



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

EFECTO DE LA INTENSIDAD LUMINOSA Y LA
CONCENTRACION DE NITRATOS SOBRE

Chaetoceros didymus

(Erhenberg).



TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

JOSE EDGAR ARROYO ORTEGA

ENSENADA, B.C., DICIEMBRE DE 1989

EFFECTO DE LA INTENSIDAD LUMINOSA Y LA
CONCENTRACION DE NITRATOS SOBRE
Chaetoceros didymus
(Erhenberg)

Tesis que presenta
JOSE EDGAR ARROYO ORTEGA.

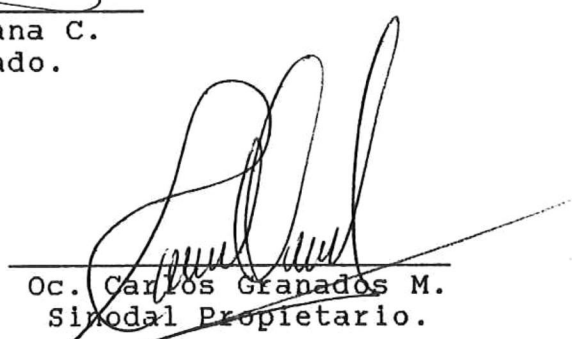
Aprobada por:



Dra. Elizabeth Orellana C.
Presidente del Jurado.



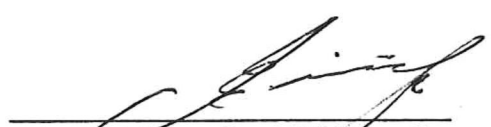
M.C. Eduardo Santamaría del A.
Sinodal Propietario.



Oc. Carlos Granados M.
Sinodal Propietario.



Oc. Enrique Valenzuela E.
Sinodal Suplente.



M.C. Eduardo Millán N.
Sinodal Suplente.

A mis padres, a mis hermanos y
a mi esposa. Te amo mi niña.

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo se realizó gracias al programa 220 BECA TESIS, dentro del Proyecto APROVECHAMIENTO DEL POTENCIAL PRODUCTIVO DE LAGUNAS COSTERAS EN BAJA CALIFORNIA.

La deuda que tengo con la FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS es grande, nombrar a cada una de las personas que de alguna manera han participado en el logro de este trabajo sería injusto, porque accidentalmente algunas quedarían omitidas. Sin embargo, quiero agradecer especialmente a cada uno de los miembros del jurado, por su profesionalismo, tiempo, paciencia y amistad que siempre me han brindado. Agradezco también, a los integrantes de la dirección de la Facultad de Ciencias Marinas, que en siete años han hecho gala de organización y por el apoyo que me ofrecieron a lo largo de mi vida estudiantil y profesional. A todos y cada uno de mis profesores, a todos y cada uno de mis estudiantes, les agradezco todo lo que me han enseñado. Por último, quiero agradecer a todos los que siempre me apoyaron, con los que siempre estaré, a mis amigos. MUCHAS GRACIAS.

... no puedes forzar a la
naturaleza . . .

G. Guerra-Rivas.

I N D I C E .

	PAG.
LISTA DE TABLAS	VII
LISTA DE FIGURAS.	X
RESUMEN.	XII
 1. INTRODUCCION.	 1
1.1 OBJETIVO.	9
 2. MATERIALES Y METODOS.	 10
2.2. ACLIMATACION Y CONDICIONES DE CULTIVO PARA <i>Chaetoceros didymus</i> EN LOS EXPERIMENTOS.	11
2.2.1. CONDICIONES DE ACLIMATACION.	11
2.2.2. CONDICIONES DE CULTIVOS EXPERIMENTALES.	12
2.2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.	12
2.2.3.1. PRIMER EXPERIMENTO.	15
2.2.3.2. SEGUNDO EXPERIMENTO.	16
2.3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.	18
2.3.1. ENUMERACIONES Y PARAMETROS POBLACIONALES.	18
2.3.2. ESTIMACION DE VOLUMEN CELULAR.	20
2.3.3. CALCULO DE CARBONO ORGANICO.	21
2.3.4. DETERMINACION DE CLOROFILA "a".	21
2.3.5. DETERMINACION DE NITROGENO ORGANICO.	22
2.4. TRATAMIENTO ESTADISTICO.	22
3. RESULTADOS.	24
3.1. DESARROLLO POBLACIONAL DE <i>C. didymus</i> EN CONDICIONES DE CULTIVO.	24
3.2. DESARROLLO POBLACIONAL DE <i>C. didymus</i> BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES.	29
3.2.1. PARAMETROS POBLACIONALES.	38
3.2.2. TAMAÑO CELULAR.	39
3.2.3. CARBONO CELULAR.	44
3.2.4. CLOROFILA "a" CELULAR.	45
3.2.5. NITROGENO CELULAR.	45
 4. DISCUSIONES.	 48
4.1. ASPECTOS POBLACIONALES.	48
4.2. ASPECTOS CITOLOGICOS.	53
4.3. IMPLICACIONES ECOLOGICAS.	62
 5. CONCLUSIONES.	 68
 6. LITERATURA CITADA.	 69
 APENDICE.	 76

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Condiciones de intensidad luminosa y concentración de nitratos para los dos experimentos realizados con <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema semicontinuo.	14
Tabla II. Resultados del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para probar la validez de las réplicas de los cultivos cerrado y semicontinuo de cada condición experimental. La hipótesis nula es NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS REPLICAS. Nivel de significancia = 0.05. Grados de libertad = 2. Valor crítico = 5.99. N es el número de observaciones. En todos los casos se aceptó la hipótesis nula.	25
Tabla III. Valores de densidad poblacional transformados y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo cerrado con medio "f/2".	26
Tabla IV. Resultados del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para determinar la duración de las fases de desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistemas cerrado ("f/2") y semicontinuo (A-I, B-I, C-I, A-II, B-II y C-II). Las fases son L= latencia, E=exponencial, ES=estacionaria, D= declinación. NO significa que no existen diferencias significativas, SI significa que si hay diferencias significativas. n es el número de observaciones.	27
Tabla V. Resultados del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para determinar las diferencias entre las fases de desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistemas cerrado ("f/2") y semicontinuo (A-I, B-I, C-I, A-II, B-II y C-II). Las fases son L= latencia, E=exponencial, ES= estacionaria, D= declinación. NO significa que no existen diferencias significativas, SI significa que si hay diferencias significativas. n es el número de observaciones.	28
Tabla VI. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo A-I ($3.1 \times 10^{1.4}$ Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $32.01 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).	30

Tabla VII. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo B-I (21×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $10.04 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).	31
Tabla VIII. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo C-I (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $0.0 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).	32
Tabla IX. Resultados del análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis para probar las diferencias entre la fase exponencial (E) de cada condición de cultivo experimental. La hipótesis nula es NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE CADA TRATAMIENTO. Nivel de significancia = 0.05.	34
Tabla X. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo A-II (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).	35
Tabla XI. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo B-II (21.1×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).	36
Tabla XII. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de <i>Chaetoceros didymus</i> en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo C-II (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).	37
Tabla XIII. Valores promedio de la longitud apical, el volumen celular y carbono celular calculado a partir del volumen celular. Y concentración promedio máxima de clorofila y nitrógeno celular para <i>Chaetoceros didymus</i> cultivado en sistema semicontinuo durante el primer experimento.	40
Tabla XIV. Valores medios ($\bar{X}$) y desviación estándar (σ) del volumen celular y el carbono celular de <i>Chaetoceros didymus</i> con la distribución observada de los 90 valores diarios en las condiciones de cultivo del primer	

experimento. El valor esperado de la distribución normal para $X \pm \sigma = 68.26\%$; $X \pm 2\sigma = 95.49\%$; $X \pm 3\sigma = 99.74\%$. En la prueba de bondad de ajuste H_0 : No existen diferencias significativas entre las distribuciones. Nivel de significancia 0.001. Valor crítico $\chi^2 = 27.88$. Valor calculado $\chi^2 = (0.026, 1.039)$. Siempre se aceptó H_0 .

41

Tabla XV. Resultado de la prueba "F" para determinación de homocelastidad de las muestras de volumen celular y carbono celular estimado a partir de éste. $H_0: \sigma_0 / \sigma = 1$. Nivel de significancia = 0.01; grados de libertad (89, 9). Valor crítico $F = 1.76$. Se acepta H_0 en todos los casos. Los cocientes de las varianzas de volumen celular son iguales a los del carbono celular.

42

Tabla XVI. Resultados del análisis de varianza paramétrico de una vía para detectar las diferencias del volumen celular y carbono celular calculado a partir de éste, a lo largo del tiempo de cultivo semicontinuo del primer experimento. H_0 : No existen diferencias significativas. Nivel de significancia = 0.05

43

Tabla XVII. Resultados del análisis de varianza paramétrico de una vía para detectar las diferencias del volumen celular y carbono celular calculado a partir de éste, entre tratamientos en cultivo semicontinuo del primer experimento. H_0 : No existen diferencias significativas. Nivel de significancia = 0.05.

43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo de la secuencia metodológica desarrollada en el primer experimento.	13
Figura 2. Diagrama de flujo de la secuencia metodológica desarrollada en el segundo experimento.	17
Figura 3. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> en el medio "f/2" en cultivo cerrado.	26
Figura 4. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> bajo la condición de cultivo A-I (3.1×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $32.01 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.	30
Figura 5. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> bajo la condición de cultivo B-I (21×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $10.04 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.	31
Figura 6. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> bajo la condición de cultivo C-I (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $0.0 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.	32
Figura 7. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> bajo la condición de cultivo A-II (3.1×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.	35
Figura 8. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> bajo la condición de cultivo B-II (21×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.	36
Figura 9. Desarrollo poblacional de <i>Chaetoceros didymus</i> bajo la condición de cultivo C-II (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.	37

Figura 10. Variación de la clorofila "a" celular en
Chaetoceros didymus en cultivo semicontinuo.

46

Figura 11. Variación del nitrógeno celular en
Chaetoceros didymus en cultivo semicontinuo.

