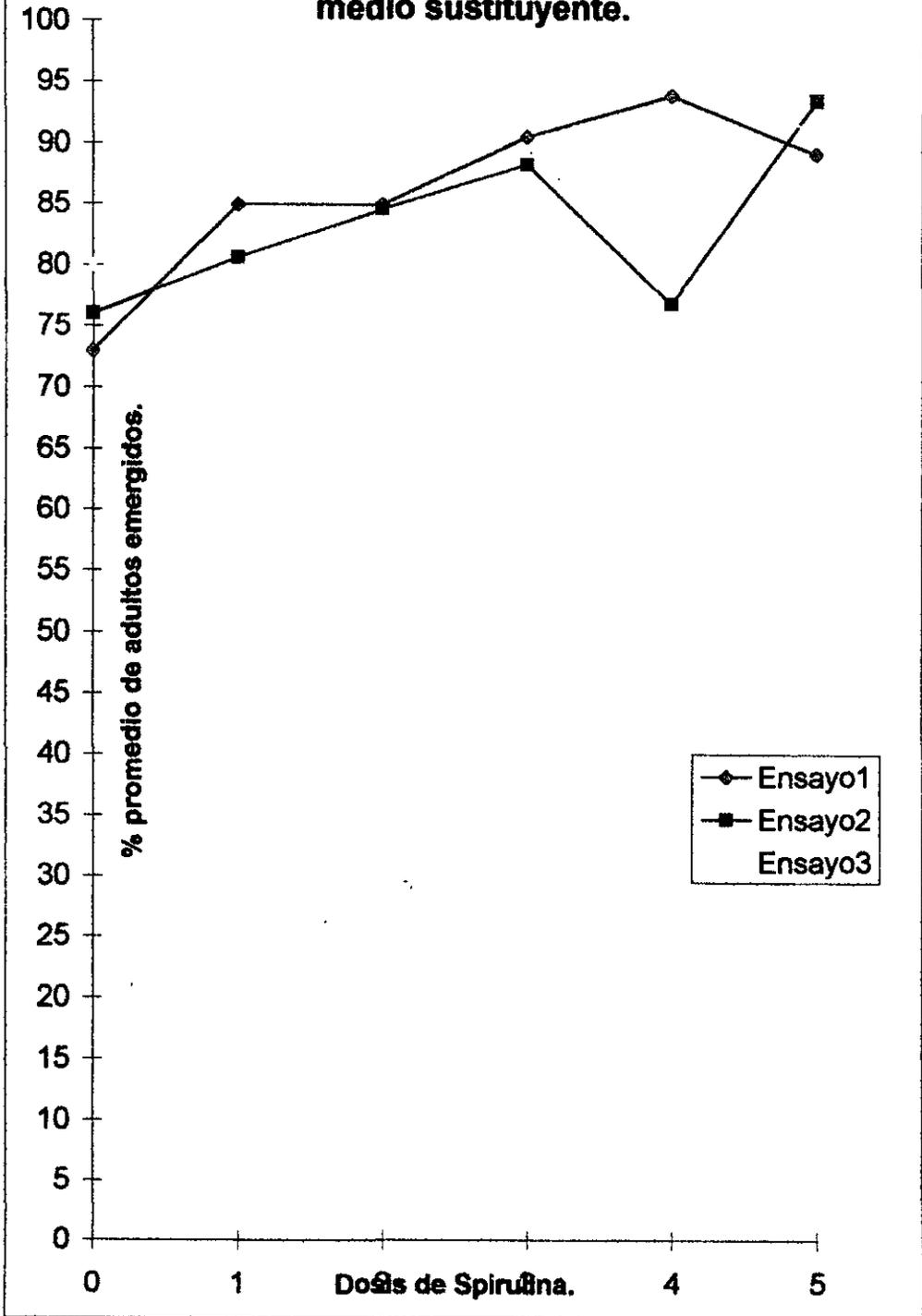
**PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 2.**

Dosis	1S	2S	3S	4S	5S
% PROM.	80.66	84.66	88.33	77	93.66

**PROMEDIO DE PORCENTAJES DE ADULTOS EMERGIDOS ENSAYO 3.**

Dosis	1S	2S	3S	4S	5S
% PROM.	94.3	97.26	95.8	96.84	91

**Gráfica 23. Viabilidad huevo-adulto en medio sustituyente.**



**Resultados de fecundidad.**

Se realizó sobre los medios 4C y 4S por aportar buenos resultados en los análisis de aumento en la velocidad de desarrollo.

**Tabla 38. CONTEO TOTAL DE HUEVOS POR CAJA EN EL MEDIO 4C.**

Testigo	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo3
503	555	283	18

**Tabla39. CONTEO TOTAL DE HUEVOS POR CAJA EN EL MEDIO 4S.**

Testigo	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo3
427	583	452	81

Considerando que el número de huevos sea X y el de moscas hembras puestas a ovopositar 100, entonces el número de huevos puestos por hembra es:

$$100\sqrt{X} = \text{No. huevos puestos por mosca.}$$

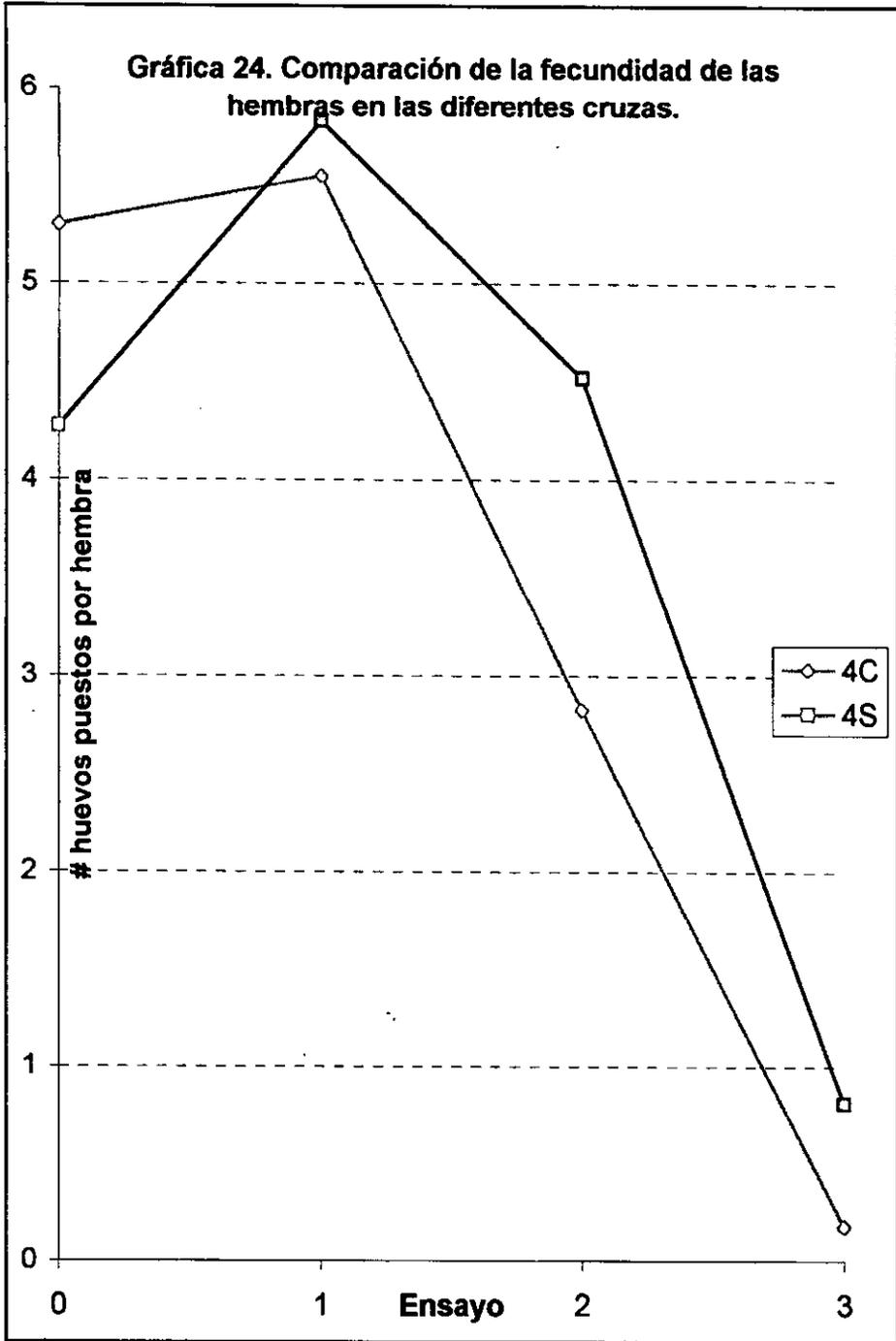
**Tabla 40. NUMERO DE HUEVOS PUESTOS POR CADA HEMBRA EN 4C.**

TESTIGO	ENSAYO 1	ENSAYO 2	ENSAYO 3
5.3	5.55	2.83	0.18

**Tabla 41. NUMERO DE HUEVOS PUESTOS POR CADA HEMBRA EN 4S.**

TESTIGO	ENSAYO 1	ENSAYO 2	ENSAYO 3
4.27	5.83	4.52	.81

**Gráfica 24. Comparación de la fecundidad de las hembras en las diferentes cruzas.**



**Resultados de la Fase 2. Evaluación de la capacidad antimutagénica de *Spirulina*.**

**Tabla 42 . NÚMERO TOTAL DE MANCHAS POR 100 OJOS. TESTIGO POSITIVO (tratamiento de MMS).**

		Concentración de MMS (mM)			
		0.00	0.02	0.04	0.06
Grupo	No. ojos				
Levadura	100	4	42	141	233

**Tabla 43 . NÚMERO TOTAL DE MANCHAS POR 100 OJOS. MEDIO DE COMPLEMENTO.**

		Concentración de MMS (mM)			
		0.00	0.02	0.04	0.06
Grupo	No. ojos				
1C	100	5	26	20	35
2C	100	5	21	26	61
3C	100	10	22	10	68
4C	100	5	18	23	32
5C	100	14	25	33	66

**Tabla 44 . NÚMERO TOTAL DE MANCHAS POR 100 OJOS. MEDIO SUSTITUYENTE.**

		Concentración de MMS (mM)			
		0.00	0.02	0.04	0.06
Grupo	No. ojos				
1S	100	7	45	97	135
2S	100	7	20	78	139
3S	100	6	40	180	157
4S	100	11	38	134	130
5S	100	23	121	80	159

**Determinación de  $\chi^2$  en:**

- A. Testigo de levadura VS testigos de medios spirulínicos.  
 B. Testigo de levadura VS testigo positivo. (t $\oplus$ ).  
 C. Testigo de cada medio spirulínico VS cada concentración de MMS en cada medio spirulínico.  
 D. Testigo positivo de cada concentración de MMS VS la misma concentración de MMS en cada medio spirulínico.

