

EVALUACIÓN DE LA ESPIRULINA (*Arthrospira spp.*) COMO SUPLEMENTO EN LA DIETA DE AXOLOTES (*Ambystoma velasci*) PARA CRECIMIENTO Y CONSERVACIÓN *ex situ*

EVALUATION OF SPIRULINA (*Arthrospira spp.*) AS A DIETARY SUPPLEMENT IN AXOLOTLS (*Ambystoma velasci*) FOR GROWTH AND *ex situ* CONSERVATION

Cruz-Aviña, J.R.¹, Jiménez-Cortéz H. I.¹, Torija-Luna R.¹, Rubio-Castillo V.¹, Tenorio-Arvide M.G.²

¹Laboratorio de Medicina de la Conservación (Fauna Nativa) “Gustavo Casas Andreu”, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. Hidalgo 5, Col. Centro, CP 75480, Tecamachalco, Puebla, México.

²Centro de Investigación en Ciencias Agrícolas (CICA-ICUAP), Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio 6301, Jardines de San Manuel, CP 72570 Puebla, Puebla, México. Cuerpo Académico: Geoquímica, Geomática y Prospectiva Ambiental (BUAP CA 384)

*Autor de correspondencia: juan.cruzavina@correo.buap.mx

Recibido: 02/mayo/2025

Aceptado: 20/junio/2025

RESUMEN

El anfibio *Ambystoma velasci* es un caudado exclusivo de México, clasificado como especie bajo protección especial (NOM-059-SEMARNAT-2010). En el estado de Puebla, sus poblaciones silvestres se han visto reducidas a causa del deterioro ambiental y la contaminación de sus ecosistemas, lo que ha motivado la implementación de estrategias de preservación fuera de su entorno natural. En dichas acciones, el suministro nutricional resulta un componente determinante para el éxito del mantenimiento en condiciones controladas. Una fuente común de proteínas es un anélido acuático detritívoro, aunque ampliamente utilizado presenta desventajas como alto costo y mantenimiento especializado, lo que obliga a buscar alternativas nutricionales viables. Este trabajo evaluó la incorporación de microalgas cianofíceas del género *Arthrospira* en dietas formuladas con dicho oligoqueto, analizando su

efecto sobre el desarrollo, ingesta y supervivencia en ejemplares en fase de crecimiento de *A. velasci*, mantenidos bajo parámetros estables de laboratorio (pH 7–8.5, OD=80 %, T= 18–20 °C). Se aplicó un diseño completamente aleatorio con seis tratamientos (0 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 % y 5 % de suplemento vegetal) y tres repeticiones, usando harina de soya como grupo control. El ensayo duró 120 días con 120 organismos. Los hallazgos mostraron un incremento lineal del peso corporal con la dieta al 3 % y una disminución significativa en el consumo al 1 % ($P < 0.05$). En síntesis, la inclusión del aditivo natural promovió el desarrollo somático y la eficiencia de conversión, perfilándose como una opción favorable en esquemas de resguardo para esta especie vulnerable.

Palabras clave: *Ajolote de Velasco, Alimento vivo, ex situ, Spirulina, Tubifex tubifex*

ABSTRACT

The amphibian *Ambystoma velasci* is a caudate species endemic to Mexico, classified as subject to special protection (NOM-059-SEMARNAT-2010). In the state of Puebla, its wild populations have declined due to environmental degradation and ecosystem pollution, prompting the implementation of *ex situ* conservation strategies. In these efforts, nutritional supply is a key component for successful maintenance under controlled conditions. A common protein source is a detritivorous aquatic annelid; however, despite its wide use, it presents disadvantages such as high cost and the need for specialized care, making it necessary to explore viable nutritional alternatives. This study evaluated the incorporation of cyanophyte microalgae from the genus *Arthrospira* into diets formulated with this oligochaete, analyzing their effect on growth, intake, and survival of *Ambystoma velasci* juveniles kept under stable laboratory conditions (pH 7–8.5, DO =80%, T = 18–20 °C). A completely randomized design was applied with six treatments (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, and 5% plant-based supplement) and three replicates, using soybean meal as the control group. The trial lasted 120 days and involved 120 organisms. Results showed a linear increase in body weight with the 3% diet and a significant reduction in feed intake at 1% ($P < 0.05$). In summary, the inclusion of the natural additive promoted somatic development and feed conversion efficiency, making it a favorable option for conservation programs targeting this vulnerable species.

Keywords: *Velasco's axolotl, Live feed, ex situ, Spirulina, Tubifex tubifex*

INTRODUCCIÓN

El interés en el uso de la espirulina como suplemento proteico en la alimentación animal se ha incrementado debido a su alta disponibilidad, elevado valor nutricional y versatilidad. El término *espirulina* hace referencia al género *Arthrospira spp.*, un grupo de cianobacterias verdeazuladas, filamentosas y multicelulares (anteriormente denominadas algas verdeazules), que se reproducen por fisión binaria. Estas bacterias, conocidas también como cianofíceas, habitan de forma natural en lagos alcalinos (con concentraciones de sal superiores a 30 g/L), temperaturas medias entre 25 y 35 °C y altos niveles de radiación solar (Belay, 2007).

Gracias a su perfil nutricional, *Arthrospira spp.* es cultivada en sistemas acuáticos controlados que garantizan su calidad e inocuidad, tanto para el consumo humano como para la alimentación animal (Tarazona-Díaz, 2018; Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006). Reconocida por su riqueza en proteínas, ácidos grasos esenciales, vitaminas, minerales y pigmentos como la ficocianina, la espirulina fue declarada en 1996 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un "*superalimento*" con potencial para combatir la desnutrición en poblaciones vulnerables de más de 70 países. Posteriormente, en 2005, fue destacada por el Instituto Intergubernamental para el Uso de las Microalgas Alimenticias como una alternativa integral frente a la malnutrición aguda en emergencias humanitarias y como herramienta para el desarrollo sostenible (ONU, 2005; Moorhead *et al.*, 2011).

En México, su uso se remonta a tiempos prehispánicos, y actualmente continúa cultivándose en el lago de Texcoco y zonas cercanas al Valle de México. En el ámbito de la acuicultura, la espirulina ha demostrado ser un aditivo funcional eficaz en la dieta de diversas especies acuáticas, mejorando parámetros de crecimiento, eficiencia alimenticia, respuesta inmune, resistencia a enfermedades y, en especies ornamentales, la coloración del cuerpo. Además, representa una alternativa sustentable frente a ingredientes tradicionales como la harina de pescado, favoreciendo prácticas acuícolas más responsables con el medio ambiente. En este contexto, su aplicación se ha extendido al cultivo experimental de anfibios, como el ajolote del género *Ambystoma*. En particular, el ajolote de Velasco (*Ambystoma velasci*, Dugès

1888), especie neoténica facultativa endémica de México, ha sido objeto de interés por su inclusión en la NOM-059-SEMARNAT-2010 como especie sujeta a protección especial (Pr), debido a la vulnerabilidad de sus poblaciones silvestres frente a la pérdida y alteración de su hábitat (Aguilar-López, 2013).