47

RESUMEN

Chaetoceros didymus, diatomea aislada de la bahía de Todos Santos en primavera de 1988, fue cultivada bajo condiciones de laboratorio en sistemas cerrado y semicontinuo, con el fin de evaluar su respuesta a nivel individual y poblacional. En el sistema semicontinuo se realizaron dos experimentos, en el primero *C. didymus* se sometió a tres condiciones de luz y tres concentraciones de nitratos: a) A-I ($3.1 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $32 \mu\text{g atm N-NO}_3\text{l}^{-1}$) donde se registró un valor de crecimiento poblacional de 0.973 d^{-1} y la concentración de nitrógeno celular fue de $13.361 \text{ pg N cél}^{-1}$ y la de clorofila celular fue de $0.797 \text{ pg clorofila "a" cél}^{-1}$. b) En la condición B-I ($21.0 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $10.04 \mu\text{g atm N-NO}_3\text{l}^{-1}$) donde se encontraron valores de 0.653 d^{-1} para la tasa de crecimiento poblacional, de $11.535 \text{ pg N cél}^{-1}$ y $11.535 \text{ pg clorofila "a" cél}^{-1}$ para las concentraciones de nitrógeno y clorofila celulares respectivamente. Y c) condición C-I ($210.0 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $0.0 \mu\text{g atm N-NO}_3\text{l}^{-1}$), donde se obtuvo una tasa de crecimiento poblacional de 0.504 d^{-1} , el valor de concentración de nitrógeno celular fue de $6.216 \text{ pg N cél}^{-1}$ y para la concentración de clorofila por célula fue de $0.275 \text{ pg clorofila "a" cél}^{-1}$. En el segundo experimento la concentración de nitratos se mantuvo constante ($30.12 \mu\text{g N l}^{-1}$) y se varió la intensidad luminosa provocándose tres condiciones: A-II ($3.1 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$), B-II ($21.1 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y C-II ($210.0 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) donde se obtuvieron valores de tasa de crecimiento poblacional de 0.679 , 0.907 y 1.031 d^{-1} . Con ésto se demuestra que *C. didymus* de la bahía de Todos Santos se fotoadaptó y que los nitratos, en gran concentración, son indispensables.

1. INTRODUCCION.

El fitoplancton se desarrolla en un medio dinámico donde los factores físicos y químicos regulan su tasa de crecimiento, biomasa y composición elemental, causando fluctuaciones espacio-temporales que afectan a toda la red trófica del ambiente marino, donde la producción de materia orgánica se debe en gran parte al fitoplancton.

El factor físico más importante en el medio marino es la luz, ya que de su energía depende la fotosíntesis (Rhee y Gotham, 1981). Dentro de los factores químicos la cantidad de nitratos como aportador de nitrógeno es determinante. Después del carbono y excluyendo al hidrógeno y al oxígeno, el nitrógeno es el elemento más importante en el agua de mar por su contribución a la fabricación de materia orgánica del fitoplancton (Syrett, 1981).

Tanto la luz como la concentración de nitratos varían de manera diferente conforme aumenta la profundidad. La penetración de la luz decrece con la profundidad de manera exponencial, por absorción, reflexión y difusión de las moléculas de agua y las partículas en suspensión (Parsons *et al.*, 1984). La

concentración de nitratos en el medio marino oscila entre 0 y 30 $\mu\text{g at N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$ (Parsons *et al.*, 1984). En la columna de agua las concentraciones menores se encuentran en la superficie y se van incrementando a medida que la profundidad aumenta, dentro de la zona fótica (Eppley *et al.*, 1979). Debajo de la zona fótica la concentración de nitratos llega a su máximo, generalmente en la capa del mínimo de oxígeno con un pequeño descenso en concentración (Sharp, 1983).

El fitoplancton no puede mantenerse fijo a una profundidad en donde la intensidad luminosa sea óptima para sus procesos vitales, excepto algunas formas con locomoción propia (Heaney y Eppley, 1981), además del hundimiento que presenta, está sujeto a los movimientos de turbulencia del medio (Falkowski, 1980). Por otra parte, el abastecimiento de nitrógeno puede estar limitado permanente o intermitentemente en el medio marino (Dortch, 1982). Como resultado de esto, las células fitoplanctónicas experimentan potencialmente grandes variaciones de intensidad luminosa y concentración de nitratos a lo largo de un día (Auclair *et al.*, 1982).

Entonces es válido pensar que el fitoplancton para subsistir a las variaciones de los factores físicos y químicos del medio debe presentar una amplia "plasticidad fisiológica" con la que pueda generar adaptaciones que le ayuden a sobrevivir. Las adaptaciones que presente, se manifestarán en variaciones de la tasa de crecimiento poblacional, en la composición elemental de los organismos y el contenido de pigmentos fotosintéticos entre otros. El estado fisiológico de una población fitoplanctónica se puede inferir a partir del valor de su tasa de crecimiento específico y el de las células que forman la población, por las razones que existen entre las concentraciones celulares de clorofila "a"/carbono orgánico y nitrógeno orgánico/carbono orgánico (Steele y Baird, 1961; Sakshaug y Holm-Hansen, 1977).

Por otra parte, las variaciones de las características del fitoplancton cuando es sometido a limitación de luz o de nutrientes han sido muy estudiadas como eventos independientes. Post *et al.* (1984) demuestra que las diatomeas aumentan su tasa de división cuando la intensidad luminosa aumenta. Estudios realizados cuando la intensidad luminosa es limitante han revelado que el contenido de pigmentos fotosintéticos en el fitoplancton

se ve alterado. Durbin (1974), encontró que *Thalassiosira nordenskiöldii* presentó un contenido de clorofila "a" mayor a intensidades bajas de luz. Chan (1978) también demuestra que la cantidad de clorofila aumenta cuando las células fueron cultivadas en condiciones bajas de luz al comparar las razones clorofila:proteína de diatomeas mostrando que esta razón decrece cuando la intensidad luminosa aumenta. Raps *et al.* (1983) no encontraron diferencias en la cantidad de carbono orgánico ni en carotenoides con las variaciones de la intensidad luminosa en *Microcystis aeruginosa* pero el contenido de clorofila disminuyó con el aumento de intensidad luminosa.

Falkowski (1980) propone un modelo fisiológico que consiste en la competencia de dos enzimas que se activan cuando las condiciones de luz son bajas, con lo que se explica el aumento del contenido de clorofila en las células fitoplanctónicas expuestas a condiciones limitantes de luz.

Por lo que se refiere al estudio del fitoplancton cuando está limitado por la concentración de nitrógeno en el medio, Dortch *et al.* (1984) demostraron que la tasa de

crecimiento de *Chaetoceros gracilis* aumenta cuando la concentración de nitratos en el medio es mayor. Dortch y Conway (1984) experimentando con *C. debilis* y *Skeletonema costatum* encontraron que tanto la tasa de crecimiento específico como la tasa de fijación de nitrógeno disminuyeron para ambas especies cuando en el medio la concentración de nitratos fue limitante. Los estudios de Sakshaug y Holm-Hansen (1977) demuestran que la composición elemental de *S. costatum* y *Pavlova (Monochrysis) lutheri* varía cuando se altera la concentración de nitratos en el medio, ellos observaron que la razón atómica carbono:nitrógeno aumentó de 5 a 5.7 cuando se disminuyó la concentración de nitratos.

En estudios donde la variación de nitratos e intensidad luminosa se ha realizado simultáneamente se ha encontrado que en *Scenedesmus* sp. y *Fragilaria crotonensis* aumentó la cantidad de carbono, nitrógeno y clorofilas celulares cuando la intensidad luminosa fue moderada y la concentración de nitrógeno en el medio fue alta (Rhee y Gotham, 1981). Healey (1985) detectó que en la cianofita *Synechococcus linearis* las concentraciones de nitrógeno y carbono aumentaron, en condiciones limitantes de luz y de riqueza de nitrógeno en el medio.

Terry *et al.* (1985a), determinaron que la composición de las células de *Phaeodactylum tricornutum* fue diferente a distintas condiciones de cultivo, cuando la cantidad de luz fue limitante la fijación de nitrógeno fue mayor y cuando la concentración de nitrógeno en el cultivo fue limitante aumentó la síntesis de proteínas. Cuando la intensidad luminosa fue alta, hubo una síntesis de polisacáridos alta. Sin embargo, la concentración de carbono interna no presentó variación. Por otra parte *S. costatum* presenta una adaptación a las condiciones de baja intensidad luminosa y alta concentración de nitratos que se refleja en el aumento de las reservas internas de nitrógeno y carbono (Sakshaug y Andresen, 1986).

Una especie fitoplanctónica se distribuye ampliamente en la medida que pueda adaptarse a las condiciones ambientales. El realizar estudios autoecológicos con especies aisladas de su medio ayudan a conocer las variaciones en su fisiología cuando se cambian las condiciones ambientales en sistemas de cultivo, con lo que podemos explicar fenómenos que ocurren en la naturaleza como lo es la variación de nitratos en la columna de agua de la cuenca del sur de California, que en la superficie se registra un máximo de

intensidad luminosa y la concentración de nitratos es mínima (Williams, 1986), conforme se descende la concentración de nitratos es aproximadamente 10 veces mayor que en la superficie y llega alrededor del 10 % de la intensidad luminosa superficial en esta capa se define la nitraclina (nivel donde se produce un cambio brusco de la concentración de nitratos), por último queda la capa localizada debajo de la nitraclina donde hay una concentración máxima de nitratos casi al final de la capa fótica donde llega aproximadamente el 1 % de intensidad luminosa. Así entonces, una especie aislada de la superficie al exponerse, en cultivo a tres condiciones distintas: sobre la nitraclina, en la nitraclina y debajo de la nitraclina, dará información sobre la capacidad de adaptación del fitoplancton a las condiciones de luz y concentración de nitratos cuando varían inversamente, hecho que puede ocurrir tanto en la columna de agua durante un día o si se considera una variación estacional o anual.

En este trabajo se determinaron las adaptaciones que presenta *C. didymus* aislado de la Bahía de Todos Santos en primavera de 1988, cuando en un sistema de cultivo semicontinuo se sometió a la variación simultánea de

intensidad luminosa y concentración de nitratos, estimando los parámetros poblacionales en los cultivos, midiendo el volumen celular, calculando la cantidad de carbono orgánico por célula y determinando el contenido de clorofila "a" y nitrógeno celulares.

Es así, que este trabajo constituye la primer serie de bioensayos realizados con una especie aislada de Bahía de Todos Santos, para estudiar un problema de ecofisiología del fitoplancton costero.

1.1 OBJETIVO.

Establecer las respuestas que presenta *Chaetoceros didymus*, en sistema semicontinuo, simulando tres condiciones de la columna de agua, variando la intensidad luminosa y la concentración de nitratos. A nivel poblacional, estimando sus parámetros y a nivel individual, midiendo el volumen celular, calculando la cantidad de carbono orgánico por célula y determinando, el contenido de clorofila "a" y nitrógeno orgánico celulares.

2. MATERIALES Y METODOS.

2.1. AISLAMIENTO DE LA ESPECIE.

La especie con que se trabajó fue *Chaetoceros didymus* Ehrenberg, aislada de la Bahía de Todos Santos, B. C. en la Facultad de Ciencias Marinas en primavera de 1988.