Se utilizó la fórmula  $\sum (\text{observado}-\text{esperado} / \text{esperado})^2$

Se tomó una sensibilidad del 0.05 para la cual tenemos que  $n=1$  y  $\chi^2 = 3.841$  (Herbert & Raymond, 1968) ; todos los valores por debajo de éste último son no significativos y todos los valores por encima de este valor son significativos.

**Tabla 45. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (A) MEDIOS DE COMPLEMENTO.**

Grupo	$\chi^2$
t (lev) VS t (1C)	0.25
t (lev) VS t (2C)	0.25
t (lev) VS t (3C)	9.00*
t (lev) VS t (4C)	0.25
t (lev) VS t (5C)	25.00*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$

**Tabla 46. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (A) MEDIOS SUSTITUYENTES.**

Grupo	$\chi^2$
t (lev) VS t (1S)	2.25
t (lev) VS t (2S)	2.25
t (lev) VS t (3S)	1.0
t (lev) VS t (4S)	12.25*
t (lev) VS t (5S)	90.25*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$

Tabla 47. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (B).

Grupo	$\chi^2$
t (lev) VS t $\oplus$ (0.02)	361.00*
t (lev) VS t $\oplus$ (0.04)	4692.25*
t (lev) VS t $\oplus$ (0.06)	13110.25*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 48. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t (1C) VS 1C (0.02)	88.20*
t (1C) VS 1C (0.04)	45.00*
t (1C) VS 1C (0.06)	180.00*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 49. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t (2C) VS 2C (0.02)	51.20*
t (2C) VS 2C (0.04)	88.20*
t (2C) VS 2C (0.06)	627.20*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 50. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t (3C) VS 3C (0.02)	14.40*
t (3C) VS 3C (0.04)	0.00
t (3C) VS 3C (0.06)	336.40*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 51. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t (4C) VS 4C (0.02)	24.20
t (4C) VS 4C (0.04)	64.80
t (4C) VS 4C (0.06)	145.80

\*Valores significativos;  $P > 0.05$

Tabla 52. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t (5C) VS 5C (0.02)	8.6528*
t (5C) VS 5C (0.04)	10.9393*
t (5C) VS 5C (0.06)	193.1428*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 53. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t (1S) VS 1S (0.02)	104.1428*
t (1S) VS 1S (0.04)	1157.1428*
t (1S) VS 1S (0.06)	2340.5714*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 54. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t (2S) VS 2S (0.02)	24.1428*
t (2S) VS 2S (0.04)	720.1428*
t (2S) VS 2S (0.06)	2489.1428*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 55. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t (3S) VS 3S (0.02)	192.6666*
t (3S) VS 3S (0.04)	5046.00*
t (3S) VS 3S (0.06)	3800.16666*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 56. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t (4S) VS 4S (0.02)	66.2727*
t (4S) VS 4S (0.04)	1375.3636*
t (4S) VS 4S (0.06)	1287.3636*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$

Tabla 57. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (C) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t (5S) VS 5S (0.02)	417.5652*
t (5S) VS 5S (0.04)	141.2608*
t (5S) VS 5S (0.06)	804.1739*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 58. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t $\oplus$ (0.02) VS 1C (0.02)	6.0952*
t $\oplus$ (0.04) VS 1C (0.04)	103.8368*
t $\oplus$ (0.06) VS 1C (0.06)	188.2575*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 59. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t $\oplus$ (0.02) VS 2C (0.02)	10.50*
t $\oplus$ (0.04) VS 2C (0.04)	93.7943*
t $\oplus$ (0.06) VS 2C (0.06)	128.9699*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 60. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t $\oplus$ (0.02) VS 3C (0.02)	9.5238*
t $\oplus$ (0.04) VS 3C (0.04)	121.7092*
t $\oplus$ (0.06) VS 3C (0.06)	116.8454*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$

Tabla 61. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 4C (0.02)	16.0952*
t⊕ (0.04) VS 4C (0.04)	98.7517*
t⊕ (0.06) VS 4C (0.06)	173.3948*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 62. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS DE COMPLEMENTO.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 5C (0.02)	6.8809*
t⊕ (0.04) VS 5C (0.04)	82.7234*
t⊕ (0.06) VS 5C (0.06)	119.6952*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 63. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 1S (0.02)	1.5238
t⊕ (0.04) VS 1S (0.04)	13.7304*
t⊕ (0.06) VS 1S (0.06)	41.2188*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 64. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 2S (0.02)	11.5238*
t⊕ (0.04) VS 2S (0.04)	28.1489*
t⊕ (0.06) VS 2S (0.06)	37.9227*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$

Tabla 65. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 3S (0.02)	0.0952
t⊕ (0.04) VS 3S (0.04)	10.7872*
t⊕ (0.06) VS 3S (0.06)	24.7896*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 66. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 4S (0.02)	0.3809
t⊕ (0.04) VS 4S (0.04)	0.3475
t⊕ (0.06) VS 4S (0.06)	45.5321*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ Tabla 67. VALORES DE  $\chi^2$  PARA (D) MEDIOS SUSTITUYENTES.

Grupo	$\chi^2$
t⊕ (0.02) VS 5S (0.02)	148.5952*
t⊕ (0.04) VS 5S (0.04)	26.39*
t⊕ (0.06) VS 5S (0.06)	23.5021*

\*Valores significativos;  $P > 0.05$ 

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## VII. Resultados y Discusión.