El mantenimiento en cautiverio de *A. velasci* es fundamental para su conservación, siendo la alimentación uno de los aspectos clave (Farkas & Monaghan, 2015; Jiménez *et al.*, 2017) sus requerimientos nutricionales son: proteína cruda (45–55% esencial en etapas juveniles y de reproducción), lípidos (10–15% fuente principal de energía; niveles excesivos pueden causar acumulación grasa hepática), carbohidratos (\leq del 20%, limitada capacidad de digestión; no deben ser la base de la dieta), fibra cruda (\leq del 5%, las dietas muy fibrosas no son recomendables, Calcio (Ca) [1.5–2.0%, necesario para desarrollo óseo y prevención de deformidades], Fósforo (P) [1.0–1.5%, la relación (Ca:P) debe mantenerse entre 1.5:1 y 2:1] Vitamina A [5,000–10,000 UI/kg, su deficiencia afecta la piel y la visión], Vitamina D3 [1,000–2,000 UI/kg clave para el metabolismo de calcio y fósforo], Vitamina E [100–300 mg/kg, antioxidante importante para reproducción y función celular], Taurina (aminoácido esencial) [0.1–0.5%, relevante para carnívoros acuáticos; participa en el desarrollo neurológico y visual], minerales traza [Incluyen zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn), selenio (Se), entre otros], (NRC, 2011).

Por su parte, el gusano de fango *Tubifex tubifex* es uno de los alimentos vivos más comúnmente empleados en su dieta por su alta palatabilidad; sin embargo, su elevado costo y disponibilidad limitada representan una restricción importante, de igual forma es importante tener cuidado en su lavado y purga para evitar infecciones por *E. coli*, *Salmonella* spp. entre otros (Luna-Figueroa *et al.*, 2010). La espirulina, en contraste, ha mostrado efectos positivos en la salud y productividad de organismos acuáticos, lo que sugiere su potencial como suplemento en dietas compuestas para esta especie (Cheong *et al.*, 2010, Gan, Lim, & Phang, 2016). Considerando la limitada información existente sobre la formulación de dietas balanceadas para *Ambystoma velasci* y la necesidad de reducir los costos de alimentación sin comprometer el crecimiento y la salud de los organismos, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la adición de espirulina (*Arthrospira* spp.) como suplemento pre-

enriquecido en el alimento vivo *Tubifex tubifex* sobre el crecimiento de crías de *Ambystoma velasci* hasta su etapa juvenil.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y cultivo de la cianobacteria espirulina

La cepa original de *Arthrospira* spp. fue aislada del antiguo lago de Texcoco (región de Sosa Texcoco, México), con apoyo de pescadores locales. El cultivo se llevó a cabo siguiendo el protocolo descrito por Moreira *et al.*, (2010), con modificaciones en la composición del medio de cultivo conforme a Gan, Lim & Phang (2016) y Jiménez y colaboradores (2017). El medio utilizado estuvo compuesto por cloruro de sodio (NaCl , $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), bicarbonato de sodio (NaHCO_3 , $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), fertilizante agrícola NPK (17-17-17, marca Fertisquisa[®], $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) y superfosfato triple (TSP, marca Tepeyac[®], $0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Las sales fueron trituradas y disueltas en 10 L de agua destilada contenida en un recipiente plástico, y posteriormente se incorporaron los fertilizantes previamente macerados. La solución fue aireada durante 24 h mediante una bomba de acuario (modelo Elite 799[®]), luego decantada y filtrada para su uso. A partir de un cultivo activo de *Arthrospira* spp. mantenido en el Laboratorio de Medicina de la Conservación (Fauna Nativa) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (LMCN-FMVZ-BUAP), se preparó un inóculo inicial transfiriendo 300 mL del cultivo a un matraz Erlenmeyer de un litro.

El inóculo fue mantenido bajo condiciones controladas de iluminación ($\approx 1,000 \text{ lux}$) [Lámpara sumergible LED luz fría con control PPF 400-700 nm (longitudes de onda azul ($\sim 450 \text{ nm}$) y roja ($\sim 660 \text{ nm}$), y 2000-5000 lux, $100\text{-}200 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ de PPF, marca Ocean Aqua], temperatura ($28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) [calentador sumergible con termostato 75W, marca Ocean Aqua], pH (7–9) [sonda multiparamétrica HACH, Hanna Instrument[®], HI98194/20] y oxígeno disuelto ($\approx 8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), [sonda multiparamétrica HACH, Hanna Instrument[®], HI98194/20]. La agitación del cultivo se realizó manualmente una vez al día hasta alcanzar una densidad celular equivalente a la del cultivo madre, valorándolo con un espectrofotómetro, (Thermo Scientific[™] Genesys 20 / Genesys 10S UV-Vis) con un rango

espectral [325–1100 nm (UV-Vis)]. Posteriormente, el cultivo fue escalado a un volumen de 20 L en un garrafón comercial plástico (esterilizado). La biomasa obtenida fue recolectada por decantación sobre papel filtro y secada a temperatura ambiente (20 °C). Finalmente, el material seco fue almacenado a (5 °C) para su conservación conforme a Mahran, Razek y Sidkey (2024).

Trabajo de laboratorio

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Medicina de la Conservación (Fauna Nativa) “Gustavo Casas Andreu” de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (LCH-FMVZ-BUAP) en Tecamachalco, Puebla, bajo un diseño completamente al azar durante 120 días. Se utilizaron 120 ajolotes (*Ambystoma velasci*) de talla [cría] con un peso promedio de $10 \text{ (g)} \pm 08 \text{ (g)}$ y una longitud de $5 \text{ (cm)} \pm 2.02 \text{ (cm)}$ de LT para llevarlos a talla [juvenil] a aproximadamente 12-15 (cm) y un peso $>30 \text{ (g)}$ (SADER, 2001).