El método de aislamiento consistió en concentrar una muestra de fitoplancton natural del medio mediante un arrastre subsuperficial con una red cónica del número 20 (75 μ m de luz de malla) y 30 cm de diámetro en la boca. La muestra colectada se transportó al laboratorio en un matraz con agua de mar enriquecida, protegiéndola de la luz y a bajas temperaturas. Ya en el laboratorio se analizó la muestra al microscopio compuesto en una cámara Sedwick-Rafter y con micropipeta conectada a un aplicador, las células en cadenas de *C. didymus* se transportaron a matraces Erlenmeyer de 25 ml de capacidad con 10 ml de medio de cultivo "f/10" (Guillard, 1975) preparado con agua de mar filtrada, los cultivos se colocaron en un régimen de iluminación constante y temperatura ambiente. Después de cuatro días de cultivo se repitió el aislamiento en dos ocasiones manteniendo a

los cultivos en condiciones similares. Las cuantificaciones celulares se realizaron con una cámara Neubauer. Una a vez que los cultivos alcanzaron una densidad poblacional mayor de $200,000 \text{ cel ml}^{-1}$ (células por mililitro) el contenido de los matraces se transfirió a matraces Erlenmeyer de 500 ml de capacidad con 150 ml de medio de cultivo "f/2" (Guillard, 1975).

2.2. ACLIMATACION Y CONDICIONES DE CULTIVO PARA *C. didymus* EN LOS EXPERIMENTOS.

2.2.1. CONDICIONES DE ACLIMATACION.

En este trabajo se realizaron dos experimentos que básicamente consistieron en observar la respuesta que tienen los cultivos de *C. didymus* cuando se varía simultáneamente la intensidad luminosa y la concentración de nitratos tratando de reproducir las condiciones que existen en la columna de agua. *C. didymus* se aclimató durante la semana previa a cada experimento, a una temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$. La fuente luminosa fueron lámparas de luz blanca fría General Electric de 40 w generando una iluminación de $210 \times 10^{14} \text{ Q cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ determinada con un irradiómetro (Biospherical Instruments

Inc. QSL-100), propiedad del Instituto de Investigaciones Oceanológicas. El medio de cultivo se preparó con agua de mar filtrada y añejada que se enriqueció con las sales nutritivas en concentraciones del medio "f/2" pero sin fuente de nitrógeno, con el fin de que las células agotaran o al menos disminuyeran su reserva.

2.2.2. CONDICIONES DE CULTIVOS EXPERIMENTALES.

La temperatura para los experimentos fue la misma del periodo aclimatación y las condiciones de luz se mantuvieron constantes. Cada experimento se realizó por triplicado (Fig. 1). Los cultivos estuvieron contenidos en matraces Erlenmeyer de 500 ml de capacidad con 150 ml de medio de cultivo enriquecido "f/2" con la concentración de nitratos modificada (Tabla. I) y sin amonio.

2.2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Una vez aislado *C. didymus* se cultivó en sistema cerrado con medio "f/2" para conocer su tasa de crecimiento poblacional y la duración de las fases de crecimiento bajo esta condición. Posteriormente se

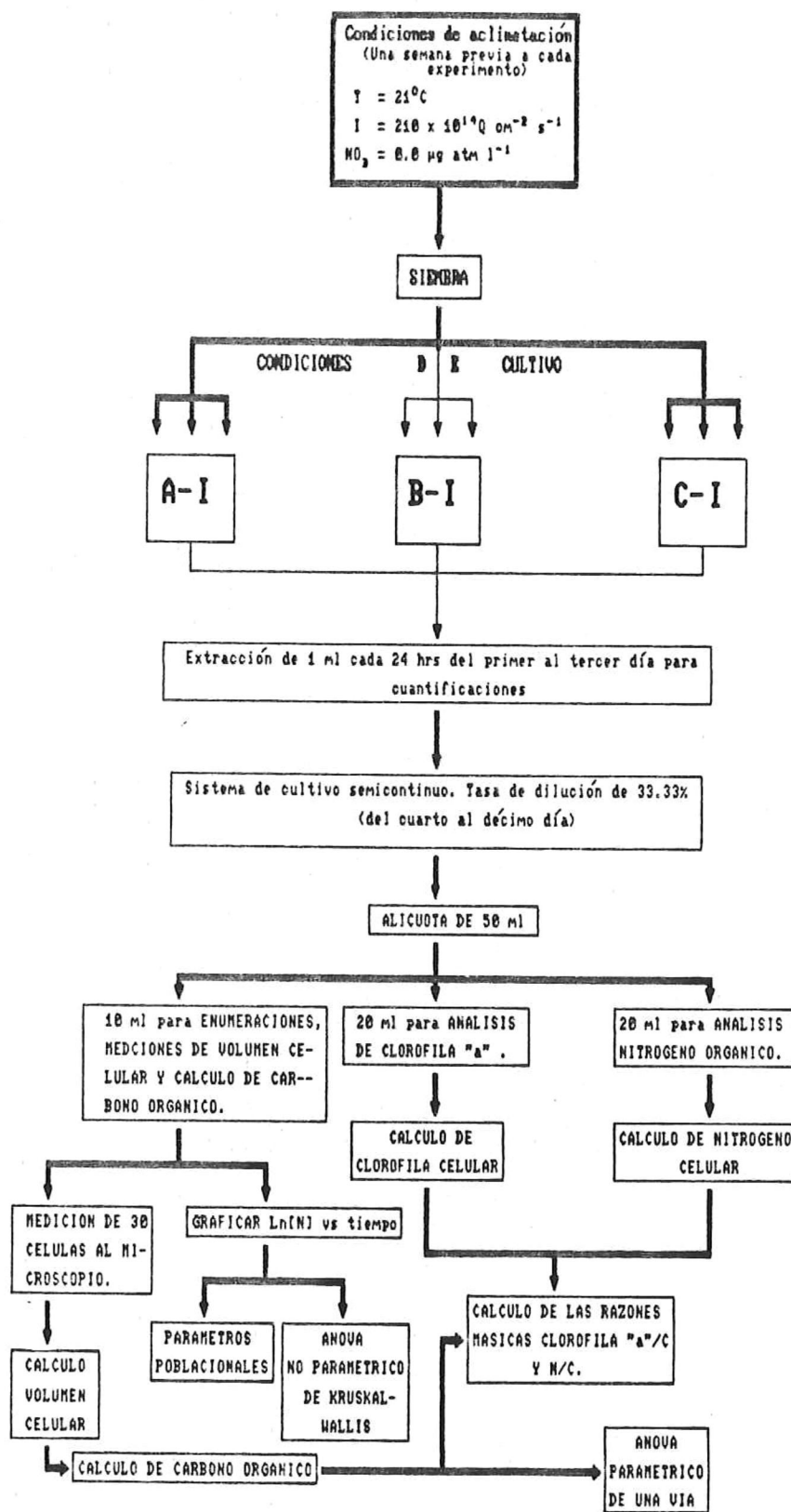


Figura 1. Diagrama de flujo de la secuencia metodológica desarrollada en el primer experimento.

Tabla I. Condiciones de intensidad luminosa y concentración de nitratos para los dos experimentos realizados con *Chaetoceros didymus* en sistema semicontinuo.

	CONDICION DE CULTIVO	Concentración de nitrato ($\mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$)	Intensidad luminosa ($\times 10^{-14}$ Quanta $\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
E X P E R I M E N T O 1	A-I	32.01	3.1
	B-I	10.04	21.0
	C-I	0.0	210.0
E X P E R I M E N T O 2	A-II	30.12	3.1
	B-II	30.12	21.1
	C-II	30.12	210.0

plantearon dos experimentos, el primero consistió en variar la intensidad luminosa y la concentración de nitratos con el fin de observar la respuesta poblacional e individual de *C. didymus*. Para sopesar cuál de las variables (luz o nitratos) era a la que se adaptaba la diatomea se realizó un segundo experimento en la cual se mantuvo, constante la concentración de nitratos y se varió la intensidad luminosa. Al conocer las respuestas de *C. didymus* del primer experimento, con sólo observar el desarrollo poblacional del segundo experimento se pudo diferenciar la adaptación de *C. didymus* en condiciones similares a la columna de agua, simuladas en el primer experimento.

2.2.3.1. PRIMER EXPERIMENTO.

En el primer experimento (Fig. 1) se sometió a *C. didymus* durante 10 días a la variación de concentración de nitratos y la intensidad luminosa, como se establece en la tabla I. En este experimento se estimaron los parámetros poblacionales, se midió el volumen celular y de éste se calculó la concentración carbono orgánico intracelular. Se determinó la clorofila "a" y nitrógeno orgánico por célula. La densidad poblacional

inicial para los experimentos fue de $5\,345 \pm 215$ cél. ml^{-1} ; el sistema semicontinuo se aplicó al cuarto día de cultivo con una tasa de dilución del 33.3 % del volumen total de cada cultivo, en base al resultado de la tasa de duplicación diaria de *C. didymus* en cultivo cerrado con medio "f/2", porque además de no lavar el cultivo. Diversos estudios han determinado que la tasa óptima de dilución en un sistema semicontinuo es aproximadamente la empleada en este trabajo (Aguirre-Muñoz, 1981; Badillo-Castro, 1989). El tamaño de la alícuota fue adecuado para la cuantificación de las células y para los análisis químicos.

2.2.3.2. SEGUNDO EXPERIMENTO.

Para establecer el tipo de adaptación que presentó *C. didymus* al variar simultáneamente dos factores, en el segundo experimento (Fig. 2) se varió solamente la intensidad luminosa (Tabla. I). En este experimento se analizó el desarrollo poblacional exclusivamente y se comparó con el primer experimento.

