

## RESPUESTA DE CUATRO MICROALGAS TROPICALES AL EFECTO COMBINADO DE LUZ Y TEMPERATURA

NELLIS MARIN & ELVIRA FERRAZ DE REYES

*Instituto Oceanográfico, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela*

**RESUMEN** Se estudió el efecto combinado de luz y temperatura sobre la tasa de crecimiento y el contenido proteico de 4 cultivos clonales axénicos obtenidos en aguas someras del Golfo de Cariaco, (Edo. Sucre). *Monochrysis* T y *Chlamydomonas* LG presentaron su máxima tasa de crecimiento entre 20°C y 30°C con irradiaciones de 144  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , *Chaetoceros* C e *Isochrysis* T no presentaron diferencias significativas de su tasa de crecimiento bajo las condiciones ambientales fijadas. El contenido de proteína fue mayor en todas las cepas a intensidades de luz de 144  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  combinados con temperaturas de 25°C a 30°C.

**ABSTRACT:** The effect of different light intensities and temperatura on the growth rate and protein content of 4 axenic clonal cultures of microalgas was studied. The algae were isolated from the surface waters of the Gulf of Cariaco (Edo. Sucre) and were incubated in Guillard F/2 medium. The maximum growth rate of *Monochrysis* T. and *Chlamydomonas* LG occurred in the temperature range 20-30°C and at irradiations of 144 and 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  while the growth rate of *Chaetoceros* C. and *Isochrysis* T. did not show differences ( $F_s = 0,05$ ) under the various culture conditions. The maximum protein content of all algae occurred in the range 25-30°C at 144  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

### INTRODUCCION

De los factores que controlan la producción primaria en el medio ambiente acuático, la luz y la temperatura son los que exhiben mayor rango de variación espacial y temporal, tanto diurno como latitudinal y, el éxito ecológico de las especies yace en las respuestas fisiológicas a los cambios de estas variables. Sin embargo, la adaptación simultánea no está bien entendida, ya que se han realizado muchos experimentos con diferentes intensidades y calidades de luz, pero se conoce poco del efecto combinado de estas dos variables. Entre algunos de los trabajos están el de JANASE & IMAI (1968), los cuales determinaron las condiciones óptimas de luz y temperatura para el crecimiento de algunas microalgas con la finalidad de usarlas en la alimentación de bivalvos; YODER (1979) observó que *Skeletonema costatum* es capaz de mantener máximas tasas de crecimiento bajo un amplio rango de iluminación, además demostró que la temperatura no influye en el contenido clorofílico de la célula ni en la relación nitrógeno-clorofila. No obstante, GOLDMAN (1977) reportó un incremento en el contenido de

nitrógeno celular con un descenso de la temperatura, y JORGENSEN (1969) encontró una relación inversa entre la temperatura y el contenido proteico de las células. MORGAN & KALFF (1979) determinaron que el crecimiento del alga depende de un complejo de interacciones de luz, temperatura y nutrientes.

El comportamiento del fitoplancton bajo ambientes controlados merece fundamental importancia, como base para los trabajos de acuicultura a nivel experimental y a gran escala. Los países desarrollados ya han previsto suplir sus carencias proteicas con recursos marinos, en ese sentido ya existe un amplio conocimiento sobre los cultivos microalgales.

En Venezuela todavía se está investigando lo relativo a la maricultura a nivel experimental; y en cuanto al conocimiento de la microflora y sus requerimientos ambientales y nutritivos, y no hay reportes de su valor o calidad alimentaria.

En el presente trabajo se estudió las respuestas fisiológicas a los efectos combinados de luz y temperatura de las especies *Monochrysis* sp. (Chrysophyta), *Isochrysis* sp. (Chrysophyta), (*Chlamydomonas* sp. (Chlorophyta) y *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyta), aisladas de la costa nor-oriental de Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

Cultivos axénicos unialgales de *Chlamydomonas*, *Monochrysis*, *Isochrysis* y *Chaetoceros* aislados del Golfo de Cariaco se mantuvieron a 22°C y 8 μE.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> en medios de cultivos F/2 (GUILLARD, 1974). La iluminación se mantuvo en un ciclo de 12:12 horas, día y noche en un incubador refrigerado de cultivos "Forma Scientific". La irradiación fue lateral, suministrada por lámparas fluorescentes (cw) de 14 w medida en μE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> con un equipo Licor LI-185A, provisto de un sensor cuántico LI-192SB (Lamba Instruments Co. Lincoln, Nebraska, USA).