Tratamientos

Cada individuo se alojó en tinas de plástico de 10 galones (aprox. 40 L), considerando a cada ajolote como una unidad experimental (UE). Los tratamientos (Tx) consistieron en una dieta basada en el pre-enriquecimiento del gusano de fango *Tubifex tubifex* con la espirulina (*Arthrospira spp.*) a diferentes concentraciones de 0%, 1%, 2%, 3%, 4% y 5% con tres repeticiones c/u. con 10 individuos por cada tratamiento (Tx), utilizando como control negativo harina de soya, se incluyó un grupo control negativo alimentado únicamente con harina de soya, sin enriquecimiento con *Tubifex tubifex* (10 organismos también), este grupo control negativo no forma parte del diseño de enriquecimiento con *Tubifex tubifex*, y se utilizó únicamente como referencia basal para comparar el crecimiento bajo condiciones sin suplementación proteica animal.

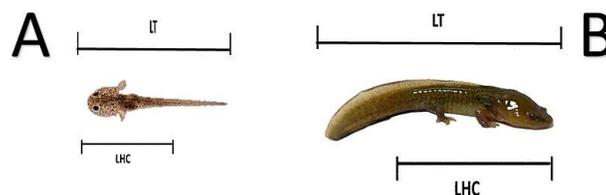
Se utilizó un diseño completamente al azar durante 120 días. Se emplearon 120 ajolotes (*Ambystoma velasci*) de etapa juvenil temprana, distribuidos en seis tratamientos dietéticos (0%, 1%, 2%, 3%, 4% y 5% de espirulina), con tres repeticiones biológicas por tratamiento. Cada repetición biológica consistió en 10 organismos independientes, considerados como

unidades experimentales individuales (UE), es decir, un total de 18 réplicas biológicas (6 tratamientos \times 3 repeticiones), y 120 unidades experimentales totales. Se realizaron réplicas técnicas triplicadas para la medición de variables clave como la Ganancia Diaria de Peso (GDP), la Tasa Específica de Crecimiento (TEC), el Factor de Conversión Alimenticia (FCA) y el Consumo Alimenticio (CA), usando el mismo equipo de medición (balanza digital Uline® H9884 y espectrofotómetro Thermo Scientific™ Genesys 10S UV-Vis), para asegurar la precisión analítica y minimizar errores de lectura. Cada UE se mantuvo con ventilación controlada constante, temperatura de $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ y control de luz oscuridad con fotoperiodo de 12 (h) de luz y 12 (h) de oscuridad. Se proporcionó diariamente una ración de alimento equivalente al 4% de su peso corporal, ajustándose cada 15 días según el peso registrado (g) de cada individuo en una balanza digital Uline® H9884, simultáneamente se registró la Longitud Total (LT) y la Longitud Hocico-Cloaca (LHC) de los ajolotes.

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron únicamente ejemplares de *Ambystoma velasci* clínicamente sanos, con peso corporal inicial homogéneo ($\pm 10\%$ del promedio general) y sin malformaciones visibles. Los individuos que presentaron signos de enfermedad, estrés evidente, heridas, pérdida de apetito durante el periodo de aclimatación, o una diferencia de peso superior al 15% respecto al promedio del grupo fueron excluidos del experimento. Asimismo, durante el ensayo, cualquier ajolote que mostrara comportamiento atípico persistente o mortalidad fue retirado del análisis estadístico final, Figura 1.

Figura 1. Estimación del crecimiento en (*Ambystoma velasci*).



Nota. A) Crías o larvas (sin extremidades aun), a B) Juveniles misma forma que los adultos), midiendo la longitud total (LT cm) y la longitud hocico-cloaca (LHC cm), así como su peso (g) utilizando a espirulina como estimulante de crecimiento. Fuente: Elaboración propia (2025).

Los parámetros productivos registrados fueron: Ganancia Diaria de Peso (GDP), el cual es un parámetro fundamental para evaluar el crecimiento individual promedio de los organismos durante un periodo experimental, se expresa en gramos por día (g/día), la Tasa Específica de Crecimiento (TEC) es un parámetro fundamental para evaluar la eficiencia del crecimiento relativo de los organismos durante un periodo determinado, a diferencia de la Ganancia Diaria de Peso (GDP), la (TEC) considera el crecimiento en función del tamaño inicial, expresándose como un porcentaje diario (%/día)., Factor de Conversión Alimenticia (FCA) es una razón adimensional que se emplea comúnmente para evaluar la eficiencia en el aprovechamiento del alimento. Se calcula dividiendo la cantidad total de alimento consumido (g) entre la ganancia de peso corporal (g) durante un periodo determinado, Consumo Alimenticio (CA) y el porcentaje de Supervivencia (%), mediante las siguientes ecuaciones:

$$GDP = \frac{\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}}{\text{Días del experimento}} \quad \text{TEC} = \frac{\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}}{\text{Peso Inicial} \times \text{Días del experimento}}$$

$$FCA = \frac{\text{Consumo Alimenticio}}{\text{Ganancia de Peso}}$$

$$CON = \text{Peso promedio} \times 0.04 \times \text{Días del experimento}$$

$$\text{Peso promedio} = \frac{\text{Peso inicial} + \text{Peso final}}{2}$$

$$FCA = \frac{CON}{\text{Ganancia de peso}} = \frac{CON}{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}$$

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante el software estadístico MATLAB[®] (versión académica), utilizando un modelo de diseño completamente al azar (DCA) con seis tratamientos (0%, 1%, 2%, 3%, 4% y 5%) y tres repeticiones por tratamiento. Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA de un factor) para determinar las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos para cada variable productiva: Ganancia Diaria de Peso (GDP), Tasa Específica de Crecimiento (TEC), Consumo Alimenticio (CA), Factor de Conversión Alimenticia (FCA), longitud total (LT), longitud hocico-cloaca (LHC) y peso final. En caso de obtener diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparación de

medias de Tukey para identificar las diferencias entre tratamientos. Adicionalmente, se utilizó un modelo de regresión polinomial (lineal y cuadrática) para evaluar la relación entre el porcentaje de inclusión de espirulina y los indicadores zootécnicos, con el fin de identificar el punto de inflexión o concentración óptima de suplementación. Se consideraron significativos los efectos lineales y cuadráticos con un valor de $P < 0.05$. Para todas las variables se verificaron previamente los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene).

Calidad del agua

La calidad fisicoquímica del agua se monitoreó con un equipo multiparamétrico cada semana, evaluando los parámetros (pH, OD [mg/L], T [°C], NH_4^+ [mg/L], NO_3^- [mg/L], NO_2^- [mg/L]), (sonda multiparamétrica HACH, Hanna Instrument[®], HI98194/20), conforme a (APHA, 1989 y Belay, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la inclusión de espirulina (*Arthrospira spp.*) mejora significativamente el desempeño zootécnico de *Ambystoma velasci* en su desarrollo de cría a etapa juvenil. El incremento progresivo en la Ganancia Diaria de Peso (GDP) y la Tasa Específica de Crecimiento (TEC) hasta el nivel del tratamiento al 4% de suplementación refleja una respuesta positiva a la mayor disponibilidad de nutrientes funcionales, en particular proteínas de alta digestibilidad, aminoácidos esenciales, vitaminas liposolubles y compuestos antioxidantes presentes en la espirulina, ver Cuadro 1.

