

# Manual de Cultivo de *Dunaliella salina*

(en estado flagelado)  
Escala inicial de laboratorio (10 litros)  
Enfoque: experimentación educativa y científica

Autor: Nestor Chaucca  
Fecha: Abril 2026

## Introducción al cultivo de *Dunaliella salina*

*Dunaliella salina* es una microalga unicelular halófila conocida por su alta tolerancia a condiciones extremas de salinidad, temperatura y luz. Se caracteriza por su estado flagelado (con dos flagelos que le permiten movilidad), lo que facilita su manejo en cultivos iniciales. Es famosa por su capacidad para acumular **beta-caroteno** y lípidos, con aplicaciones en nutrición, cosmética, acuicultura y biotecnología.

Su cultivo es **altamente selectivo**: pocos organismos pueden sobrevivir en las altas concentraciones de sal que ella tolera, lo que reduce el riesgo de contaminación.

Este protocolo está adaptado para entornos educativos y científicos con recursos moderados, priorizando simplicidad, seguridad y observación cuantitativa.

## 1. Utilización de agua

### Recomendación principal:

Agua de mar filtrada o agua potable sin gas, ajustada a una **salinidad de 150 g/L** con sal de mar sin refinar. Se puede utilizar agua de mesa y ajustar la salinidad

**A considerar:** La microalga *Dunaliella salina* tiene una alta tolerancia a la salinidad, pudiendo desarrollarse en concentraciones desde 120 g/L hasta 300 g/L de sal. Además, su cultivo no requiere un control estricto del pH para crecer adecuadamente. Sin embargo, si se desea optimizar las condiciones de cultivo, se recomienda mantenerlo de forma opcional alrededor de pH 7.

**Enfoque educativo:** Demuestra la gran tolerancia de esta microalga a la alta salinidad y cómo esta condición actúa como barrera natural contra contaminantes.

## 2. Temperatura de cultivo

**Rango óptimo:** 20 – 40 °C (ideal entre 25 – 35 °C para mantener el estado flagelado y buen crecimiento). De otro lado, puede soportar temperatura de hasta 10 °C.

**Enfoque ambiental:** En ciudades con alta radiación solar, es posible aprovechar la excelente luminosidad y la temperatura ambiental para favorecer el cultivo. Sin embargo, se recomienda monitorear y controlar las fluctuaciones bruscas de temperatura y exposición solar, a fin de mantener condiciones estables que optimicen el desarrollo del cultivo.

## 3. Luminosidad de cultivo

### Condiciones:

- Luz artificial:** LEDs o focos blancos con intensidad de **100–200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$**  durante 12–16 horas diarias.
- Luz solar:** Tolerancia bien la luz solar directa. Protege los laterales de los envases con material opaco (plástico blanco) para evitar sobrecalentamiento.

**Recomendación:** Los envases de cultivo deben diseñarse o ubicarse de manera que permitan una adecuada entrada de luz, preferentemente desde la parte superior, para favorecer una distribución uniforme de la iluminación. Asimismo, es fundamental mantener una agitación permanente durante el día, ya que esto mejora la exposición homogénea de las células a la luz, evita la sedimentación y favorece un crecimiento más eficiente del cultivo.

## 4. pH de cultivo

**Rango óptimo:** 7.0 – 10.0 (especie alcalófila).

**Recomendaciones sobre el pH y manejo del cultivo:** El pH inicial del cultivo suele estar entre 7,0 y 7,5, debido a la presencia de bicarbonato de sodio en el medio, que actúa como regulador natural. A medida que la microalga *Dunaliella salina* crece y aumenta su actividad fotosintética, el pH tiende a elevarse progresivamente, pudiendo alcanzar valores cercanos a pH 10, lo cual suele ser un indicador de una alta concentración celular. De manera opcional se puede bajar el pH hasta 7.5

Es importante considerar que durante este proceso pueden aparecer precipitados en el fondo del recipiente. Esto ocurre porque las sales utilizadas contienen calcio y magnesio, los cuales, bajo condiciones alcalinas, reaccionan formando carbonatos insolubles que precipitan naturalmente..

**Solución recomendada:** Cuando se observe una acumulación significativa de precipitados, se recomienda trasvasar cuidadosamente el cultivo a otro recipiente limpio, evitando remover el sedimento. Posteriormente, limpiar el envase original antes de reutilizarlo. Esta práctica ayuda a mantener mejores condiciones para el desarrollo del cultivo y facilita su manejo

## 5. Agitación

**Método:** Agitación continua y suave (100–200 rpm) con bomba de acuario, burbujeadores o agitador magnético, durante el día.

