

Cuidados primarios y cultivo de microalgas básico

Una vez haya recibido su cultivo de microalgas coloque inmediatamente en un lugar con iluminación. Para cultivos líquidos, afloje la tapa moderadamente, esto mejora la respiración celular.

La intensidad de la iluminación dicta la velocidad de crecimiento, por ello una manutención a largo plazo requiere de luz tenue (~15 watts), para crecimiento elija una iluminación blanca a 30 - 45 watts.

Indicaciones para la observación al microscopio

Para cultivos líquidos:

Trabaje en condiciones de esterilidad. Agite el frasco contenedor para obtener una solución homogénea y tome 100 µL de cultivo con una micropipeta. Coloque la muestra de cultivo sobre un portaobjetos. Con cuidado, coloque un cubreobjetos de manera gentil sobre la muestra (Nota: para las microalgas que generen biofilm, raspe las zonas de mayor concentración de película con la punta de la pipeta y procure tomar agua en el mismo pipeteo, para obtener una muestra húmeda). Coloque la preparación en la platina del microscopio y ajuste el revólver del objetivo 4X. Ajuste el enfoque macrométrico hasta obtener una imagen, ajuste el enfoque micrométrico para obtener una imagen más nítida. Para observar los detalles de las células repita el proceso con los siguientes objetivos, las células de tamaño superior a 100µm pueden verse nítidamente desde los objetivos 4X - 10X.

Para cultivos sólidos:

Trabaje en condiciones de esterilidad. Utilizando un asa de nicromo flameada raspe una colonia de microalgas. Prepare un frotis sobre un portaobjetos adicionando una gota de agua estéril, utilizar agua no estéril puede introducir microorganismos del agua y sólidos inorgánicos en su campo de visión. Con cuidado, coloque un cubreobjetos de manera gentil sobre la muestra. Coloque la preparación en la platina del microscopio y ajuste el revólver del objetivo 4X. Ajuste el enfoque macrométrico hasta

obtener una imagen, ajuste el enfoque micrométrico para obtener una imagen más nítida. Para observar los detalles de las células repita el proceso con los siguientes objetivos, las células de tamaño superior a $100\mu\text{m}$ pueden verse nítidamente desde los objetivos 4X - 10X.

Indicaciones para la preparación de medios de cultivo

Los medios de cultivo de la CCAB son entregados como macronutrientes en polvo blanco parcialmente hidrosoluble y micronutrientes metales traza en solución estéril.

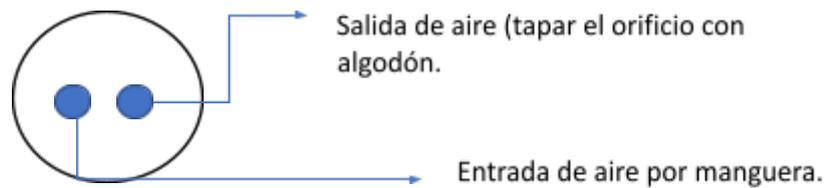
La naturaleza predominantemente inorgánica de los medios les facilita como medio de mantenimiento de cultivos axénicos (Nichols y Bold, 1965).

- Determine el volumen de trabajo de su medio de cultivo. La concentración por medio está indicada en gramos por litro (g/L) en el sitio web y en la ficha técnica.
- Pese la cantidad en g/L y suspenda en agua destilada
- Adicione 1 mL/L de solución de micronutrientes.
- Normalmente, no es necesario un ajuste de pH 7.0 ± 0.2 . Si lo fuera, o requiere de un pH en específico, mida utilizando potenciómetro de pH y ajuste su valor utilizando ácido acético y NaOH, manteniendo la solución agitada.
- El medio puede precipitar. De ser así, después de esterilizar permita su completa sedimentación y decante.
- Coloque en una botella con tapa semi-abierta. Esterilice en autoclave a 15 PSI, 121 °C, 20 minutos. Nota: de no contar con autoclave, pasteurizar a 100°C en baño maría durante 1 hora.
- Una vez estéril, el medio va a estar extremadamente caliente. Evite quemaduras. Mantenga en el sitio hasta que el material se enfríe. O bien, manipule el material con guantes de color y coloque en un lugar templado y despejado hasta que alcance una temperatura adecuada al tacto.

Indicaciones para la siembra e incubación de microalgas

- Trabaje en condiciones de esterilidad, utilice matraces (frascos) estériles o pasteurizados.
- Siembre un volumen de trabajo del 20%-40% de microalgas y 60%-80% de medio fresco.
- Incube a las condiciones indicadas de acuerdo a la especie durante al menos 7 días.

- La aireación debe ser leve durante la fase inicial de crecimiento.
- Pasados 7 días, agregar un volumen porcentual adicional de medio fresco



La tapa de la botella, garrafón o matraz debe de tener dos perforaciones:

- 1.- Entrada de manguera para suministro de CO₂.
- 2.- Cubrir con algodón (respiradero).