Peso final

Los resultados indicaron una tendencia ascendente en el peso final de *Ambystoma velasci* con el incremento en la inclusión de espirulina en la dieta, desde el tratamiento con (0 %) hasta el (5 %). Como puede apreciarse el tratamiento con (5 %) de espirulina registró el mayor peso final promedio (40.30 g), lo que sugiere un efecto positivo de la suplementación sobre la ganancia de masa corporal. No obstante, el tratamiento con 4 % de la cianobacteria mostró una mayor eficiencia en términos de crecimiento lineal, al alcanzar la mayor longitud total

(LT = 15.00 cm) y longitud hocico-cloaca (LHC = 11.08 cm), en comparación con los valores obtenidos en el grupo con 5 % de espirulina (LT = 14.03 cm; LHC = 10.40 cm).

Cuadro 1. Valores de los parámetros productivos de *Ambystoma velasci* (n=120).

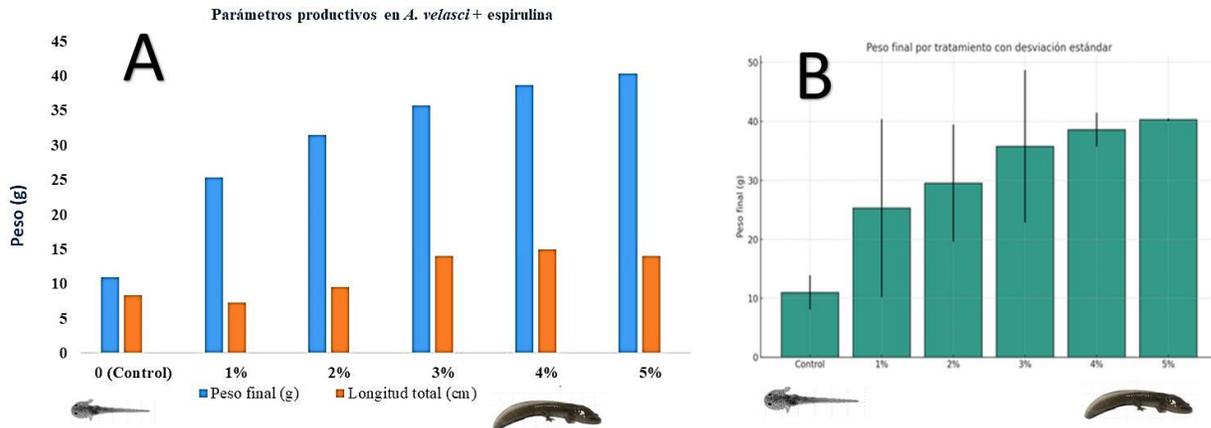
Tratamiento (Tx)	Peso inicial (g)	LT inicial (cm)	LHC inicial (cm)	Peso final (g)	LT final (cm)	LHC final (cm)	GDP (g/día)	TEC (g/día)	CON (g)	FCA	Supervivencia (%)
Control	09.00 ± 4.98	4.00 ± 0.55	2.83 ± 0.11	11.00 ± 2.89	4.90 ± 0.90	3.30 ± 0.02	0.0083	0.00083	50.4	60.4	61
1%	10.10 ± 3.29	4.90 ± 0.36	2.88 ± 0.36	25.30 ± 15.09	7.30 ± 10.45	8.10 ± 0.02	0.1267	0.0125	84.96	5.59	75
2%	10.11 ± 02.13	4.98 ± 0.66	2.99 ± 1.32	29.55 ± 9.93	10.11 ± 10.67	8.00 ± 0.02	0.162	0.0156	95.18	4.9	98
3%	10.50 ± 12.01	4.99 ± 0.15	2.97 ± 0.36	35.78 ± 12.91	14.03 ± 10.44	12.00 ± 0.02	0.2342	0.0213	117.84	4.19	99
4%	10.80 ± 1.11	5.00 ± 0.36	3.00 ± 0.06	38.60 ± 2.89	15.00 ± 7.40	11.08 ± 10.02	0.2082	0.0206	111.79	4.48	100
5%	10.73 ± 1.10	5.00 ± 0.25	3.00 ± 0.21	40.30 ± 0.22	14.83 ± 0.41	12.00 ± 5.22	0.2508	0.0223	121.03	4.01	100
EEM	1.22	0.21	0.21	1.67	0.23	0.01	0.01	0.01	0.75	0.28	—
P	0.84	0.66	0.66	0.02	0.31	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.03
L	0.18	0.09	0.09	0.01	0.15	0.02	0.02	0.01	0.03	0.05	0.02
C	0.64	0.47	0.47	0.05	0.27	0.04	0.04	0.04	0.04	0.06	0.05

N= Número de ajolotes por Tratamiento (n=10), P=Peso, LT= Longitud Total, LHC= Longitud Hocico-Cloaca, GDP=Ganancia Diaria de Peso, TEC= Tasa Específica de Crecimiento, CON= Consumo Alimenticio, FCA=Factor de Conversión Alimenticia, S= Supervivencia. Efecto lineal (L) o cuadrático (C) (P<0.05), EEM= Error Estándar de la Media. Fuente: elaboración propia (2025).

Estos resultados sugieren que, aunque una mayor inclusión de espirulina puede favorecer el peso corporal, un nivel ligeramente menor (4 %) podría ser óptimo para promover un desarrollo morfológico proporcional y eficiente. En contraparte, los tratamientos con (0 %, 1 %, 2 % y 3 %) presentaron pesos y longitudes significativamente menores, indicando que el aporte de espirulina por debajo del (4 %) podría no ser suficiente para maximizar el crecimiento en condiciones de manejo *ex situ* (ver Figura 2).

Este efecto puede atribuirse a la capacidad de *Arthrospira* spp. para actuar como bioestimulante del metabolismo celular y del sistema inmunológico, mejorando la conversión alimenticia y promoviendo una tasa de crecimiento sostenida esto esta alineado con trabajos previos con levaduras como probiótico (Cruz-Aviña *et al.*, 2025) y como aditivo en alimentos como lo refieren (Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006), ver Figura 3.