El análisis de la ganancia en peso de larvas de *D. melanogaster* tratadas con medios spirulínicos mostró que las larvas alimentadas sólo con *Spirulina* a las diferentes concentraciones probadas presentaron un aumento de peso considerable con respecto al testigo de levadura observándose claramente en el caso de la concentración 3S, con 4.37g *Spirulina*/125ml de medio contra la misma cantidad de levadura en 125ml de medio en el testigo (tablas 12,13-gráfica 1); aquí podemos destacar que el medio sustituyente aumentó más de tres veces el peso que se obtiene con levadura. (El mayor aumento en volumen también se observó con el medio 3S, se duplicó el volumen obtenido en el testigo [tablas 12,13- gráfica 1]). Por otro lado en los medios de complemento se obtuvo un aumento de peso en todos los casos destacándose en el medio 5C, que contiene con 3.28g de levadura y 1.09g de *Spirulina* en 125ml de medio (tablas 12,13- gráfica 1). Se registró también un aumento en volumen (tabla 14). Los resultados obtenidos son acordes con lo reportado por Priestley (1976) para bovinos y por Sosa Texcoco (1978) para aves; en ambos casos se establece a la *Spirulina* como una fuente de proteína que promueve la ganancia en peso del animal alimentado con ella, redundando en el aumento de carne y proteína por Kg de carne que se obtienen de dichos animales.

El valor de la velocidad de desarrollo es un factor que interviene en la selección, pues confiere a sus portadores ciertas ventajas adaptativas. Podemos considerar que el aumento que se registró en la velocidad de desarrollo se debe a la *Spirulina* proporcionada en el medio ya que la temperatura, que es el principal factor ambiental que puede aumentarla o disminuirla (Demerec, M. *et. al.* 1975 ), se mantuvo controlada durante todo el experimento mediante una estufa en la que se colocaban los frascos con las moscas de los diferentes tratamientos.

Cabe recordar que el día de emergencia normal esperado y registrado en el testigo es el décimo en el ciclo de vida de la mosca. La emergencia encontrada antes de este día se considera un adelanto en la velocidad de desarrollo de los individuos.

Considerando el tratamiento acumulado se observó que en la concentración 1C (dosis alta de *Spirulina*) no hubo adelanto en el tiempo de desarrollo, emergiendo las moscas el mismo día que el testigo pero existiendo una tasa alta de sobrevivencia del 80%. En la dosis 2C se observa muy poco adelanto en la velocidad de desarrollo emergiendo pocos individuos en el noveno día pero una tasa de sobrevivencia del 90%, 20% más que la del testigo que resultó ser del 70% (tablas 18,19- gráficas 7,8).

En el caso de la dosis 3C, con concentraciones iguales de levadura y *Spirulina*, se observó un adelanto de 2 días emergiendo los individuos en el octavo día del ciclo; la sobrevivencia fue aproximadamente del 70%, casi igual a la del testigo pero la emergencia de todos los individuos terminó un día antes (tablas 18,19- gráfica 9).

En la dosis 4C (dosis baja de *Spirulina*) se observó un incremento de dos días en la velocidad de desarrollo emergiendo en el octavo día pero terminando de emerger igual que el testigo. La sobrevivencia promedio fue del 75% , más alta que la del testigo (tablas 18,19- gráfica 10).

Para la concentración 5C (dosis baja de *Spirulina*) encontramos el mismo caso en la velocidad de desarrollo con una emergencia en el octavo día, terminando un día antes que el testigo la emergencia total. La sobrevivencia promedio fue del 85%, más alta que la del testigo (Tablas 18,19- gráfica 11).

En la concentración 1C, en los resultados de las tablas 16,17- gráfica 2, se observa que la mayoría de los adultos emergieron el mismo día que el testigo (décimo día) con un número de individuos registrados menor del 50% en el principal día de emergencia. En el caso de la dosis 2C se observa un poco de emergencia en el noveno día pero se registra la mayor el décimo siendo cercana al 50% (tablas 16,17- gráfica 3).

En el caso de la concentración 3C tenemos emergencia desde el octavo día pero esta es mínima registrándose la mayor proporción en el noveno cercana al 50% también (tablas 16,17- gráfica 4).

En la concentración 4C encontramos la mayor emergencia el noveno día y un adelanto mínimo en el octavo, la emergencia es un poco mayor al 50% y para el caso de 5C tenemos un adelanto mínimo en el octavo día y una emergencia casi total en el noveno y cercana al 60% (tablas 16,17- gráficas 5,6).

Analizando los datos del tratamiento acumulado obtenidos con el medio sustituyente en los resultados contenidos en las tablas 29,30 y la gráfica 18, podemos observar que para el caso de la concentración 1S (dosis baja de *Spirulina*) hubo adelanto en la velocidad de desarrollo registrándose emergencia de los individuos el día noveno, emergiendo un día antes que el testigo y con una tasa de sobrevivencia cercana al 80% y mayor a la del testigo de 70%. La emergencia terminó el mismo día que el testigo de levadura.

En la concentración 2S (baja dosis de *Spirulina*) se observó un aumento en la velocidad de desarrollo de dos días con respecto al testigo y una tasa de sobrevivencia cercana al 85%, mayor a la del testigo. La emergencia de moscas total se registró el mismo día que en el testigo (tablas 29,30- gráfica 19).

En cuanto a la concentración 3S (igual cantidad de *Spirulina* que de levadura en el testigo) también se observó un aumento en la velocidad de desarrollo existiendo emergencia de las moscas dos días antes que el testigo y una tasa de sobrevivencia de alrededor del 85% (tablas 29,30- gráfica 20). En este caso la emergencia de los individuos se dió en su mayoría un día antes que la del testigo excepto en uno de los casos en donde el doceavo día emergieron un número no significativo de individuos.