**Objetivo:** Distribuir nutrientes, oxígeno y luz de manera homogénea, evitando la sedimentación. No agitar excesivamente para no dañar los flagelos.

## 6. Preparación de nutrientes (para 10 litros)

| Nutriente              | Concentración | Cantidad para 10 L | Función principal             |
|------------------------|---------------|--------------------|-------------------------------|
| Sal de mar sin refinar | 150 g/L       | 1,500 g            | Base de salinidad hiperhalina |

|                                                                       |           |        |                                |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------|--------|--------------------------------|
| Nitrato de potasio (KNO <sub>3</sub> )                                | 1 g/L     | 10 g   | Nitrógeno principal            |
| Bicarbonato de sodio (NaHCO <sub>3</sub> )                            | 1 g/L     | 10 g   | Carbono inorgánico + buffer pH |
| Fosfato monoamónico (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) | 0.1 g/L   | 1 g    | Fósforo                        |
| Sulfato ferroso (FeSO <sub>4</sub> )                                  | 0.008 g/L | 0.08 g | Hierro esencial                |

Procedimiento:

1. Disolver todos los nutrientes en los 10 litros de agua.
2. Agitar hasta obtener una solución homogénea.
3. Verificar pH inicial (7–9).

**Nota:** Renovar los nutrientes cada 7–10 días según el crecimiento.

## 7. Medición de densidad por Conteo Celular

**Herramienta recomendada:** Cámara de Neubauer + microscopio (40x–100x). **Importancia para *Dunaliella unicelular*:** Como es unicelular, el conteo directo en células/mL es preciso para cuantificar población, calcular tasas de crecimiento específicas y detectar fases (lag, exponencial, estacionaria). Evita sesgos de turbidez o pigmentos. Utilizar formol para inmovilizar las células **Procedimiento:**

- Tomar 1 mL de muestra; diluir si >10<sup>6</sup> células/mL.
- Cargar cámara, contar en 5 cuadrículas centrales.
- Fórmula: células/mL = (células contadas / cuadrículas) × dilución × 10<sup>4</sup>.
- Registrar diariamente para graficar curvas..

Criterios orientativos:

- < 10<sup>6</sup> células/mL → Fase lag
- 10<sup>6</sup> – 5×10<sup>6</sup> células/mL → Crecimiento exponencial
- 5×10<sup>6</sup> células/mL → Alta densidad (considerar dilución)

## 8. Procedimiento de cultivo paso a paso

1. **Día 0 – Preparación del medio:** Preparar 10 L según la receta.
2. **Inoculación inicial:**
  - Separar 4 L en recipiente limpio.
  - Agregar 1 L de inóculo.
  - Mezclar suavemente → ~5 L inicial.
  - Colocar en media sombra con agitación suave.
3. **Crecimiento Inicial Días 1–7:** Monitorear temperatura, pH, evaporación, color (verde intenso = saludable) y conteo celular.
4. **Escalado / Mantenimiento (día 10):** Agregar medio fresco, 6 litros de medio de cultivo restantes, esto, cuando la densidad sea alta.

## Resumen temporal

| Día  | Etapas                            | Volumen | Conteo celular esperado                        |
|------|-----------------------------------|---------|------------------------------------------------|
| 0    | Preparación + inoculación inicial | 5 L     | ~10 <sup>5</sup> – 10 <sup>6</sup> células/mL  |
| 1–7  | Crecimiento inicial               | 5 L     | 10 <sup>6</sup> – 5×10 <sup>6</sup> células/mL |
| 9–10 | Escalado                          | 10 L    | >5×10 <sup>6</sup> células/mL                  |

¡Éxitos en tus experimentos educativos y científicos!

Este cultivo es ideal para proyectos escolares, tesis introductorias o demostraciones de biotecnología microbiana.

## Conclusión

Este manual proporciona las condiciones esenciales para cultivar exitosamente *Dunaliella salina* en estado flagelado. Monitorea diariamente los parámetros clave y ajusta según tu sistema.

¡Éxitos en tus cultivos!

**Contacto de referencia:**

Algatex Biotechnology  
Email: [info@algatex.org](mailto:info@algatex.org)  
Teléfono: (+51) 973 697 705