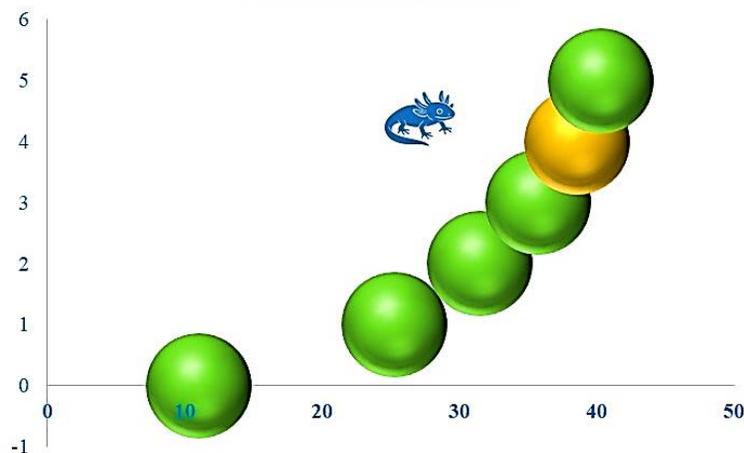
Figura 2. *Parámetros productivos en juveniles de Ambystoma velasci alimentados con Tubifex tubifex pre-enriquecido con diferentes concentraciones de espirulina (Arthrospira spp.) (0–5 %) durante 120 días.*



A) Se muestran el peso final (g) y la longitud total (cm). N = 120 ejemplares. B) peso final promedio (g) de Ambystoma velasci por tratamiento, con sus respectivas desviaciones estándar.

Fuente: elaboración propia en MATLAB (2025).

Figura 3. *Relación entre el porcentaje de tratamiento aplicado (Tx %) y el peso obtenido (g). Cada burbuja representa una muestra o unidad experimental.*

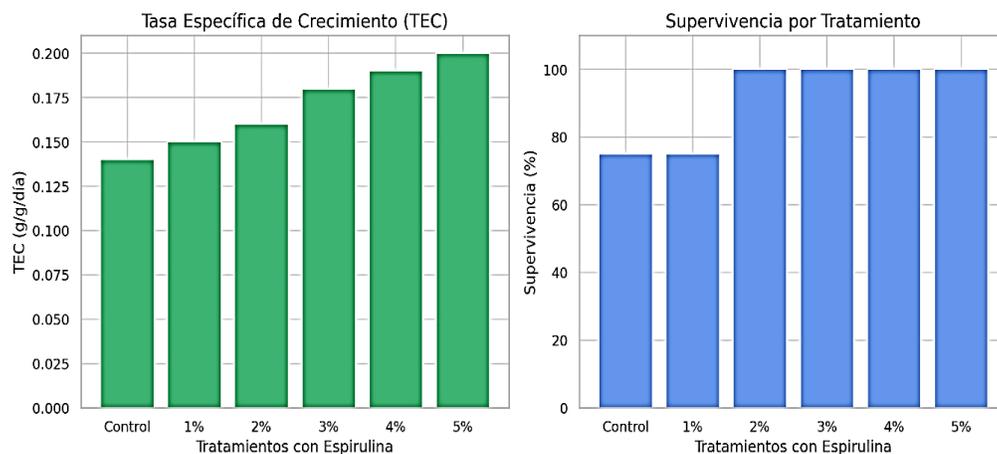


Fuente: elaboración propia en Excel, (2025).

Además, el tratamiento con (4 %) presentó una Ganancia Diaria de Peso (GDP) de 0.2982 g/día y una Tasa Específica de Crecimiento (TEC) de 0.0266 g/día, valores superiores

en comparación con otros tratamientos, manteniendo también un consumo alimenticio (CON) moderado de 111.79 g y un Factor de Conversión Alimenticia (FCA) favorable de (4.48). La supervivencia fue del 100 % tanto en los tratamientos del (3 %, 4 % y 5 %), en contraste con el 75 % registrado en el grupo control y en las dosis del 1 % y 2 %. Estos hallazgos sugieren que la inclusión de espirulina en niveles del (4 %) optimiza el crecimiento y la conversión alimenticia, sin comprometer la supervivencia, lo que la convierte en una alternativa nutricional viable y eficiente para programas de conservación *ex situ* de *Ambystoma velasci* (Jiménez *et al.*, 2017; Cruz-Aviña *et al.*, 2025), véase Figura 4.

Figura 4. Asociación entre la tasa específica de crecimiento (TEC) y el porcentaje de supervivencia en función de los tratamientos aplicados (Tx).



Fuente: elaboración propia en MATLAB (2025).

Estudios previos han documentado beneficios similares en larvas y juveniles de peces teleósteos y anuros, donde la espirulina no solo mejora el crecimiento, sino también incrementa la resistencia a enfermedades, reduce el estrés oxidativo y favorece la pigmentación natural de las especies (Olvera-Ramírez *et al.*, 2003, Ramírez-Moreno y Olvera-Ramírez, 2006; Belay, 2007). En este sentido, los resultados del Factor de Conversión Alimenticia (FCA) evidencian una utilización más eficiente del alimento vivo cuando este ha sido enriquecido con microalgas, particularmente en los tratamientos al 3%- 5%. Esto sugiere que la espirulina potencia la biodisponibilidad de nutrientes de *Tubifex tubifex*

particularmente las proteínas y compuestos funcionales clave para el crecimiento de *Ambystoma velasci*.

Por tanto, el uso de espirulina no solo representa una estrategia de suplementación efectiva, sino también una alternativa sustentable y replicable en sistemas de manejo *ex situ* para especies nativas en riesgo. Respecto al porcentaje de supervivencia, la alta tasa (>90%) en todos los tratamientos con inclusión de espirulina refuerza su papel como inmunomodulador natural, probablemente asociado a la presencia de ficocianina, polisacáridos sulfatados y ácidos grasos poliinsaturados, los cuales han demostrado tener efectos positivos en la modulación de la microbiota intestinal y la respuesta inmunitaria innata de organismos acuáticos (Rámirez & Olvera, 2006; Belay 2007).

Este hallazgo es de gran relevancia en el contexto de la conservación de especies microendémicas, donde la optimización de las condiciones de cría y mantenimiento es crucial para reducir la mortalidad y promover la viabilidad poblacional. Sin embargo, el análisis de los efectos cuadráticos sugiere que niveles superiores al (>4%) no aportan beneficios adicionales estadísticamente significativos y podrían, incluso, generar un efecto de saturación o desbalance nutricional. La disminución observada en algunos indicadores en el tratamiento al 5% podría estar relacionada con una sobrecarga proteica o la presencia de metabolitos secundarios en concentraciones subóptimas para el metabolismo de los ajolotes, tal como se ha reportado en estudios sobre sobrealimentación con algas en especies larvales de peces y anfibios (Pulz & Gross, 2004; Rámirez & Olvera, 2006).