Se realizaron bioensayos a diferentes intensidades de luz (48, 144 y 336 μE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> y temperaturas (20°C, 25°C y 30°C). A este fin se fijaron tres compartimientos dentro del incubador para lograr los tres niveles de irradiación. Los cultivos fueron inoculados para cada irradiación ambiental por triplicado, en fio-las de 250 ml con 150 ml del medio de cultivo, más 5 ml de suspensión algal en fase de crecimiento exponencial. Se muestrearon cada 24 horas e inmovilizados con solución de lugol para hacer los contajes respectivos. Se hicieron cuatro contajes diarios para cada réplica, empléandose un hematocitómetro y un microscopio Wild monocular.

Las tasas de crecimiento (div. día<sup>-1</sup>) fueron calculadas usando datos de la porción exponencial de la curva de crecimiento según la ecuación de STEIN (1979):

$$N_t = \frac{K}{A t \frac{K - N_0}{N_0} \times e^{-r t}}$$

En donde:

- K = Número máximo de células obtenidas.
- r = Tasa intrínseca de crecimiento natural o tasa de multiplicación.
- N<sub>0</sub> = Valor inicial de la población.
- t = Intervalo de tiempo entre cada muestreo.

Con la información obtenida se construyeron las curvas de crecimiento y en cada caso se calculó una constante de crecimiento (μ.día<sup>-1</sup>) utilizando la ecuación dada por Guillard (1973):

$$\mu(\text{div. día}^{-1}) = [3.322 / (t_2 - t_1) \cdot (\log N_2 / N_1)]$$

En donde:

N<sub>1</sub> y N<sub>2</sub> corresponden a número de células ml<sup>-1</sup> en un tiempo t<sub>1</sub> y t<sub>2</sub> respectivamente.

Contenido proteico

Para la determinación del contenido de proteínas de las diferentes especies se analizó el contenido de nitrógeno particulado según metodología de Jacobs modificada por STRICKLAND & PARSON (1972). El contenido de nitrógeno se transformó en proteínas multiplicando por el factor 6.25.

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente de acuerdo a SOKAL & ROHLF (1969) y DUNCAN (1955).

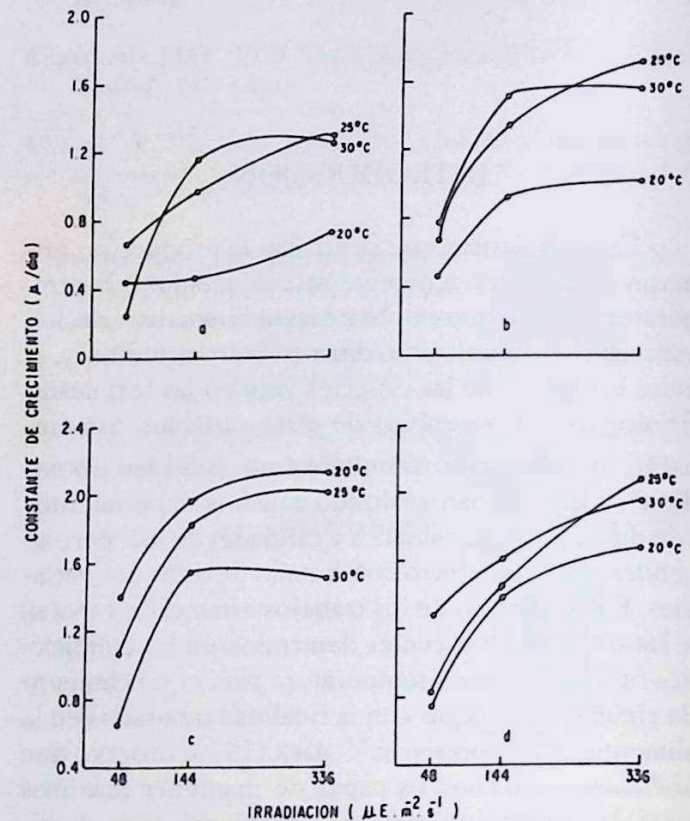


FIG. 1- CONSTANTES DE CRECIMIENTO DE LAS ESPECIES CULTIVADAS A VARIOS NIVELES DE IRRADIACION Y TEMPERATURAS. a: *Monochrysis* sp. c: *Chlamydomonas* sp. b: *Isochrysis* sp. d: *Chaetoceros* sp.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Las constantes de crecimiento diaria de las microalgas en relación a la intensidad luminosa a cada condición de temperatura se presentan en la Fig. 1.