Analizando la concentración 4S se registró un aumento en la velocidad de desarrollo de dos días y la tasa de sobrevivencia resultó del 90%, 20% mayor a la del testigo. Además la totalidad de la emergencia terminó un día antes que la del testigo (tablas 29,30- gráfica 21).

En la concentración 5S tenemos un adelanto de dos días en la velocidad de desarrollo y una tasa de sobrevivencia de más del 90%. En este caso podríamos considerar que la totalidad de la emergencia se dió dos días antes que la del testigo (décimo día), resultando ser el día en el cual el testigo comenzó a emerger, a excepción de uno de los casos en la que emergieron 2 moscas más el onceavo día pero el número no es significativo (tablas 29,30- gráfica 22).

Analizando los resultados a partir del número de adultos emergidos por día podemos observar que no en todos los casos hay un aumento en la velocidad de desarrollo ya que en las dosis bajas en *Spirulina* observamos lo siguiente:

Para 1S (tablas 27,28- gráfica 13), la mayoría de los adultos emergieron el doceavo día, un día después del principal día de emergencia que el testigo de levadura con un número de individuos registrados del 65% a diferencia del 32% registrado en el testigo el onceavo día.

En 2S tenemos que el día de mayor emergencia resultó ser el mismo que el del testigo con un número de individuos de 47%, mayor al del testigo (tablas 27,28- gráfica 14).

En ambos casos se observa emergencia previa a la del testigo pero en poca cantidad.

Para las dosis más altas de *Spirulina* podemos observar que:

En 3S el mayor día de emergencia se registra dos días antes del día correspondiente al testigo y con un número de individuos del 52% (tablas 27,28- gráfica 15).

Para 4S emergencia mayor se obtuvo dos días antes que la del testigo y con un número de individuos del 64% (tablas 27,28- gráfica 16), mayor a la concentración 3S.

Y para el caso de 5S (tablas 27,28- gráfica 17), observamos el mejor día de emergencia también dos días antes que el del testigo pero con un número de individuos registrados mayor a 4S, del 67%.

En los tres casos la emergencia comienza antes que en el testigo de forma significativa.

En el tratamiento de complemento podemos observar que el aumento en la velocidad de desarrollo se da en forma significativa, un día de adelanto en el ciclo, a partir de la concentración 2C y va en aumento al ir disminuyendo la cantidad de *Spirulina* presente obteniéndose dos días de adelanto en el ciclo para las concentraciones 3C, 4C y 5C.

En el caso del tratamiento sustituyente observamos que en todos los casos se registra un aumento en la velocidad de desarrollo haciéndose más significativo conforme aumenta la cantidad de *Spirulina* en el medio, obteniéndose dos días de adelanto en el ciclo a partir de la concentración 2S hasta la 5S y solamente un día de adelanto para la 1S.

Por otro lado la tasa de sobrevivencia es mayor a la del testigo en ambos casos siendo más significativa en el medio sustituyente con, mínimo, un 10% mayor a la del testigo.

En cuanto a la emergencia total cabe resaltar que en el caso de 5S se registró el término del ciclo dos días antes que el del testigo siendo, en realidad, el día de emergencia de éste último.

Para ambos tratamientos se registró el día noveno como el de mayor emergencia en los casos en los que el aumento en la velocidad de desarrollo fue más significativo, esto es, dos días antes del día de mayor emergencia determinado para el testigo.

De acuerdo a los datos obtenidos de las diferentes cruces en los medios de complemento (tabla 26- gráfica de viabilidad huevo-adulto 12), la *Spirulina* incrementa la viabilidad huevo-adulto en todos los tratamientos en ambos sexos con respecto al testigo de levadura. Los datos muestran que los espermatozoides producidos en los machos tratados con *Spirulina* son significativamente más viables que los no tratados. El incremento de la viabilidad en los grupos donde se trataron hembras y machos no es aditivo.

Los resultados obtenidos indican que el medio complementado con *Spirulina* determina la formación de gametos con mayor viabilidad, más significativa en los machos, lo que sugiere que la *Spirulina* contiene elementos que favorecen la fertilidad de los espermatozoides y el desarrollo total de los cigotos que forman.

En la gráfica observamos que en la dosis 4C del ensayo 1, el porcentaje de adultos emergidos es menor incluso al del testigo. Durante el desarrollo del experimento se sufrió de una contaminación en el medio con levaduras que provocó que dos de las réplicas tuvieran poca emergencia. De acuerdo a todos los estudios realizados a lo largo del experimento podemos sugerir que la baja emergencia en estos casos se debió a la contaminación y que en realidad la tendencia es que la emergencia sea mucho mayor.

De acuerdo a los valores obtenidos de las diferentes cruces en los medios sustituyentes (tabla 37), la viabilidad huevo adulto también se favorece con la administración de *Spirulina* como fuente de proteína sustituyente (gráfica 23) y en comparación con los valores observados con el tratamiento de *Spirulina* como complemento (gráfica 12) es más eficiente el primero.

En lo relativo a la fecundidad, el tratamiento de machos con *Spirulina* redujo la fecundidad (tabla 40- gráfica 24) pero la viabilidad huevo-adulto fue mayor que en los otros ensayos. En otras pruebas, esto ha sido considerado como una respuesta adaptativa. (Pimentel, *et al.* Datos no publicados).