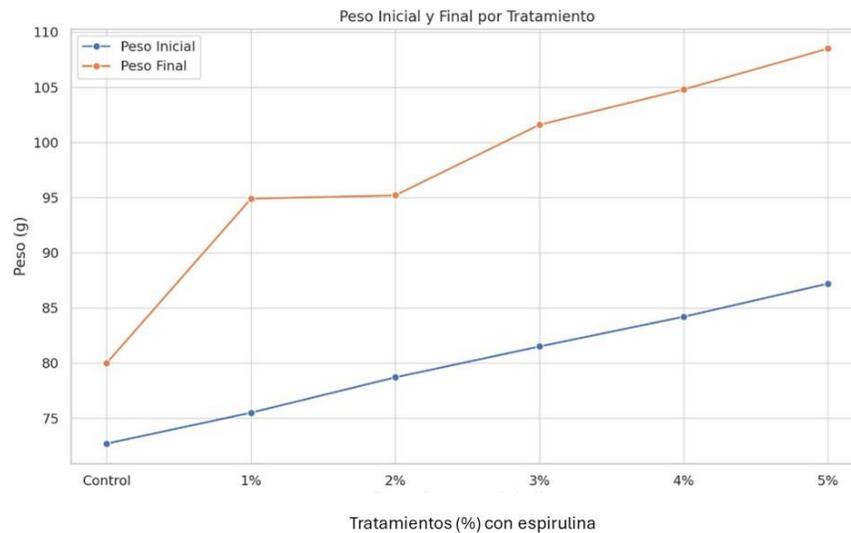
Además, la estandarización del protocolo de cultivo de *Arthrospira spp.* bajo condiciones controladas demuestra la viabilidad técnica y ecológica de producir microalgas (cianobacterias) localmente a partir de cepas nativas, colectadas de cuerpos de agua extintos como el antiguo Lago de Texcoco. Esta acción no solo reduce costos operativos, sino que también promueve la autosuficiencia biotecnológica y la integración de saberes tradicionales (colecta comunitaria) con tecnologías emergentes en nutrición y conservación animal. En términos de conservación, los resultados respaldan el uso de dietas funcionales basadas en alimento vivo enriquecido como una herramienta clave en programas de manejo *ex situ*,

especialmente para especies como *Ambystoma velasci*, cuyo estado de conservación exige estrategias de reproducción asistida, rehabilitación de hábitats y reintegración ecológica con una visión biocultural. La eficiencia del suplemento a nivel nutricional y su impacto positivo en la salud y desarrollo de las crías hasta alcanzar la etapa de juveniles representan un aporte tangible a la biotecnología de la conservación en México.

La adición de espirulina (*Arthrospira spp.*) en la dieta basal de *Ambystoma velasci* mostró un efecto lineal significativo ($P < 0.05$). Por otro lado, el consumo de alimento fue mayor en el tratamiento con 4% de espirulina y menor en el tratamiento con 1%. En cuanto a la talla, la Tasa de Crecimiento Específico (TEC) y el Factor de Conversión Alimenticia (FCA), no se observaron efectos lineales ni cuadráticos. La mayor supervivencia se registró en las dosis del (2%-5%) de espirulina, mientras que el tratamiento control (harina de soya) mostró la mayor mortalidad. Con respecto a los parámetros fisicoquímicos, se reportaron los siguientes valores: pH de 7.5-9.0, nitrato (NO_3^-) 5.1 mg l⁻¹, nitrito (NO_2^-) 0.1 l⁻¹ mg y amonio (NH_4^+) 0.01 mg l⁻¹. Estos valores son adecuados para el manejo de la especie, de acuerdo con (Mena y Servín, 2014) y (Vázquez *et al.*, 2019), lo que indica que la adición de *Arthrospira spp.* no alteró la calidad del agua, ver Figura 5.

A pesar de que los tratamientos con 4% y 5% de espirulina presentaron una supervivencia del 100%, el tratamiento al 5% mostró los valores más altos en peso final (40.30 ± 0.22 g), ganancia diaria de peso ($\text{GDP} = 0.2508$ g/día), tasa específica de crecimiento ($\text{TEC} = 0.0223$ g/día), así como el mejor índice de conversión alimenticia ($\text{FCA} = 4.01$), lo que indica una mayor eficiencia en el aprovechamiento del alimento. Estos resultados sugieren que el 5% de inclusión de spirulina en la dieta promueve un crecimiento superior en *Ambystoma velasci* bajo condiciones de cautiverio. Sin embargo, el tratamiento al 4% también alcanzó valores elevados de crecimiento y eficiencia, con menor variabilidad en el peso final (38.60 ± 2.89 g), lo que puede ser relevante si se busca uniformidad en los organismos producidos. En este sentido, aunque el 5% puede considerarse el tratamiento óptimo desde un enfoque productivo, el 4% representa una alternativa adecuada cuando se prioriza la homogeneidad de talla o se desea optimizar costos de formulación sin comprometer la calidad del crecimiento.

Figura 5. Resultados de la evaluación en el crecimiento (cm).



*Longitud Total (LT) y la Longitud Hocico-Cloaca (LHC) del ajolote de Velasco (*Ambystoma velasci*) alimentados con (*Tubifex tubifex*) pre-enriquecidos con espirulina (*Arthrospira* spp.) a diferentes dosis de tratamiento durante 120 días. Fuente: Elaboración propia con MATLAB (2025).*

El efecto lineal significativo ($P < 0.05$) sugiere que la adición de *Arthrospira* spp. influye en la respuesta biológica de *Ambystoma velasci*, particularmente en el consumo de alimento y la supervivencia. El incremento en el consumo de alimento con la dosis del 4% de espirulina podría estar relacionado con la mejora en la palatabilidad o digestibilidad del alimento, promoviendo una mayor ingesta. Sin embargo, la ausencia de efectos en la talla, TEC y FCA indica que el beneficio de la espirulina puede no traducirse en una mejor conversión del alimento en biomasa.

Es relevante contrastar estos hallazgos con investigaciones similares en otras especies de anfibios o en modelos acuícolas (Belay, 2007). Estudios en peces han demostrado que la inclusión de espirulina como probiótico puede mejorar la eficiencia alimenticia y el crecimiento debido a la estimulación del sistema inmunológico y mejora en la microbiota intestinal (Belay, 2007; Lara-Flores *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2019). Investigaciones previas en ajolotes, (Mena-González, & Servín-Zamora, 2014) reportan que parámetros

fisicoquímicos adecuados son esenciales para la óptima conversión del alimento y el crecimiento (Cruz-Aviña *et al.*, 2025).