La constante de crecimiento de *Monochrysis* aumentó a medida que se incrementó la intensidad de luz, a excepción de los 30°C. A 20°C y 25°C la tendencia fue de aumentar marcadamente entre 144 y 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , no obstante al incrementar la temperatura a 30°C se estabilizó la constante de crecimiento entre estos rangos de iluminación.

El análisis de varianza doble con réplica a un  $F_s=0.05$  demostró que el crecimiento de la especie es afectado por la irradiación, mientras que la temperatura y la interacción de ésta con la iluminación no afectaron significativamente la tasa de crecimiento. De acuerdo a los resultados de las pruebas se determina que la condición óptima de luz se alcanza alrededor de los 144  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a las diferentes temperaturas ensayadas (Fig. 1a.).

Los valores que adquiere la constante de crecimiento de *Isochrysis* a 20°C y a diferentes niveles de irradiación son relativamente más bajos que los correspondientes valores a 25 y 30°C de temperatura. A 25°C hubo un crecimiento acelerado y a 30°C tiende a estabilizarse entre 144 y 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ( $F_s=0.05$ ), lo cual prueba que esta especie se puede cultivar bien a todas las condiciones experimentales fijadas para el bioensayo, pudiéndose elegir cualquiera según la disponibilidad, no obstante para una mayor rapidez en el crecimiento se recomienda de 144 a 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Fig. 1b).

En *Monochrysis* e *Isochrysis* el efecto de la interacción entre la irradiación y la temperatura demuestra que de 25 a 30°C se favorecen las tasas de crecimiento al incrementar la irradiación cuando se compara con lo observado a 20°C (Fig. 1a, b).

*Chlamydomonas* presentó un comportamiento similar a 20 y 25°C y a medida que aumentó la irradiación aumentó la constante, a diferencia de lo ocurrido a 30°C donde se observó cierta inhibición en la constante de crecimiento al aumentar la irradiación a 336

$\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Las pruebas estadísticas ( $F_s=0.05$ ) demostraron diferencias entre los niveles de iluminación fijados para el crecimiento de la especie, deduciéndose que el clima luminoso apropiado se encuentra entre 144 y 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a cualquiera de las temperaturas fijadas. La temperatura por sí sola y su interacción con la iluminación no mostraron diferencias significativas (Fig. 1c).

Los patrones de crecimiento de la especie *Chaetoceros* sp. fueron similares a 20 y 25°C a las irradiaciones de 48 y 144  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , pero cuando se aumentó la irradiación a 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a 20°C se observó una ligera estabilización, mientras que a 25°C esta tendencia es menos acentuada. A 30°C el comportamiento de la constante fue diferente, a bajas irradiaciones fue superior que a 20 y 25°C, pero a partir de la irradiación intermedia el comportamiento es muy similar al observado a 20°C. Aparentemente la especie crece bien bajo todas las condiciones ambientales fijadas, pero mejor a 25°C, sin embargo, la alta tasa de crecimiento sostenida por un tiempo tan corto bajo el efecto combinado de 25°C y 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  descarta la posibilidad de usar esta condición para cultivos estáticos, aun cuando no se observaron diferencias significativas a un  $F_s=0.05$  (Fig. 1d).

Se concluye que las condiciones óptimas para el crecimiento de las especies sometidas a ensayo están dentro de los límites de temperatura empleados, con un rango de iluminación que varió de 144 a 336  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  para los microflagelados, mientras que para la diatomea que mostró mayor crecimiento a altas intensidades, su tasa de crecimiento fue más sostenida a intensidades intermedias y bajas. Esta observación también es hecha por muchos autores tales como JITTS *et al.*, (1964), los cuales demostraron que las diatomeas necesitan para su crecimiento menor iluminación que los flagelados.