Analizando los datos de la Fase 2 observamos que el tratamiento con MMS dió un resultado positivo en todos los casos tratados.

Los valores de  $X^2$  al comparar los grupos testigo con cada concentración probada siempre fueron significativos, es decir, se encontro mutación tanto en el testigo positivo como en las dosis de tratamiento con *Spirulina* en todos los casos.

Los valores de  $X^2$  al comparar los grupos testigo con *Spirulina* de cada concentración contra el testigo de levadura no muestran diferencias significativas por que la dosis de *Spirulina* administrada no promueve ninguna mutación a los individuos, excepto en los casos de las concentraciones 3C, 5C, 4S y 5S (tablas 43,44). Cabe aclarar que, en las dosis de medios sustituyentes 4S y 5S, la cantidad de *Spirulina* presente en el medio era muy alta en 4S y excesivamente alta en 5S; lo que pudo ser el factor que indujo las frecuencias de mutación con valores significativamente positivos.

Las frecuencias de mutación observadas en los grupos 3C, 5C, 4S y 5S sugieren que la *Spirulina* en determinadas concentraciones tiene un efecto mutagénico no esperado. Estos resultados son similares a lo observados con compuestos como Vitamina A y los extractos de ajo (Wolff, S.R. 1991).

La administración de la *Spirulina* redujo la frecuencia de mutación inducida por el MMS, como podemos observar en los valores de  $X^2$  altamente significativos, demostrando que el alga tiene un efecto antimutagénico frente al MMS en todas sus concentraciones, excepto en 3S a dosis de 0.04 de MMS (tablas 44,65), donde hay significancia de una mayor mutación debida a la administración del mutágeno en presencia de *Spirulina*, con respecto a la registrada en el testigo positivo; pero para poder interpretar este resultado es necesario repetir el experimento y probar más concentraciones de *Spirulina* cercana, por arriba y por abajo, a la de 3S ya que la diferencia en gramos de 2S a 3S es de 2.188g y entre 3S y 4S de 4.375g (tabla 9).

Los resultados de mayor actividad antimutagénica fueron los registrados con los medios de complemento. El número de manchas encontrado está muy por debajo de aquel del testigo positivo y por debajo también de el de los medios sustituyentes, en todos los casos.

Es probable que debido a la facilidad de la ingesta de la *Spirulina* en estos medios la mutación provocada por el MMS se vio muy disminuida gracias a la presencia de sustancias como las clorofilas y los carotenos que impiden la acción de los radicales libres que promueven las mutaciones y de el MMS que ataca las bases del tipo guanina y timina impidiendo la metilación del oxígeno en la molécula que promueve la transición de pares GC → AT y TA → CG, en la replicación del ADN. ( Peter, J. et al. 1992).

## VIII. Conclusiones.

- Administrando la *Spirulina* como complemento a dosis bajas, se presentó un adelanto en la velocidad de desarrollo significativo de dos días.
- Como complemento, a dosis altas la viabilidad huevo-adulto aumenta.
- La *Spirulina* como sustituyente en todos los casos aumentó significativamente la velocidad de desarrollo y la viabilidad huevo-adulto de los individuos tratados con respecto al testigo.
- La *Spirulina* como complemento se incorpora con facilidad y a concentraciones bajas que a concentraciones altas se registra un aumento de peso en larvas también significativo con respecto a las dosis altas y mucho mayor al del testigo.
- Como sustituyente la *Spirulina* presenta problema en la ingesta por parte del individuo debido a su viscosidad. Se registra un aumento de peso en larvas mucho mayor al observado con levadura, de forma importante en las dosis 3S y 5S.
- Para medios de complemento disminuyen los procesos degenerativos de las células permitiendo que los cigotos formados alcancen la madurez totalmente en un periodo de desarrollo menor al normal.
- La viabilidad huevo-adulto en los medios de complemento se incrementa más en la descendencia de los machos tratados que en la de las hembras.
- En los medios sustituyentes también se favorece la viabilidad huevo-adulto resultando mas eficiente que en los medios de complemento.

- La fecundidad se redujo en los machos tratados con *Spirulina* como complemento y como sustituyente.
  
- La administración de *Spirulina* como complemento y como sustituyente disminuyó considerablemente la frecuencia de mutación inducida por el MMS en todos los casos.
  
- La mayor actividad antimutagénica se presentó con los medios de complemento.
  
- Se puede tribuir a los carotenos y las clorofilas la acción antimutagénica.
  
- La *Spirulina* es un alimento que presenta propiedades nutricionales y antimutagénicas, ya que como fuente de proteína permite un excelente desarrollo del individuo y en su actividad antimutagénica demuestra ser muy eficiente frente a mutágenos. Por todo lo observado se concluye que la *Spirulina* es un alimento funcional.