El mayor porcentaje de supervivencia en los tratamientos con 4%-5% de *Arthrospira* spp. sugiere un posible efecto benéfico de la cianobacteria en la resistencia fisiológica de *Ambystoma velasci*. Este resultado puede estar relacionado con la presencia de β -glucanos y manano-oligosacáridos en *Arthrospira* spp. , los cuales han sido reportados como inmunoestimulantes en otros organismos acuáticos y han sido ampliamente reconocidos por su efecto inmunoestimulante.

La ficocianina, es un pigmento azul que constituye hasta el 20% de la biomasa de la espirulina, actúa como un potente antioxidante que reduce el daño celular causado por especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual es clave para preservar la integridad de los tejidos y mejorar la respuesta inmune innata. Además, la ficocianina puede modular la expresión de citoquinas proinflamatorias, promoviendo un equilibrio inmunológico adecuado. Por otro lado, los β -glucanos, polisacáridos estructurales que forman parte de la pared celular de la espirulina y otras microalgas, tienen la capacidad de activar macrófagos, células dendríticas y neutrófilos mediante la interacción con receptores tipo PRR (Pattern Recognition Receptors), como Dectin-1 y TLRs.

Esta activación promueve una mayor fagocitosis, presentación antigénica y producción de óxido nítrico, fortaleciendo la capacidad del sistema inmune para enfrentar patógenos oportunistas. En peces y anfibios, la suplementación con β -glucanos ha demostrado mejorar la resistencia a enfermedades bacterianas, reducir la mortalidad y aumentar la actividad de la lisozima y otras enzimas inmunitarias, (Belay, 2007; Lara-Flores *et al.*, 2010; Sarker, Bureau & Hua, 2018; Wang *et al.*, 2019). En conjunto, estos compuestos hacen de la espirulina un ingrediente funcional valioso no sólo por su perfil nutricional, sino por su potencial inmunoprotector, lo que podría explicar la alta supervivencia y buena condición fisiológica observadas en los tratamientos enriquecidos, especialmente al 4% y 5%. (Belay, 2007; Ringø *et al.*, 2012; Mahra *et al.*, 2024).

Adicionalmente, los parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el experimento (pH de 7.5-9.0, nitrato (NO_3^-) 5.1 mg L⁻¹, nitrito (NO_2^-) 0.1 L⁻¹ mg y amonio (NH_4^+) 0.01 mg L⁻¹) son consistentes con los valores recomendados para la cría en laboratorio de *Ambystoma velasci* (Vázquez, Ramírez & Torres, 2019; Vázquez *et al.*, 2019). Esto indica que la inclusión de la espirulina no afectó negativamente la calidad del agua, un factor crucial para evitar estrés y mortalidad en especies acuáticas endémicas (Cruz-Aviña *et al.*, 2025).

Durante el experimento, la calidad del agua no presentó variaciones significativas que comprometieran el bienestar de los ajolotes (*Ambystoma velasci*), lo cual se atribuye principalmente a la implementación de buenas prácticas de manejo del sistema de cultivo, específicamente: *Recambios periódicos de agua*: Se realizaron recambios parciales (10-15 % cada tercer día), lo que permitió evitar la acumulación de metabolitos nitrogenados como amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-), los cuales pueden generar estrés o toxicidad si se elevan más allá de los niveles fisiológicamente tolerables. *Uso de sistemas de filtración*:

Cada unidad experimental contó con un sistema de filtración mecánica y biológica, lo cual favoreció la eliminación de residuos orgánicos y la estabilidad microbiológica. Los filtros mantuvieron los niveles de turbidez bajos y ayudaron a conservar parámetros críticos como el oxígeno disuelto (OD) y el pH dentro de rangos óptimos. *Carga biológica controlada*: La densidad de organismos se mantuvo dentro de los límites recomendados para juveniles de *A. velasci*, lo que redujo la competencia por oxígeno y espacio, minimizando la producción de compuestos nitrogenados por unidad de volumen. *Monitoreo constante*: Los parámetros fisicoquímicos (como temperatura, oxígeno disuelto, pH y nitritos) fueron monitoreados de forma regular, permitiendo una respuesta oportuna ante cualquier desviación. Gracias a estas medidas, fue posible asegurar un ambiente acuático adecuado a lo largo de los 120 días del experimento, garantizando tanto el bienestar de los organismos como la validez de los resultados obtenidos en los tratamientos.

Desde un punto de vista aplicado, estos resultados sugieren que la adición de *Arthrospira* spp. en dietas de *Ambystoma velasci* puede ser beneficiosa en términos de supervivencia y consumo de alimento. Sin embargo, dado que no se observaron mejoras significativas en el

crecimiento y conversión alimenticia, es necesario explorar otros factores, como la duración del tratamiento, la interacción con otros nutrientes o el uso de levaduras combinadas con prebióticos, harinas de insectos y biocolina (Cruz-Aviña *et al.*, 2025).

CONCLUSIONES

La suplementación con espirulina (*Arthrospira spp.*) en la dieta viva de *Ambystoma velasci* promovió mejoras significativas en el rendimiento zootécnico de los organismos mantenidos en condiciones controladas durante 120 días. La inclusión del 5% de espirulina como pre-enriquecimiento del alimento basado en *Tubifex tubifex* generó la mayor ganancia diaria de peso (GDP) y tasa específica de crecimiento (TEC), sin afectar negativamente la conversión alimenticia (FCA) ni la supervivencia. No obstante, el tratamiento con 4% de espirulina representó un punto de equilibrio más eficiente al combinar un alto rendimiento en crecimiento con menor consumo acumulado de alimento, una buena conversión alimenticia y una supervivencia del 100%. Este balance sugiere que el 4% constituye una alternativa óptima para su aplicación práctica, especialmente en contextos donde la eficiencia nutricional y el manejo de costos son prioritarios. La espirulina también aporta compuestos funcionales, como la ficocianina y los β -glucanos, conocidos por sus propiedades inmunoestimulantes y antioxidantes, que podrían favorecer la salud general de los organismos y aumentar su resiliencia frente a factores de estrés ambiental. Durante el experimento, la calidad del agua se mantuvo dentro de parámetros adecuados gracias al uso de filtros biológicos y mecánicos, así como a un régimen regular de recambios de agua, lo cual evitó la acumulación de desechos y posibles impactos negativos sobre los animales. En conjunto, estos resultados respaldan el uso de espirulina como un aditivo nutricional eficiente, funcional y sustentable para *Ambystoma velasci*, con implicaciones relevantes para programas de conservación *ex situ*. Se recomienda profundizar en estudios complementarios que evalúen su impacto sobre el sistema inmunológico, los parámetros hematológicos y la reproducción en condiciones variables, así como hacer pruebas comparativas con otros alimentos vivos utilizados en el cuidado cría y mantenimiento de *Ambystoma velasci* como *Artemia spp.* y *Daphnia spp.*

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue apoyada por el Laboratorio de Medicina de la Conservación (Fauna Silvestre) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la BUAP y forma parte del proyecto VIEP (continuación) "*Conservación de fauna nativa en Áreas Naturales de Puebla, resiliencia y patrimonio biocultural ante el cambio climático*".