*Monochrysis* e *Isochrysis* mostraron preferencia hacia las temperaturas más altas (25°C y 30°C), sin embargo, UKELES (cit. por Kinne, 1976) reporta que especies de este mismo género no presentaron crecimiento a 27 y 29°C. Por otro lado, KAIN & FOOG (cit. por KINNE, 1976) observaron que cultivos de la crisofita *Isochrysis galbana* expuestos a 30°C por una semana no presentaron efectos letales. De la misma manera SOROKIN (1962) trabajando con dos especies de *Chlorella*, encontró que una tenía temperatura

máxima de 42°C y la otra no crecía por encima de 29°C. Por otro lado, JANASE & IMAI (1968) quienes trabajaron con los mismos géneros utilizados en el presente trabajo, encontraron el óptimo de iluminación entre  $45 \times 10^2$  y  $8 \times 10^3$  lux, mientras tanto, UKELES (*op. cit.*) recomienda para muchas especies intensidades de  $1,5 \times 10^3$ - $5,5 \times 10^3$  asociadas con temperaturas de 15 a 22°C.

Las observaciones antes mencionadas revelan la variabilidad en las respuestas del fitoplancton, las cuales deben estar relacionadas directamente con su procedencia. En este sentido, el óptimo de temperatura de las especies probadas se relacionó con los lugares del muestreo, en donde además predomina alta iluminación durante todo el año. Sin embargo, MADDUX & JONES (1964) suponen que la preferencia de una especie a una temperatura dada está relacionada con la concentración de nutrientes del medio.

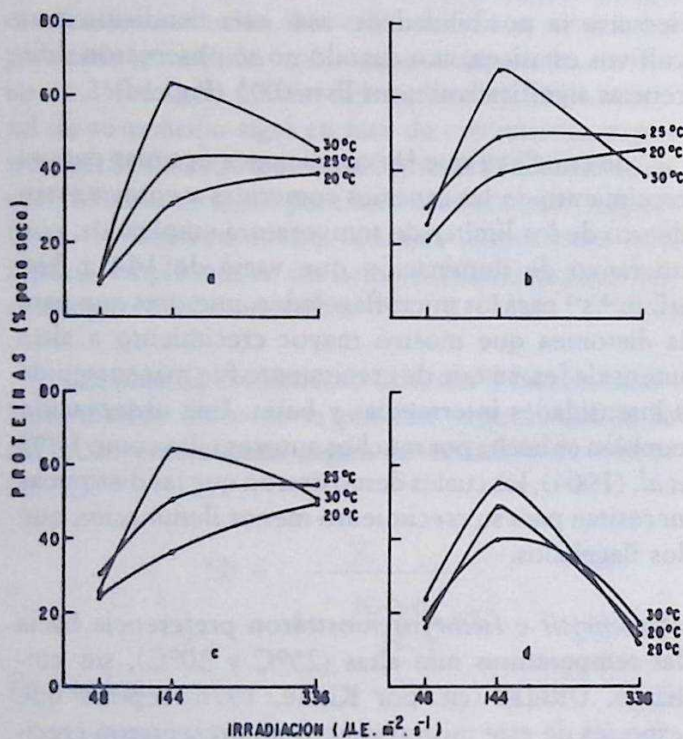


FIG. 2- CONTENIDO DE PROTEINA DE LAS ESPECIES CULTIVADAS A VARIOS NIVELES DE IRRADIACION Y TEMPERATURAS.

- a: *Monochrysis* sp.
- b: *Isochrysis* sp.
- c: *Chlamydomonas* sp.
- d: *Chaetoceros* sp.

En lo que se refiere al contenido de proteínas de estas especies, la tendencia general (Fig. 2) es aumentar desde  $48 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  hacia  $144 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  a todas las temperaturas expuestas, presentando a esta última intensidad, en casi todos los casos, el mayor contenido de proteínas y a  $336 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  el menor. No obstante, a 20 y 25°C entre 144 y  $336 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  en los microflagelados el descenso no fue tan violento como el observado en la diatomea y en los mismos microflagelados a 30°C. Sin embargo, los valores obtenidos a cada condición ambiental no fueron significativamente diferentes, de modo que queda a criterio de cultivador establecer sus condiciones de cultivo dentro de los niveles probados. Además es bueno señalar que a  $144 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  las células algales fueron de una coloración y apariencia morfológica saludable. BEALL & APPLEMAN (1971) estudiando las bases fisiológicas de los procesos metabólicos de las células algales sometidas a diferentes condiciones ambientales, concluyeron que el principal factor que se debe controlar en el crecimiento de las algas es el grado de limitación de la luz, debido a que el contenido de clorofila puede aumentar cuando se limita la luz, y disminuye cuando no se limita. Así a  $336 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  es posible que hubiese foto destrucción o menor concentración de la clorofila, al observarse cultivos con coloración opaca contrario a lo observado a  $41 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , en donde se observó una coloración intensa de los cultivos.