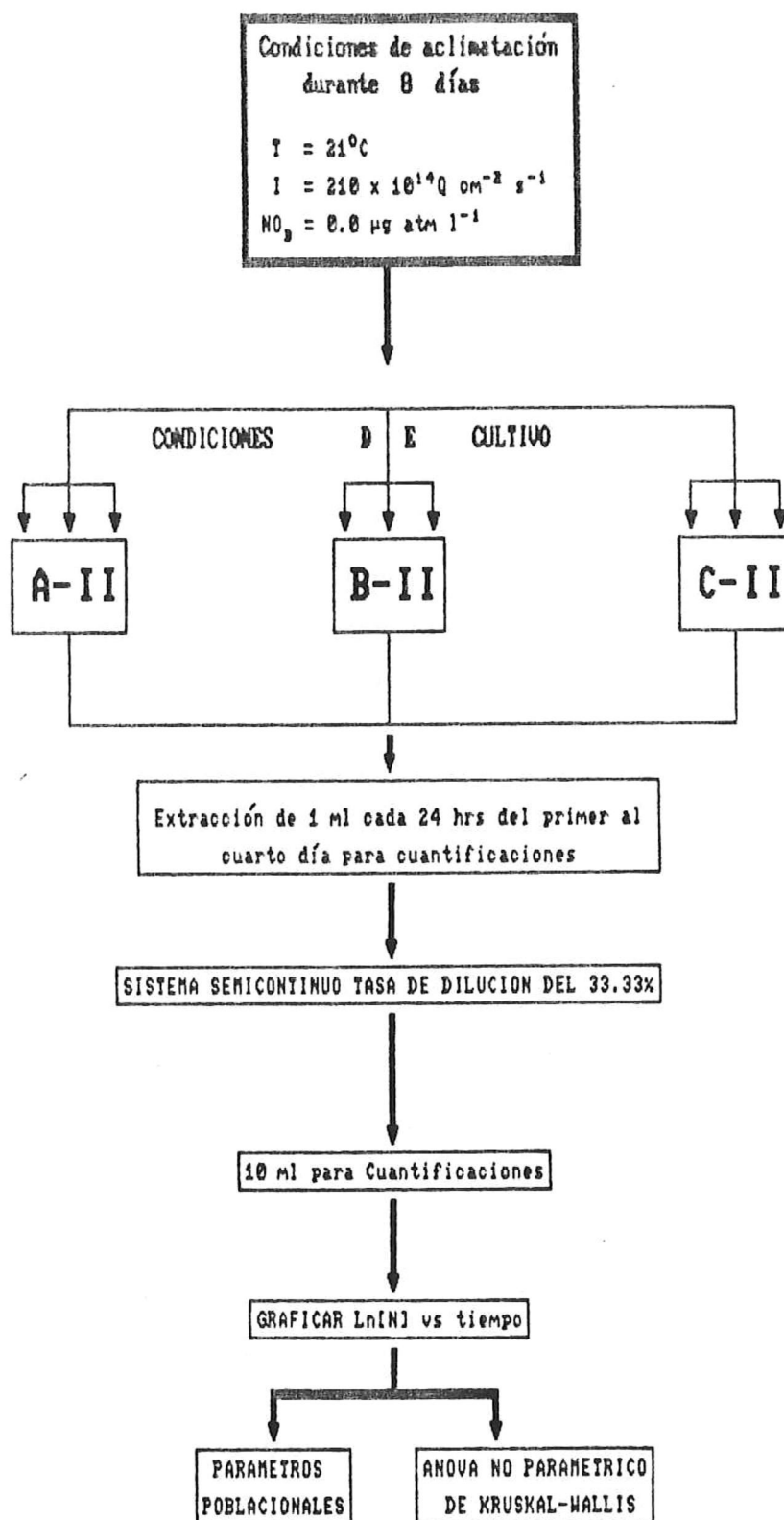


Figura 2. Diagrama de flujo de la secuencia metodológica desarrollada en el segundo experimento.

2.3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

Las extracciones de alicuotas durante los primeros 3 días de cultivo se realizaron en condiciones axénicas con una pipeta estéril y durante el sistema semicontinuo el volumen extraído de cada cultivo se realizó en un ambiente estéril con ayuda de mecheros de gas. En base a la dilución (50 ml) se obtuvieron tres alicuotas, una de 10 ml para realizar enumeraciones y mediciones de células, otra de 20 ml para el análisis de clorofilas y una última de 20 ml para el análisis de nitrógeno orgánico. Las extracciones se realizaron cada 24 horas.

2.3.1. ENUMERACIONES Y PARAMETROS POBLACIONALES.

Las enumeraciones del primer al cuarto día se realizaron con una cámara Sedwick-Rafter en microscopio de contraste de fases Baush & Lomb (Balplan). De la alicuota extraída durante el sistema semicontinuo se tomó un volumen de 10 ml y se fijó con lugol neutro con base de acetato de sodio (Descolas-Gros, 1978) para realizar enumeraciones en invertoscopio con contraste de fases Carl Zeiss en cámaras de sedimentación de 2 cm³, que solo fueron usadas cuando en la cámara Sedwick-Rafter los

valores eran menores de 300 células. De cada muestra se contaron 6 submuestras independientes. Del resultado de las enumeraciones por muestra se obtuvo una media que se transformó a logaritmo natural y se graficó contra el tiempo de cultivo.

La tasa de crecimiento específico " μ " se calculó como:

$$\mu = TD + \ln (N_1/N_0)(t_1-t_0)$$

según Rhee y Gotham (1981) donde TD es la tasa de dilución, N_1 y N_0 son el número de células por mililitro a los tiempos t_1 y t_0 respectivamente, expresado en días.

Cambiando la base logaritmica de μ a logaritmo en base 2, su recíproco es el tiempo de duplicación máximo, G, calculado por la expresión:

$$G = 0.693/\mu$$

donde μ es la tasa de crecimiento específica para cada condición y 0.693 el $\ln[2]$.

El número de duplicaciones por día o duplicación

diaria D, es el inverso del tiempo de duplicación.

$$D = G^{-1}$$

2.3.2. ESTIMACION DE VOLUMEN CELULAR.

Para la estimación de volumen celular se midieron 30 células individuales de cadenas diferentes, de manera que los valores obtenidos fueron independientes. Los ejes apical y pervalvar (Apéndice I) se midieron con un micrómetro ocular Baush & Lomb en microscopio de contraste de fases y se aplicó la fórmula de Kovala y Larrance (1966):

$$V = (a b c)(3.14)/4$$

donde: V, es el volumen celular en μm^3 ; a, es la longitud del eje apical; b, es la longitud del eje transapical y c, la del eje pervalvar, todas las longitudes se expresan en μm . Asumiendo que b es a/2 según los diagramas de Yamaji (1979) y Cupp (1943) la fórmula queda:

$$V = b^2 c (3.14)/8$$

2.3.3. CALCULO DEL CARBONO ORGANICO.

Para la estimación del carbono orgánico por célula se tomó el valor promedio del volumen celular de cada muestra y se introdujo en la ecuación de Mullin *et al.* (1966):

$$\log_{10} C = 0.76 \log_{10} V - 0.29$$

donde: C, es la cantidad de carbono por célula en pg y V es el volumen celular expresado en μm^3 .

2.3.4. DETERMINACION DE CLOROFILA "a".

De cada cultivo se filtraron 20 ml de las alícuotas extraídas durante el sistema semicontinuo, en filtros de membrana MFS (0.45 μm) y se agregaron de 5 a 10 gotas de carbonato de magnesio en solución al 0.1% y las muestras se congelaron durante 8 días. El análisis del contenido de clorofila "a" se realizó con un espectrofotómetro Baush & Lomb Spectronic 200, según el método espectrofotométrico tricromático, utilizando las ecuaciones de Parsons y Strickland (Strickland y Parsons, 1972).

2.3.5. DETERMINACION DE NITROGENO ORGANICO.

Para la determinación de nitrógeno orgánico en las alícuotas obtenidas de los cultivos durante el sistema semicontinuo se filtraron 20 ml aproximadamente en filtros preincinerados GF/G de fibra de vidrio, se congelaron a -20°C y se analizaron según el método de Strickland y Parsons (1972) en un espectrofotómetro Baush & Lomb Spectronic 700.

2.4. TRATAMIENTO ESTADISTICO.

Para analizar el desarrollo poblacional de *C. didymus* se eligió el ANOVA no paramétrico de una vía de Kruskal-Wallis porque las cuantificaciones fueron pocas y presentaron valores extremos.

En el primer experimento se comprobó la validez de las réplicas comparando las cuantificaciones de cada una, para cada día de cultivo. El siguiente análisis estadístico fue para comprobar la duración de las fases del desarrollo poblacional, se agruparon todos los datos de los triplicados por día de cultivo. Los tratamientos dependieron del desarrollo poblacional de *C. didymus*.

bajo sistema cerrado con medio "f/2". El análisis estadístico fue similar para las demás condiciones experimentales en sistema semicontinuo.

Una vez establecida la duración de una fase de cultivo dada, se probó que existieran diferencias entre cada fase de cultivo en una misma condición.

El último análisis para el desarrollo poblacional de *C. didymus* fue para establecer la diferencia entre las fases de crecimiento exponencial, entre cada condición experimental en sistema semicontinuo.

Para analizar los valores de volumen y los de carbono celulares de cada día de cultivo en el primer experimento, se comprobó que se distribuían de acuerdo al modelo normal y eran homocelásticos. Cumplidos estos requisitos se realizó un análisis de varianza paramétrico de una vía donde se compararon volumen y carbono celular a lo largo del tiempo de cultivo y entre condición experimental.

3. RESULTADOS

3.1. DESARROLLO POBLACIONAL DE *C. didymus* EN CONDICIONES DE CULTIVO.

C. didymus presentó un desarrollo poblacional característico de un cultivo cerrado con medio rico en nutrientes como el "f/2". La primera aplicación del análisis estadístico confirmó que no existieron diferencias significativas, con un nivel de confianza de 95%, entre las réplicas de todo experimento (Tabla. II). Bajo esta condición la fase de latencia duró cuatro días; la de crecimiento exponencial dos días, con un máximo de 160,366 cél ml⁻¹; la de retraso del crecimiento exponencial un día y la estacionaria tres días, sin llegar a la fase de muerte del cultivo (Fig. 3; Tabla. III), como se confirmó con los resultados del análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis con un nivel de confianza de 95% (Tablas. IV y V).

La tasa de crecimiento exponencial fue de 1.15 d⁻¹ de donde se deduce que el tiempo necesario para la duplicación de la población fue de 1.105 d, es decir, en un día la población se reprodujo 1.65 veces (Tabla. III).

Tabla II. Resultados del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para probar la validez de las réplicas de los cultivos cerrado y semicontinuo de cada condición experimental. La hipótesis nula es NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS REPLICAS. Nivel de significancia = 0.05. Grados de libertad = 2. Valor crítico = 5.99. N es el número de observaciones. En todos los casos se aceptó la hipótesis nula.