## Bibliografía.

- Baars A, Zijlstra J, Vogel E, Breimer D. The occurrence of cytochrome p-450 and aryl hydrocarbon hydroxylase activity in *Drosophila melanogaster* microsomes and the importance of this metabolizing capacity for the screening of carcinogenic and mutagenic properties of foreign compounds. *Mutation Research* 44: 257-277. (1977).
- Barragán Meza, D. Efecto y evaluación del alga *Spirulina* (*Spirulina geitleri*) como fuente de proteína para rumiantes. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México, (1975).
- Blum, J.C., Guillaumin, S. et Calet, C. Valeur alimentaire des algues spirulines pour la poule pondense. *Ann. Nutr. Alim.* 29: 675-682 (1975).
- Boonyaratpalin M. and Unprasrt N. Effect of pigments from different sources on changes and growth of red *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 79: 375-380 (1989).
- Bridges, B. Evaluation of mutagenicity and carcinogenicity using a three-tier system. *Mut. Res.* 41,71-72. (1976).
- Bronzetti G, Galli A, Della Croce C. Antimutagenic effects of chlorophyllin. In: Kuroda Y, Shankel D, Waters M (eds) Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanisms. Plenum, New York, p.p. 463-468. (1990).
- Bronzetti G, Galli A, Della Croce C. The role of short term test in antimutagenic studies: studies of chlorophyllin and cobalt In: Abstracts, 2<sup>nd</sup> international conference on mechanisms of antimutagenesis and anti-carcinogenesis, Ohito, Japan, December 1988 p. 73. (1988).
- Buenrostro P.J. Efecto de la utilización de pigmentos en la alimentación de las aves. Tesis de Licenciatura. Fac. De Med. Y Zoot. UNAM. México (1982).
- Chris L. Fundamentos de estadística. Limusa S.A. México (1978).
- Clément, G. Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *máxima*. *Ann. Nutr. Alim.* 29: 477-488 (1975).
- Conn, E. y Stumpf, P. Bioquímica Fundamental. 3ra. Limusa S.A. México (1978)
- Dan L. Lindsley & E.H. Grell. Genetic Variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution of Washington Publication No. 627. Biology Division, Oak Ridge Laboratory. USA (1967).
- Decken Von Der A. Nutritional evaluation of the microalgae. In Shelef G. and Soeder, C.J. (editors) *Algae Biomass*. North-Holland Biomedical Press. Elsevier 661-666 (1980).
- De la Rosa Duque Ma Esther. Efecto de los metales pesados en las células germinales de *Drosophila melanogaster*. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México (1984).
- Demerec, M. Kaufmann, B.P. Guía de *Drosophila*. Introducción a la genética y citología de *Drosophila melanogaster*. 7ª Edición. Institución Carnegie de Washington. Cold Spring Harbor, NY (1975).
- De Serres, F. Prospects for a revolution in the methods of toxicological evaluation. *Mut. Res.* 38:165-176. (1976).
- Durand-Chastell, H. Production and use of *Spirulina* in México. In Shelef, G. and Soeder, C.J. (edit.) *Algae Biomass*. North-Holland Biomedical Press. Elsevier (1980).
- Elvira Ruiz, Ma. E. Rodríguez, Eduardo Madrigal, Germán Chamorro, Elvira González, Ma. Gloria Gomez. Tartrazina; inhibición de su actividad genotóxica por *Spirulina máxima*. V Congreso conjunto. Sociedad mexicana de toxicología genética A.C. Acapulco Guerrero p.37 (1998).
- Enciclopedia de las ciencias naturales. Vol.3 (Botánica). Ediciones Nauta. España (1989).
- E.W. Vogel. Department of Radiation Genetics & Chemical Mutagenesis. Training course on somatic genotoxicity assays with *Drosophila melanogaster*. The Netherlands. (1988).
- E.W. Vogel. Somatic Mutation and recombination Test, SMART in *Drosophila melanogaster*. The W/W+ eye mosaic technique. Department of Radiation Genetics & Chemical Mutagenesis, Sylvius Lab. The Netherlands. (1989)
- Fevner, C. et Seve, B. Essais d'incorporation de *Spiruline* (*Spirulina máxima*) dans le aliments des porcins. *Ann. Nutr. Alim.* 29: 625-650 (1975).
- Food and Agriculture Organization and World Health Organization. Energy and Protein requirements (joint report FAO-OMS). Nutrition report series,52. FAO, Rome (1973).
- Friedrich E. Würzler and Albert Kägi. Genotoxicity testing with the somatic *white-ivory* system in the eye of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 263, p.p. 36-39 (1991).