REFERENCIAS

- Aguilar-López, J. L., López Sánchez, J., & Villar, S. C. (2013). Axolotl, letra por letra. *Ciencia*, 64(2), 7883. https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/64_2/PDF/Axolote.pdf
- American Public Health Association (APHA). (1989). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (17th ed.). American Public Health Association.
- Belay, A. (2007). Spirulina (*Arthrospira*): Production and quality assurance. En A. Belay & Y. Ota (Eds.), *Spirulina in human nutrition and health* (pp. 15–40). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420052572>
- Cheong, S. H., Kim, M. Y., Sok, D. E., Hwang, S. Y., Kim, J. H., Kim, H. R., ... & Kim, M. R. (2010). Spirulina prevents atherosclerosis by reducing hypercholesterolemia in rabbits fed a high-cholesterol diet. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 56(1), 34–40. <https://doi.org/10.3177/jnsv.56.34>
- Cruz-Aviña, J. R., Sánchez, N., Tenorio-Arvide M., Valencia, R., & Sánchez-Alarcón, J. (2025). Evaluación de levadura como suplemento en (*Ambystoma velasci*, Dugés 1888) para optimizar su crecimiento y conservación. *Revista de Investigación en Ciencia y Biotecnología Animal*, 2, 12–19. <https://doi.org/10.10122/RCVB.2025751292>
- Farkas, J.E., Monaghan, J.R. (2015). Housing and Maintenance of *Ambystoma mexicanum*, the Mexican Axolotl. In: Kumar, A., Simon, A. (eds) Salamanders in Regeneration Research. *Methods in Molecular Biology*, vol 1290. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2495-0_3
- Gan, S. Y., Lim, P. E., & Phang, S. M. (2016). Genetic and metabolic engineering of microalgae. *Algae Biotechnology: Products and Processes*, 317-344. https://doi.org/10.1007/978-3-319-12334-9_16

- Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). *A review on culture, production, and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034. penknowledge.fao.org/items/24b4014d-3e41-4903-8a80-5b0a2d6227d3
- Jiménez, O., Cruz-Aviña, J. R., Arzate, E., Figueroa, G., & Casas, G. (2017). Conservación ex-situ de poblaciones en riesgo de ajolotes (*Ambystoma* spp.) del Estado de Puebla, México. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, 8(18), 1–10. <https://rlac.buap.mx/>
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B. E., & López-Madrid, W. (2010). Use of probiotic bacteria in tilapia (*Oreochromis niloticus*) and catfish (*Ictalurus punctatus*) aquaculture: A review. *African Journal of Microbiology Research*, 4(18), 1875–1883.
- Luna-Figueroa, J., Vargas, Z. T. de J., & Figueroa, J. T. (2010). Alimento vivo como alternativa en la dieta de larvas y juveniles de *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). *Avances en Investigación Agropecuaria*, 14, 63–72. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83715746005>
- Mahran, R. E., Razek, T., & Sidkey. (2024). Phycoremediation of greywater using *Spirulina platensis* and the potential applications of the produced biomass. *Journal of Environmental Science*, 53(12), 3277–3303. <https://doi.org/10.21608/jes.2024.311199.1838>
- Mena, A., & Servín, J. (2014). Manejo y calidad del agua en la cría de *Ambystoma velasci*. *Revista Mexicana de Herpetología*, 2(1), 45–56.
- Mena-González, H., & Servín-Zamora, E. (2014). *Manual básico para el cuidado en cautiverio del axolote de Xochimilco (Ambystoma mexicanum)*. Laboratorio de Restauración Ecológica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. <https://doi.org/978-607-025513-7>
- National Research Council (NRC). (2011). *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/13039>.
- Organización de las Naciones Unidas (ONU). (2005). *La utilización de microalgas alimenticias contra la malnutrición aguda en las emergencias humanitarias y para el desarrollo sostenible*. Naciones Unidas, Treaty Series, vol. 2151, No. 37542.
- Olvera-Ramírez R, Ríos-Leal E, Vicente-García V (2003) *Manual de Técnicas para el Cultivo y Extracción de Bioproductos a Partir de Microalgas*. ENCB-IPN. México. 69 pp.

- Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from the biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 65, 635-648.
- Ramírez-Moreno, L., & Olvera-Ramírez, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp.(*Arthrospira* sp.). *Interciencia*, 31(9), 657-663.
- Ringø, E., Olsen, R. E., Jensen, I., Romero, J., & Lauzon, H. L. (2012). Application of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in aquaculture: A review. *Aquaculture*, 342–343, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.002>
- SADER. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf [Consultado en mayo 2025]
- Sarker, P. K., Bureau, D. P., & Hua, K. (2018). Microalgae and their bioproducts as feed ingredients for aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 444–460. <https://doi.org/10.1111/raq.12163>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2010). *Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo*. Diario Oficial de la Federación. https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf [Consultado en octubre 2024]
- Vázquez, A., Ramírez, L., & Torres, G. (2019). Parámetros óptimos de calidad del agua para la producción de *Ambystoma velasci*. *Journal of Aquatic Sciences*, 6(3), 112–125.
- Vázquez-Silva, G., Arana, M. F. C., López, A. K., Hernández, G. P. A., Mendoza, M. G. D., & Martínez, G. J. A. (2019). Efecto de la levadura de selenio en el crecimiento, supervivencia y potencial reproductivo de *Ambystoma mexicanum*. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 6 (Suplemento 2), 1521–1526. revistaremaeitvo.mx/index.php/remae/issue/view/7/7
- Wang, Y. B., Li, J. R., & Lin, J. (2019). Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. *Aquaculture Research*, 50(2), 685–694. [10.1016/j.aquaculture.2008.06.002](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.002)