CERRADO			A-I		B-I		C-I		A-II		B-II		C-II	
DIA	N	H _{cal}	N	H _{cal}	N	H _{cal}	N	H _{cal}	N	H _{cal}	N	H _{cal}	N	H _{cal}
1	18	4.02	18	4.10	18	3.68	18	3.98	18	4.98	18	3.88	18	4.18
2	18	4.41	18	3.50	18	4.16	18	3.18	18	4.79	18	4.49	18	3.82
3	18	4.49	18	3.60	18	4.20	18	3.23	18	5.53	18	5.12	18	4.75
4	18	3.80	18	3.71	18	5.43	18	3.42	18	5.20	18	5.65	18	3.68
5	18	5.60	18	4.30	15	5.12	15	4.70	18	4.21	18	3.31	18	3.72
6	18	5.12	15	5.60	15	5.72	15	3.16	18	4.05	18	3.50	18	4.47
7	18	3.42	15	3.59	15	3.80	15	5.26	18	5.09	18	5.36	18	4.76
8	18	5.53	15	4.10	15	3.03	16	4.49	18	5.57	18	5.79	18	4.13
9	18	4.49	15	3.95	16	5.74	16	4.63	18	4.41	18	4.37	18	4.97
10	18	4.18	18	3.58	18	4.27	18	4.41	18	5.18	18	4.02	18	3.86

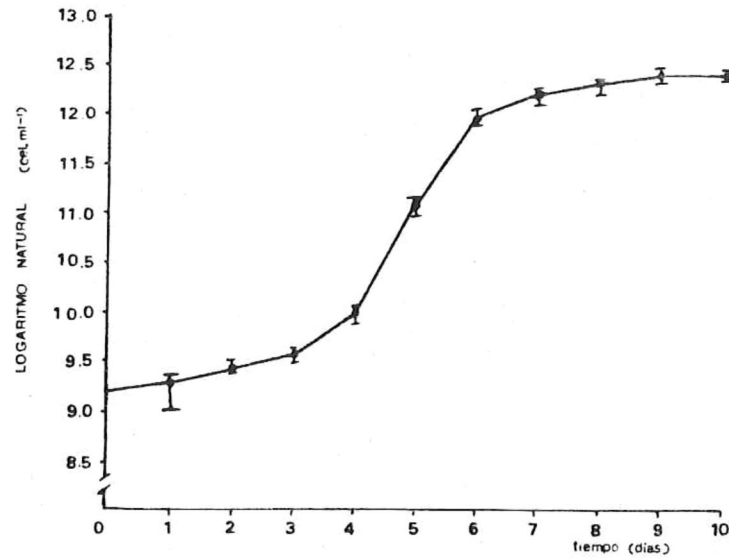


Figura 3. Desarrollo poblacional de *Chaetoceros didymus* en el medio "f/2" en cultivo cerrado.

Tabla III. Valores de densidad poblacional transformados y parámetros poblacionales de *Chaetoceros didymus* en sistema de cultivo cerrado con medio "f/2".

t Tiempo (dias)	N Densidad (cel/ml)	Ln(N)	D.E. Desviación estandar	Tasa de crecimiento μ	$\mu = 1.15 \text{ d}^{-1}$
00	10 000	9.210	0.07	Tiempo de duplicación G	$G = 1.105 \text{ dias}$
01	10 892	9.295	0.05		
02	12 345	9.421	0.03		
03	15 013	9.616	0.08	Duplicación diaria D	$D = 1.65 \text{ d}^{-1}$
04	21 842	9.931	0.06		
05	68 973	11.141	0.03		
06	160 266	11.985	0.07		
07	210 436	12.256	0.07		
08	230 537	12.248	0.02		
09	246 385	12.414	0.05		
10	250 311	12.420	0.01		

Tabla IV. Resultados del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para determinar la duración de las fases de desarrollo poblacional de *Chaetoceros diadema* en sistemas cerrado ("f/2") y semicontinuo (A-I, B-I, C-I, A-II, B-II y C-II). Las fases son L= latencia, E=exponencial, ES=estacionaria, D= declinación. NO significa que no existen diferencias significativas. Si significa que sí hay diferencias significativas. n es el número de observaciones.

CONDICION	n	DIAS DE COMPARACION	g.l.	H _{crit}	H _{cal}	DESICION	FASE
"F/2"	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	7.03	NO	L
	54	4, 5, y 6	2	5.99	6.32	Si	E
	90	6, 7, 8, 9, 10.	4	9.49	9.16	NO	ES
A-I	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	7.53	NO	L
	45	4, 5, y 6	2	5.99	6.39	Si	E
	78	6, 7, 8, 9, 10.	4	9.49	10.10	Si	D
B-I	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	7.11	NO	L
	48	4, 5, y 6	2	5.99	6.23	Si	E
	79	6, 7, 8, 9, 10.	4	9.49	9.91	Si	D
C-I	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	6.93	NO	L
	33	4 y 5	1	3.84	3.93	Si	E
	80	6, 7, 8, 9, 10.	4	9.49	10.07	Si	D
A-II	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	7.36	NO	L
	54	4, 5, y 6	2	5.99	6.27	Si	E
	72	7, 8, 9, 10.	3	7.82	7.98	Si	D
B-II	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	7.71	NO	L
	54	4, 5, y 6	2	5.99	6.38	Si	E
	72	7, 8, 9, 10.	3	7.82	7.93	Si	D
C-II	72	1, 2, 3 y 4	3	7.82	6.31	NO	L
	54	4, 5, y 6	2	5.99	6.69	Si	E
	72	7, 8, 9, 10.	3	7.82	8.30	Si	D

Tabla V. Resultados del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para determinar las diferencias entre las fases de desarrollo poblacional de *Chaetoceros didymus* en sistemas cerrado ("f/2") y semicontinuo (A-I, B-I, C-I, A-II, B-II y C-II). Las fases son L= latencia, E=exponencial, ES= estacionaria, D= declinación. NO significa que no existen diferencias significativas, Si significa que sí hay diferencias significativas. n es el número de observaciones.

CONDICION	n	FASES DE COMPARACION	H _{cal}	DESICION
"F/2"	180	L, E, ES	6.07	Si
A-I	168	L, E, D	6.90	Si
B-I	151	L, E, D	7.38	Si
C-I	152	L, E, D	6.80	Si
A-II	154	L, E, D	7.22	Si
B-II	156	L, E, D	6.15	Si
C-II	154	L, E, D	6.46	Si

3.2. DESARROLLO POBLACIONAL DE *Chatoceros didymus* BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES.

En los cultivos del primer experimento, la población de *C. didymus* disminuyó en el primer día de cultivo. (Figs. 4, 5, y 6; Tablas. VI, VII y VIII). En las tres condiciones, *C. didymus* no presentó diferencias significativas entre los valores poblacionales del primer al cuarto día (Tabla. IV), estableciéndose la fase de latencia. En las condiciones donde la concentración de nitratos fue alta o moderada, con un mínimo de intensidad luminosa e intensidad luminosa intermedia se observa un aumento en la población, a partir del cuarto día y finaliza en el sexto día (Figs. 4 y 5), con máximos de 5,115 y 1,352 cél ml⁻¹ para cada condición, respectivamente (Tablas. VI y VII). Este aumento se confirmó con análisis estadístico, que reveló la existencia de diferencias significativas con 95 % de nivel de confianza (Tabla. IV), esta fase es la de crecimiento exponencial. En la condición donde la concentración de nitratos fue nula y la intensidad luminosa máxima, la fase de crecimiento exponencial duró del cuarto al quinto día, con un máximo de 428 cél ml⁻¹ (Fig. 6; Tablas. IV y VIII). En las condiciones del primer experimento, se registraron diferencias significativas, a

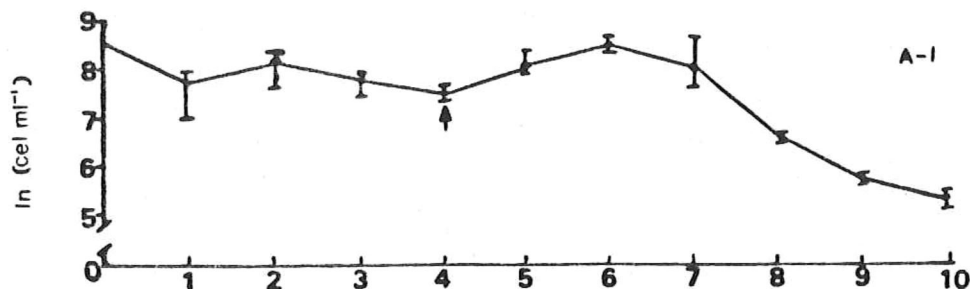


Figura 4. Desarrollo poblacional de *Chlorella didyma* bajo la condición de cultivo A-I (3.1×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $32.01 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.

Tabla VI. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de *Chlorella didyma* en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo A-I (3.1×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $32.01 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).

t Tiempo (días)	N Densidad (cel ml^{-1})	Ln(N)	D.E. Desviación estandar	Tasa de crecimiento	$\mu = 0.973 \text{ d}^{-1}$
00	5 345	8.580	0.043	Tiempo de duplicación	$G = 0.712 \text{ días}$
01	2 186	7.690	0.015		
02	3 789	8.240	0.538	Duplicación diaria	$D = 1.403 \text{ d}^{-1}$
03	2 540	7.840	0.340		
04	1 754	7.470	0.124		
05	2 327	7.750	0.168		
06	5 115	8.540	0.450		
07	2 025	7.618	0.568		
08	749	6.620	0.090		
09	323	5.780	0.070		
10	201	5.320	0.070		

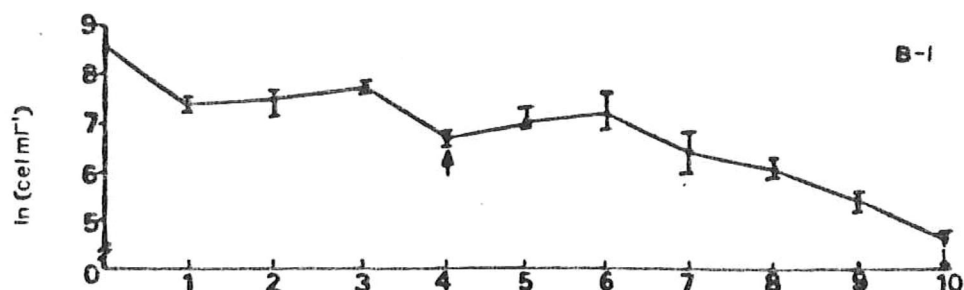


Figura 5. Desarrollo poblacional de *Chaetoceros didymus* bajo la condición de cultivo B-I (21×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $10.04 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.

Tabla VII. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de *Chaetoceros didymus* en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo B-I (21×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $10.04 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).

t Tiempo (días)	N Densidad (cel/ml)	Ln(N)	D.E. Desviación estandar	Tasa de crecimiento	$\mu = 0.653 \text{ d}^{-1}$
00	5 345	8.580	0.043	Tiempo de duplicación	$G = 1.061 \text{ días}$
01	1 702	7.440	0.020		
02	1 044	7.520	0.124	Duplicación diaria	$D = 0.92 \text{ d}^{-1}$
03	2 344	7.760	0.110		
04	812	6.700	0.020		
05	1 118	7.020	0.230		
06	1 352	7.210	0.251		
07	601	6.400	0.190		
08	441	6.090	0.121		
09	242	5.490	0.200		
10	100	4.610	0.098		

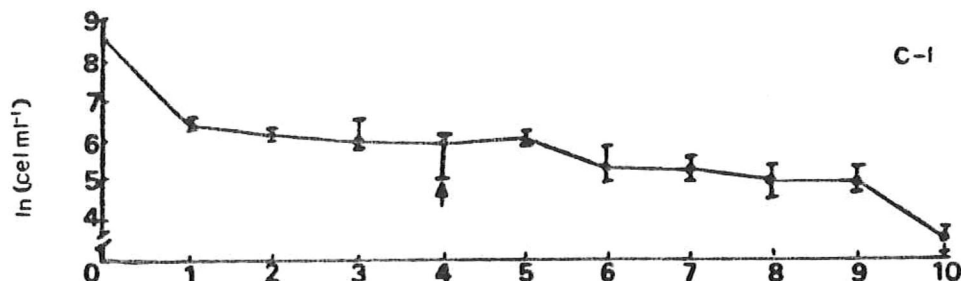


Figura 6. Desarrollo poblacional de *Chaetoceros didymus* bajo la condición de cultivo C-I (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $0.0 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.