- Furst, P.T. *Spirulina*. A nutritious alga, once a staple of aztecs diets, could feed many of the world's hungry people. *Hum. Nat.* 3: 60-65 (1978).
- Gaceta UNAM. Las algas comestibles del Valle de México, aprovechables a nivel industrial. *Gaceta UNAM*, séptima época, II (23). Cd. Universitaria (1984).
- García, B.J. *Tecnología de la explotación piscícola*. Mundi-Prensa. Madrid (1985)
- Graf et al. 1992, *Mutat. Res.* 286, 197-203.
- Hefner, B., Chervinski, J. And Tagari, H. Studies on carp Nutrition. III. Experiment on the effect on fish yield of dietary protein source and concentration. *Bawidgoh* 23: 11-37 (1971).
- Herbert, A., Raymond, R. *Tables for Statisticians*. 2<sup>o</sup> Edition. Barnes & Noble, INC. NY, p.p.126.
- H. Ohgashi, T. Osawa, J. Terao, S. Watanabe, T. Yoshikawa (Eds.) *Food Factors for cancer Prevention. Antimutagenesis in Somatic Cells of Drosophila as Monitored in Wing Spot Test*. Springer-Verlag Tokyo, Japan p.p. 567-571. (1997).
- L. Serrano Rodrigo. Efecto pigmentante de la *Spirulina* en la tilapia híbrida (*Oreochromis sp.*). Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Y Vet. Zoot. UNAM. México (1994).
- Lai C, Butler M, Matney T. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutat Res* 77: 245-250. (1980).
- Lehninger, A. *Bioquímica 2da*. Omega, Barcelona, (1985).
- Levin, L. Olver, O. Rockwell, R.F. De la Rosa M.E. Guzmán J. Nuclear power plants and natural populations of Mexican *Drosophila*. (1989).
- Litchfield, J.H. Production of single-cell protein for use in food or feed. In: *Microbial Technology Vol.1*, 2<sup>o</sup>. Edition. Academic Press Inc. (1978).
- Miller, J. Carcinogenesis by chemicals : an overview. *Cancer res.* 30:559-576. (1970).
- Mondragón Barragán Miguel Angel. Cultivo y uso del alga tecuítlatl (*Spirulina*) Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Y Vet. Zoot. UNAM. México (1984)
- Montalvo, V.I. Evaluación química y biológica de los Pigmentos de la *Spirulina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México (1974).
- Narashima, N.C.R., Venkataraman, G.S., Duggal, S.K. and Eggum, B.O. Nutritional quality of the blue-green algae *Spirulina platensis* geitler. *J. Sci. Food Agric.* 33: 456-460 (1982).
- Nason, A. *Biología*. Limusa. México (1979).
- Olga O., Stanley Zimmering, Martha Cruces., Emilio Pimentel, Carolina Arceo, Judith Guzman, Ma. Esther de la Rosa. Antimutagenesis in Somatic Cells of *Drosophila* as Monitored in the Wing Spot Test. Springer-Verlag Tokyo, p.p.567-571, Japan. (1997).
- Olvera, O, Zimmering S, Arceo C, Cruces M. The protective effect of chlorophyllin in treatment with chromium (VI) oxide in somatic cells of *Drosophila*. *Mutat Res* 301: 201-204. (1993).
- Olvera-Ramírez, Arceo-Maldonado, Dela Rosa, Guzmán-Rinncón, Zimmering. Efecto de la vitamina C sobre la genotoxicidad del trióxido de cromo (VI). *Rev. Int. Contam. Ambient.* 10 (Suplemento 1), 21-22, (1994).
- Olvera o, Zimmering S, Arceo C, Guzman J, De la Rosa Ma. E. Evidence of the protective effect Of ascorbic acid ( vitamin C) l the treatment with gamma rays and chromium (VI) oxide in somatic cells in *Drosophila*. *Mutat Res* 346: 19-21. (1995).
- Peraza, C., Bouchain, M. Y Zaragoza, L. Evaluación del valor nutritivo de la harina de alga *Spirulina* para el pollo de engorda. Primer congreso nacional ANECA (memorias). Guadalajara, Jal. México (1976).
- Peter, J. Russell. *Genetics*. 3<sup>o</sup> Edición. Harper Collins Publishers. NY. p.p. 570-571 (1992).
- Pimentel P.A.E, Tavera, D.L., De la Rosa M.E. Efecto hormético del Radón-222 en *Drosophila melanogaster*. Datos no publicados.
- Priestley, G. Algal Proteins. In: Berch, G.G., Parker, K. J. and Morgan, W.T. (editors) *food from waste*. Applied Science Publishers. London (1976).
- Quillet, M. Recherches sur les substances glucidiques elaborées par les *Spirulines*. *Ann. Nutr. Alim.* 29: 553-561 (1975).
- Robins E. Inhibition of aflatoxin mtagenicity by chlorophyllin in *Neurospora crassa*. In: Shankel D, Hartman P, Kada T, Hollaender A (eds) *Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanisms*. Plenum, New York, p.p. 575-576. (1986).

- Salceda, V. Algunos componentes Genéticos de cuatro poblaciones experimentales de *Drosophila melanogaster*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. México, D.F. (1970).
- Sandbank, E. Environmental Engineering Research Center, Technion-Israel Institute of Technology Haifa (Israel) and Hopher, B Fish and aquaculture Research Station, Dor (Israel). Microalgae grown in wastewater as an ingredient in the diet of warmwater fish. In Shelef, G. And Soeder, C.J. (editors) *Algae Biomass*. North-Holland Biomedical-Press Elsevier. 697-705 (1980).
- Scagef, R.F. y Bandoni, R.J. El reino vegetal. OMEGA. Barcelona (1980).
- Silveño, V.F. Evaluación del alga *Spirulina* como fuente de pigmentos en dietas para pollos de engorda. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. México (1976).
- Sirover y Loeb. Infidelity of DNA synthesis in vitro:: Screening for potential metal mutagens or carcinogens. *Science* 194:1434-1436. (1976).
- Sosa Texcoco, S.A. (Dirección Comercial) Alga *Spirulina*, un producto natural. Sosa Texcoco. México (1978).
- Spinetti, B.M. Manual de Bioquímica. Científico Médico. Barcelona (1964).
- Spirulina-Analysis <http://www.spirulina.nl/tabel.html> Fecha de ingreso a la página 9 Marzo (1999).
- Trosko, J ; y Chang, Ch. Relationship between mutagenesis and carcinogenesis. *Photochem. Photobiol.* 28:157. (1978).
- Wachowics, M. And zagrodzki, S. Evaluation of protein contained in *Spirulina platensis* algae based on the content of nucleic and aminoacid composition. *Acta Alimentaria polonica* 2: 33-41 (1976).
- Walsein, C.I. Calloway, D.H. and Morgen, S. Uric acid production of men graded amounts of egg protein and yeast nucleic acids. *Am. J. Clin nutr.* 21: 892-897 (1968).
- Wolff, S.R., Jostes, S., Cross y P.hul. Adaptative response of human lymphocyte for the repair of Radón-induced chromosome damage. *Mutation Research*. Vol. 250 p.p. 299-306 (1991).