El máximo contenido de proteínas lo presentó *Isochrysis* sp. lo cual no está relacionado con la especie de mayor tamaño ni más rápida tasa de crecimiento. Esta capacidad unida a su diminuto tamaño ( $3,2 \mu\text{m}$ ) y su fácil cultivo a temperaturas propias del medio ambiente natural bajo iluminación controlada hacen que esta especie se constituya en una excelente fuente de alimento en los programas de acuicultura. *Monochrysis* sp. y *Chlamydomonas* sp. también se pueden usar como alimento, ya que se pueden cultivar a las mismas condiciones de la especie anterior y sus contenidos de proteínas no difieren significativamente. *Chaetoceros* sp. a pesar de presentar una rápida tasa de crecimiento no es recomendable para cultivos estáticos por cuanto su crecimiento exponencial es muy breve; además su calidad alimenticia si la consideramos según su contenido de proteínas puede ser baja.

#### AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar su agradecimiento al Dr. GREGORIO REYES VASQUEZ por sus observacio-

nes y críticas al manuscrito de este trabajo. Al señor  
JESUS HERNANDEZ dibujante y a la Srta. ROSAURA

SILVA R. secretaria del Departamento de Biología  
Marina.

## REFERENCIAS

- BEALE S.I. & D.A. APPLEMAN 1971. Chlorophyll Synthesis in *Chlorella*. En *Algal Physiology and Biochemistry*. (Ed. W.D.P. Steward) Blackwell Oxford Sci. Publ. 715-740.
- DUNCAN D.B. 1955. *Biometrics*, 3ra. ed. Nordic Publishing Company, 298 pp.
- GOLDMAN I.C. 1977. Mass production of Marine Algae in outdoor cultures. *Nature*, 254 (5501): 584-595.
- GUILLARD R.R.L. 1974. Culture of Phytoplankton for feeding marine invertebrates. En *Culture of marine invertebrate animals* (Ed. Smith W.L. and Chanley M.H.). Plenum Press N.Y. 29-60.
- . 1973. Division rates. En *Handbook of Phycological Methods* (Ed. J. Stein). Cambridge Univ. Press, London pp. 289-311.
- JANASE, R. & T. IMAI 1968. The effect of light intensity and temperature on the growth of several marine algae useful for rearing molluscan larvae. *Toboku J. Agric. Res.*, 19 (1): 75-81.
- JITTS H.R., C.D. MACALLISTER, K. STEPHENS & J.D.H. STRICKLAND 1964. The cell division rates of some marine phytoplankters as a function of light and temperature. *J. Fish. Res. Bd. Canadá*, 21: 139-157.
- JORGENSEN, E.G. 1969. The adaptation of plankton algae. IV. Light adaptation in different algal species. *Physiol. Plant.* 22: 1.307-15.
- KINNE O. 1976. *Marine Ecology*. Vol. IV. Cultivation Part I. John Wiley and Sons, 577 pp.
- MADDUX W. & R.F. JONES 1964. Some interactions of temperature, light intensity and nutrient concentration during the continuous culture of *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis sp.* *Limnol. Oceanog.* 9 (1): 79-86.
- MORGAN K.C. & J. KALFF. 1979. Effect of light and temperature interactions and growth of *Cryptomonas erosa* (Cryptophyceae). *J. Phycol.* 15: 127-234.
- SOKAL R. & J. ROHLF. 1969. *Biometry*. W.H. Freeman and Company. San Francisco, 776 pp.
- SOROKIN C. 1962. Changes in photosynthetic activity in the course of cell development in *Chlorella*. En *Physiology and Biochemistry of Algae*. (Ed. Lewin R.A.). Acad. Press. N.Y. 617-622.
- STEIN J.R. 1979. Culture methods and growth measurements. En *Handbook of Phycological Methods* (Ed. J.R. STEIN) Cambridge Univ. Press, pp. 446.
- STRICKLAND J.D.H. & T.H. PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *J. Fish. Res. Bd. Canadá*. II ed. 167: 185-195.
- YODER J.A. 1979. Effect of temperature on light limited growth and chemical composition of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 15: 362-370.

(Manuscrito recibido el 13 de diciembre de 1984).