Tabla VIII. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de *Chaetoceros didymus* en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo C-I (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $0.0 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).

t Tiempo (días)	N Densidad (cel ml^{-1})	Ln(N)	D.E. Desviación estandar	Tasa de Crecimiento	$\mu = 0.504 \text{ d}^{-1}$
00	5345	8.580	0.043	Tiempo de duplicación	$G = 1.375 \text{ días}$
01	589	6.379	0.010		
02	419	3.839	0.430	Duplicación diaria	$D = 0.72 \text{ d}^{-1}$
03	365	5.902	0.441		
04	361	5.889	0.665		
05	428	6.060	0.060		
06	195	5.270	0.450		
07	186	5.230	0.390		
08	136	4.910	0.470		
09	124	4.900	0.220		
10	31	3.430	0.400		

partir del último día de fase de crecimiento exponencial (Tabla. IV), desde este día la población de *C. didymus* disminuyó gradualmente (Figs. 4, 5, y 6). Esta es la fase de decaimiento del cultivo. Las fases de desarrollo poblacional de *C. didymus* en el primer experimento, fueron estadísticamente diferentes con un nivel de confianza de 95 %.

Los valores de densidad poblacional de los cultivos en el primer experimento, durante la fase exponencial, agrupados de acuerdo a la condición experimental, presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla. IX).

El desarrollo poblacional de *C. didymus* durante el segundo experimento, en sus tres condiciones (Figs. 7, 8 y 9; Tablas. X, XI y XII), no presentó diferencias significativas (Tabla. IV). La fase de latencia duró cuatro días, la de crecimiento exponencial dos y a partir del sexto día la población presentó la fase de decaimiento. Los valores de la densidad poblacional durante la fase de crecimiento exponencial en las tres condiciones experimentales, no presentaron diferencias con los valores de densidad poblacional de la condición de baja

Tabla IX. Resultados del análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis para probar las diferencias entre la fase exponencial (E) de cada condición de cultivo experimental. La hipótesis nula es NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE CADA TRATAMIENTO. Nivel de significancia = 0.05.

FASES "E" DE LAS CONDICIONES	n	g.l.	H _{crit}	H _{cal}	Decisión
A-I, B-I, C-I	126	2	5.99	6.35	Si
A-I, A-II, B-II, C-II.	207	3	7.82	6.28	NO

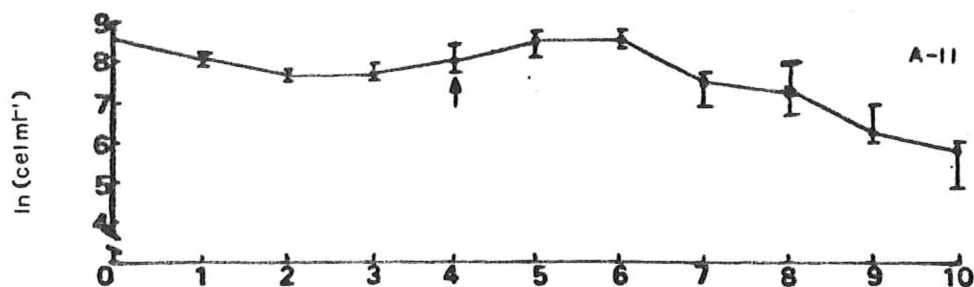


Figura 7. Desarrollo poblacional de *Chaetoceros didymus* bajo la condición de cultivo A-II (3.1×10^{-4} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.

Tabla X. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de *Chaetoceros didymus* en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo A-II (3.1×10^{-4} Quanta $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).

t Tiempo (días)	N Densidad (cel ml^{-1})	Ln(N)	D.E. Desviación estandar	Tasa de crecimiento	$\mu = 0.679 \text{ d}^{-1}$
00	5 345	8.580	0.043	Tiempo de duplicación	$G = 1.020 \text{ días}$
01	3 133	8.050	0.107		
02	2 101	7.650	0.142	Duplicación diaria	$D = 1.268 \text{ d}^{-1}$
03	2 208	7.700	0.258		
04	2 980	8.000	0.324		
05	4 212	8.546	0.360		
06	4 925	8.502	0.494		
07	1 900	7.550	0.855		
08	1 400	7.300	0.607		
09	505	6.225	0.536		
10	319	5.765	0.838		

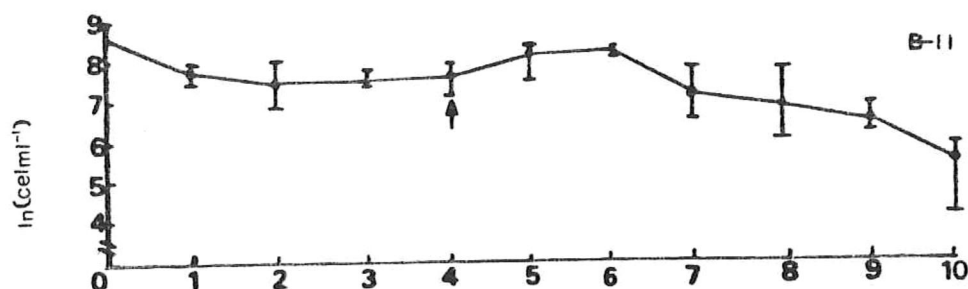


Figura 8. Desarrollo poblacional de *Chaetoceros didymus* bajo la condición de cultivo B-II (21×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.

Tabla XI. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de *Chaetoceros didymus* en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo B-II (21.1×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).

t Tiempo (días)	N Densidad (cel ml^{-1})	$\ln(N)$	D.E. Desviación estandar	Tasa de crecimiento	$\mu = 0.907 \text{ d}^{-1}$
00	5 345	8.580	0.043	Tiempo de duplicación	$G = 0.764 \text{ días}$
01	2 321	7.759	0.271		
02	1 754	7.470	0.558	Duplicación diaria	$D = 1.3 \text{ d}^{-1}$
03	1 900	7.550	0.129		
04	2 059	7.629	0.427		
05	3 655	8.204	0.600		
06	5 945	8.275	0.031		
07	1 226	7.112	0.607		
08	920	6.825	0.955		
09	652	6.480	0.389		
10	270	5.475	0.846		

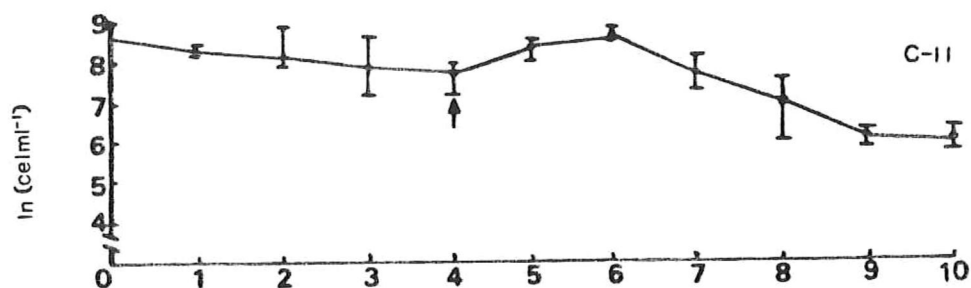


Figura 9. Desarrollo poblacional de *Cheatoeceros didymus* bajo la condición de cultivo C-II (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$). La flecha indica el día de la primera dilución y los intervalos trazados definen los valores extremos registrados.

Tabla XII. Valores de densidad poblacional transformados con logaritmo natural y parámetros poblacionales de *Cheatoeceros didymus* en sistema de cultivo semicontinuo bajo condiciones de cultivo C-II (210×10^{14} Quanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $30.12 \mu\text{g atm N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$).

t Tiempo (días)	N Densidad (cel/ml ⁻¹)	Ln(N)	D.E. Desviación estandar	Tasa de crecimiento	$\mu = 1.031 \text{ d}^{-1}$
00	5 345	8.588	0.234	Tiempo de duplicación	$\Delta = 0.563 \text{ días}$
01	3 327	8.250	0.043		
02	3 213	8.075	0.767		
03	2 465	7.810	0.829	Duplicación diaria	$D = 1.487 \text{ d}^{-1}$
04	2 186	7.690	0.417		
05	4 394	8.388	0.182		
06	5 486	8.610	0.197		
07	2 121	7.660	0.339		
08	1 038	6.945	0.076		
09	424	6.050	0.284		
10	397	5.985	0.567		

intensidad luminosa y alta concentración de nitratos del primer experimento (Tabla. IX).

3.2.1. PARAMETROS POBLACIONALES.

Los parámetros poblacionales que reflejaron un mejor desarrollo de *C. didymus* en los experimentos se registraron en las condiciones de cultivo donde la concentración de nitratos fue alta. En el primer experimento los valores más altos fueron de 0.973 d^{-1} para la tasa de crecimiento exponencial, el tiempo de duplicación fue de 0.712 d y la duplicación diaria de 1.403 d^{-1} (Tabla. VI), en la condición de baja intensidad luminosa y alta concentración de nitratos. Los parámetros poblacionales de la condición de alta intensidad luminosa y concentración de nitratos limitante fueron los más pequeños; 0.504 d^{-1} , 1.375 d y 0.720 d^{-1} para la tasa de crecimiento exponencial, el tiempo de duplicación y la duplicación diaria respectivamente (Tabla. VIII).

En el segundo experimento las tasas de crecimiento exponencial fueron mayores que en el primer experimento (Tablas. X, XI y XII) con valores extremos de 0.697 a 1.031 d^{-1} .

Los parámetros poblacionales en las condiciones de concentración de nitratos alta de ambos experimentos estuvieron muy cercanos a la tasa de crecimiento de 1.15 d^{-1} determinada para *C. didymus* en cultivo cerrado con medio "f/2" (Tabla. III).

3.2.2. TAMAÑO CELULAR.

Las longitudes del eje apical de *C. didymus* fueron en promedio de $38.12 \mu\text{m}$ en la condición de baja intensidad luminosa y alta concentración de nitratos; de $38.90 \mu\text{m}$ en la condición de intensidad luminosa y concentración de nitratos moderadas; $39.00 \mu\text{m}$ en la condición de alta intensidad luminosa y baja concentración de nitratos. El volumen celular fue de $490.2 \mu\text{m}^3$, $493.6 \mu\text{m}^3$ y $493.1 \mu\text{m}^3$ respectivamente (Tabla. XIII).

Se determinó que los valores de volumen celular de cada condición experimental, se distribuyeron normalmente alrededor de la media y fueron homocelásticos entre si (Tablas. XIV y XV).

El volumen celular no presentó diferencias

Tabla XIII. Valores promedio de la longitud apical, el volumen celular y carbono celular calculado a partir del volumen celular. Y concentración promedio máxima de clorofila y nitrógeno celular para *Chlorella didyma* cultivado en sistema semicontinuo durante el primer experimento.

PARAMETRO	CONDICION A-1	CONDICION B-1	CONDICION C-1
EJE APICAL (μ m)	38.12	38.9	39.0
VOLUMEN CELULAR (μ m ³)	490.259	493.600	493.143
C (pg C cel ⁻¹)	56.82	57.14	57.103
N (pg N cel ⁻¹)	13.361	11.535	6.216
CLOROFILA "a" (pg Cl a cel ⁻¹)	0.797	0.574	0.275
N/C	0.109	0.201	0.233
Cl a/C	0.014	0.01	0.004

Tabla XIV. Valores medios ($\bar{X}$) y desviación estándar (σ) del volumen celular y el carbono celular de *C. glutamicum* con la distribución observada de los 90 valores diarios en las condiciones de cultivo del primer experimento. El valor esperado de la distribución normal para $\bar{X} \pm \sigma = 68.26\%$; $\bar{X} \pm 2\sigma = 95.49\%$; $\bar{X} \pm 3\sigma = 99.74\%$. En la prueba de bondad de ajuste H_0 : No existen diferencias significativas entre las distribuciones. Nivel de significancia 0.001. Valor crítico $\chi^2 = 27.88$. Valor calculado $\chi^2 = (0.026, 1.039)$. Siempre se aceptó H_0 .

	DIA	VOLUMEN CELULAR $\bar{X}$ ($\times 10^6 \mu^3$)	σ	CARBONO CELULAR $\bar{X}$ ($\mu g \text{ cel}^{-1}$)	σ	VALOR OBSERVADO $\bar{X} \pm \sigma$ (x)	VALOR OBSERVADO $\bar{X} \pm 2\sigma$ (x)	VALOR OBSERVADO $\bar{X} \pm 3\sigma$ (x)
CONDICION A	1	4.95	0.980	57.0	9.65	67.262	95.714	99.106
	2	4.92	0.974	57.0	9.51	68.666	95.133	99.991
	3	4.91	0.972	57.0	9.51	66.161	94.850	99.702
	4	4.83	0.956	56.2	9.38	67.621	95.518	98.993
	5	4.82	0.954	56.1	9.37	67.750	94.985	99.740
	6	4.92	0.974	57.0	9.51	69.227	94.687	99.786
	7	4.93	0.976	57.0	9.51	68.969	95.125	99.566
	8	4.81	0.952	56.0	9.35	69.107	94.459	99.011
	9	4.93	0.976	57.0	9.51	68.072	95.794	99.317
	10	4.94	0.978	57.1	9.53	68.012	95.397	100.000
CONDICION B	1	4.82	1.012	56.11	11.09	67.513	96.741	100.000
	2	4.96	1.041	57.35	11.35	68.326	95.752	100.000
	3	4.97	1.043	57.44	11.37	67.656	94.900	99.998
	4	4.93	1.035	57.00	11.28	68.910	95.816	99.999
	5	4.97	1.045	57.44	11.37	68.247	94.982	100.000
	6	4.89	1.026	56.73	11.23	67.911	94.855	100.000
	7	4.92	1.033	57.00	11.28	68.452	95.202	99.897
	8	4.95	1.039	57.26	11.33	68.317	94.303	100.000
	9	4.87	1.022	56.56	11.19	67.633	95.690	100.000
	10	4.81	1.011	56.03	11.09	69.001	94.037	100.000
CONDICION C	1	4.92	0.979	57.00	10.20	69.183	95.866	100.000
	2	4.87	0.969	56.56	10.12	68.200	96.113	100.000
	3	4.90	0.975	56.62	10.17	67.706	95.343	99.931
	4	4.96	0.987	57.35	10.26	68.561	96.257	99.999
	5	4.85	0.965	56.38	10.09	67.635	95.908	99.720
	6	4.93	0.981	57.09	10.21	68.086	96.303	99.974
	7	4.96	0.987	57.35	10.26	68.458	95.801	99.741
	8	4.89	0.955	56.73	10.15	67.591	95.497	99.899
	9	4.99	0.993	57.61	10.31	68.171	96.262	99.912
	10	5.03	1.000	57.96	10.37	68.142	96.321	99.990

Tabla XV. Resultado de la prueba "F" para la determinación de homocelastidad de las muestras de volumen celular y carbono celular estimado a partir de éste. $H_0: \sigma^2/\sigma^2 = 1$. Nivel de significancia = 0.01; grados de libertad (82, 9). Valor crítico F= 1.76. Se acepta H_0 en todos los casos. Los cocientes de las varianzas de volumen celular son iguales a los del carbono celular.

		D I A								
DIA	σ^2	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	1	93.12								
	2	98.44	1.029							
	3	98.44	1.029	1.000						
	4	87.94	1.058	1.027	1.027					
	5	87.79	1.058	1.030	1.030	1.002				
	6	98.44	1.029	1.000	1.000	1.028	1.070			
	7	98.44	1.029	1.000	1.000	1.028	1.030	1.000		
	8	87.42	1.055	1.034	1.034	1.006	1.004	1.034	1.034	
	9	98.44	1.029	1.000	1.000	1.030	1.030	1.000	1.000	1.041
	10	98.82	1.025	1.005	1.005	1.005	1.035	1.005	1.005	1.062
B	1	143.28								
	2	128.82	1.110							
	3	129.27	1.108	1.003						
	4	127.23	1.126	1.012	1.015					
	5	129.27	1.108	1.003	1.001	1.016				
	6	126.11	1.136	1.021	1.024	1.008	1.025			
	7	127.23	1.126	1.012	1.015	1.008	1.016	1.009		
	8	128.36	1.116	1.003	1.006	1.009	1.007	1.018	1.009	
	9	125.21	1.144	1.028	1.032	1.016	1.032	1.007	1.016	1.025
	10	122.98	1.165	1.074	1.058	1.034	1.051	1.025	1.034	1.043
C	1	104.04								
	2	102.41	1.015							
	3	103.42	1.005	1.009						
	4	105.26	1.012	1.027	1.017					
	5	101.00	1.022	1.005	1.015	1.033				
	6	104.24	1.002	1.017	1.007	1.009	1.024			
	7	105.26	1.002	1.027	1.018	1.008	1.034	1.010		
	8	103.02	1.009	1.006	1.003	1.021	1.012	1.011	1.021	
	9	106.29	1.022	1.038	1.028	1.111	1.044	1.020	1.010	1.031
	10	107.53	1.033	1.049	1.039	1.021	1.056	1.021	1.044	1.044

Tabla XVI. Resultados del análisis de varianza paramétrico de una vía para detectar las diferencias del volumen celular y carbono celular calculado a partir de éste, a lo largo del tiempo de cultivo semicontinuo del primer experimento. Ho: No existen diferencias significativas. Nivel de significancia = 0.05

CONDICION	n	r	g.l.	F _{crit}	F _{cal}	DECISION
A-I	300	10	(9, 290)	1.89	1.01	NO
B-I	300	10	(9, 290)	1.89	1.10	NO
C-I	300	10	(9, 290)	1.89	0.93	NO

Tabla XVII. Resultados del análisis de varianza paramétrico de una vía para detectar las diferencias del volumen celular y carbono celular calculado a partir de éste, entre tratamientos en cultivo semicontinuo del primer experimento. Ho: No existen diferencias significativas. Nivel de significancia = 0.05.

	Variación	g.l.	Media de Cuadrados	F _{cal}	F _{crit}
Entre Niveles	5.256	2	2.628	253	3
Dentro Niveles	931.98	897	1.038		
Total	937.23	899			

NO se rechaza Ho

estadísticamente significativas, a lo largo del tiempo y en ninguna condición experimental, (Tablas. XVI y XVII). Cabe señalar que *C. didymus* estructuró cadenas hasta de 12 células y se presentaron células solitarias.

3.2.3. CARBONO CELULAR.

El carbono celular en *C. didymus*, calculado a partir del volumen celular no presentó diferencias significativas estadísticamente, entre días de cultivo y entre tratamientos (Tablas. XVI y XVII). El valor de carbono celular para *C. didymus* fue de aproximadamente 57 pg C cél^{-1} .

3.2.4. CLOROFILA "a" CELULAR.

El contenido de clorofila "a" por célula de *C. didymus*, fue mayor en las condiciones de intensidad luminosa baja-concentración de nitratos limitante y en la condición de intensidad luminosa-concentración de nitratos moderados. Los valores menores de clorofila por célula se registraron en la condición de alta intensidad luminosa y concentración de nitratos limitante (Fig. 10). Los valores máximos en las condiciones de intensidad

luminosa baja y moderada, sin limitación en la concentración de nitratos, se presentaron al octavo día de cultivo y fueron de 0.797 y 0.574 pg clorofila "a" cél^{-1} , respectivamente. En la condición de alta intensidad luminosa y concentración limitante de nitratos, el contenido de clorofila nunca fue mayor de 0.04 pg clorofila "a" cél^{-1} (Fig. 10; Tabla. XIII).

3.2.5. NITROGENO CELULAR.

El nitrógeno celular en *C. didymus* aumentó con el tiempo y cuando la concentración de nitratos fue mayor (Fig. 11). Los valores máximos de nitrógeno celular se registraron en las células del último día de cultivo (de 13.361, 11.535 y 6.216 pg N cél^{-1} , Tabla. XIII).

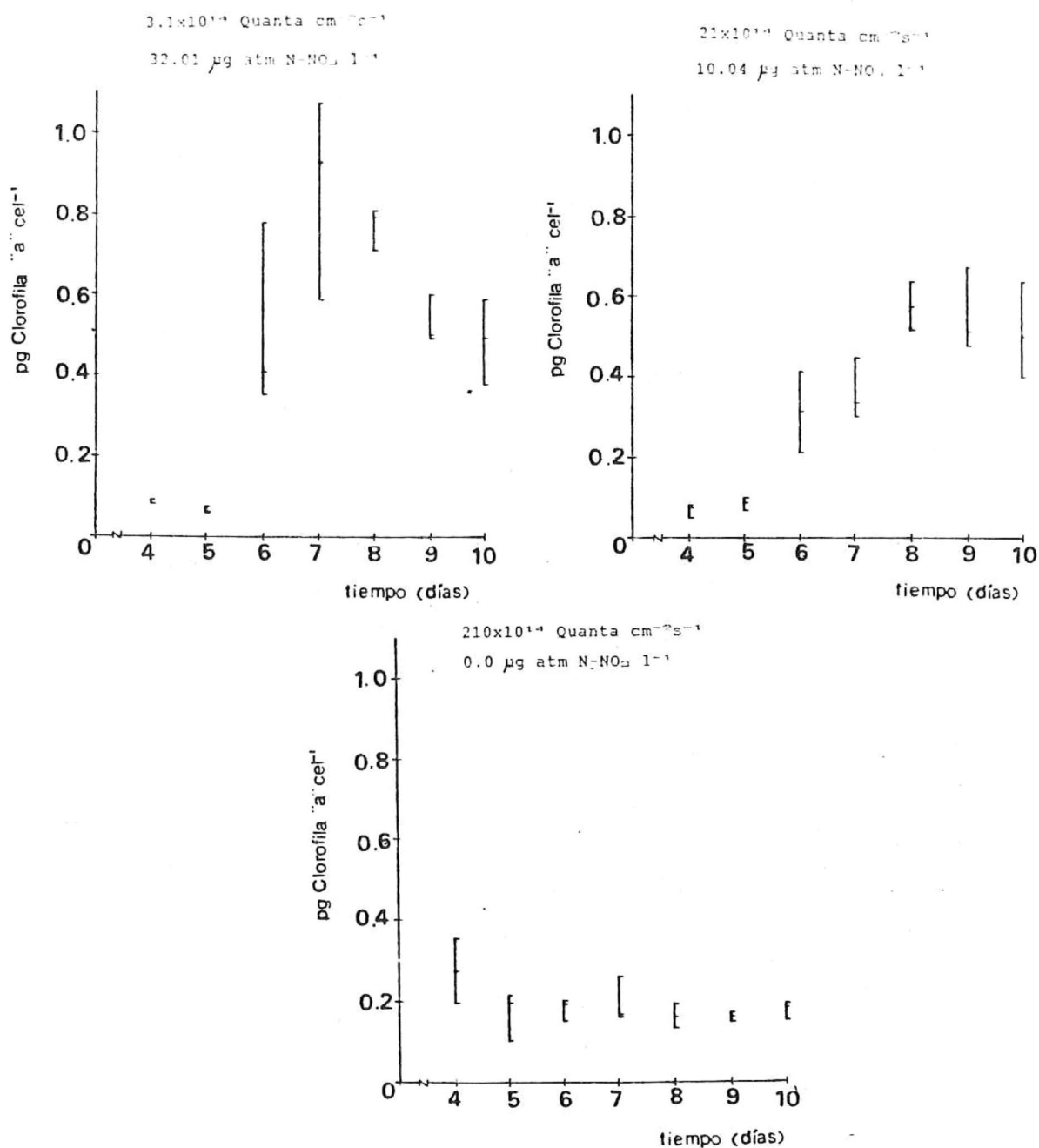


Figura 10. Variación de la clorofila "a" celular en *Chaetoceros didymus* en cultivo semicontinuo.

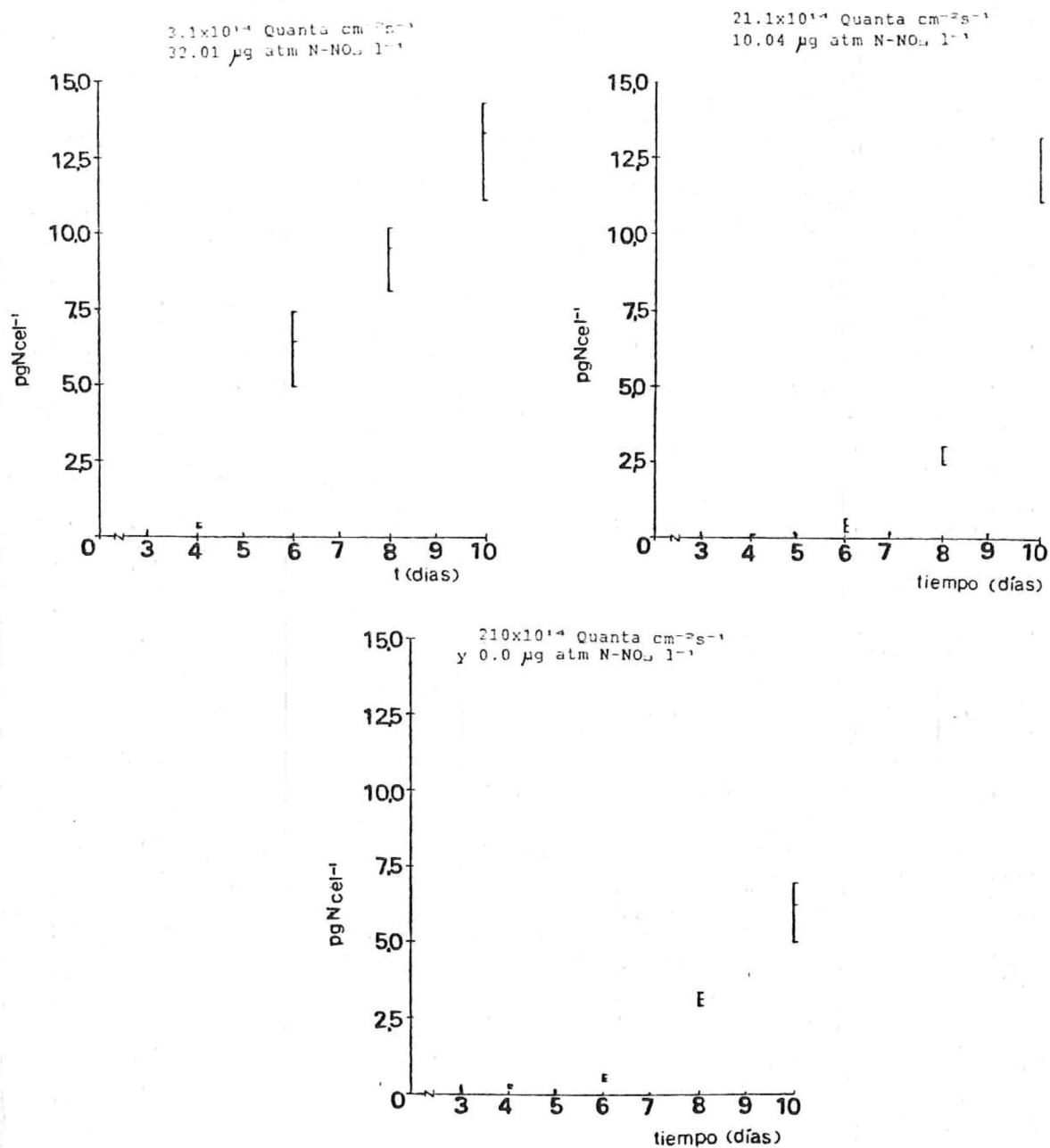


Figura 11. Variación del nitrógeno celular en *Chaetoceros didymus* en cultivo semicontinuo.

4. DISCUSIONES.

4.1. ASPECTOS POBLACIONALES.

El desarrollo poblacional de *C. didymus* en el medio "f/2" fue el esperado. El comportamiento del desarrollo poblacional (Fig. 3; Tabla. III) es típico de una población limitada por la capacidad de carga de un cultivo (Fogg, 1975). Esto se debe a que las concentraciones de nutrientes en el medio están en exceso (aproximadamente $6,000 \mu\text{g at N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$), lo mismo que la concentración de agentes quelantes y vitaminas para soportar grandes cantidades de microalgas por unidad de volumen (aproximadamente $250,000 \text{ cél. ml}^{-1}$). El valor de la duplicación diaria en el cultivo cerrado (Tabla. III), fue mayor por 15 centésimas que el valor reportado por Dortch *et al.* (1984) para *Chaetoceros gracilis*, que creció en medio de cultivo "f/50", con una concentración de aproximadamente $154 \mu\text{g at N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$. Esto indicó que los requerimientos de nitratos de *C. didymus* se satisfacen, con un amplio margen en el medio de cultivo "f/2".

Por lo que hace a los resultados del primer experimento, cuando se varió la intensidad luminosa y la

concentración de nitratos simulando las condiciones de la columna de agua (Fig. 1), la disminución de la población que se observó después del día de inoculación en los cultivos (Figs. 4, 5, 6; Tablas. X, XI y XII), pudo ser causada por las nuevas condiciones a las que se sometió. Por una parte, limitación de nitratos con máximos de intensidad luminosa y por la otra, limitación de intensidad luminosa con máximo de nitratos. Collos y Slawyk (1980) reportan un comportamiento similar cuando la concentración de nitratos es limitante, de igual manera, Beardall y Morris (1976) observaron también una disminución de la densidad poblacional cuando las poblaciones de microalgas se expusieron a bajas intensidades luminosas.

Una vez terminada la fase de latencia de *C. didymus*, se observó la respuesta a las condiciones de cultivo del primer experimento, la fase de crecimiento exponencial duró más y fue mayor en las condiciones donde no hubo una limitación total en la concentración de nitratos. Eppley et al. (1971), encontraron que en un cultivo con poblaciones naturales de fitoplancton, *Chaetoceros* sp. presentó una duplicación diaria de 1.45 d^{-1} , cuando en el medio la concentración de nitratos fue de $25 \mu\text{g at N-NO}_3$.

l^{-1} , el valor del parámetro poblacional es similar al que se obtuvo en la condición limitada por intensidad luminosa con una concentración de nitratos máxima, del primer experimento ($1.41 d^{-1}$), aunque la concentración de nitratos solo difiere en aproximadamente $5 \mu g \text{ at } N-NO_3$ l^{-1} , esto hace pensar que probablemente, la baja intensidad luminosa no limitó el crecimiento de *C. didymus* y si, la concentración de nitratos.

El aumento de la tasa de crecimiento poblacional, causado por el incremento de la concentración de nitratos en el medio, ya se ha detectado en *Skeletonema costatum* y *Chaetoceros debilis* (Dortch y Conway, 1984). Dortch et al. (1984), obtuvieron una tasa de duplicación diaria de $1.54 d^{-1}$ para *Chaetoceros gracilis*, cuando en el medio la concentración de nitratos fue de aproximadamente $46 \mu g \text{ at } N-NO_3$ l^{-1} , por lo que las estimaciones de los parámetros poblacionales de este trabajo tienen consistencia.

La siguiente fase de los cultivos en el primer experimento (Fig. 4, 5 y 6) fue de decaimiento y no hubo una estabilización, la evidencia es la existencia de diferencias significativas entre cada punto de la curva en esta fase (Tabla. IV). Es descartable que el decaimiento

de la población a partir del quinto o sexto días se debiera a una tasa de dilución mayor que la duplicación diaria, porque si éste fuera el caso, no se hubiera presentado la fase de crecimiento exponencial a partir del cuarto día. Además, se ha demostrado que las tasas de dilución óptimas en sistemas de producción de microalgas, son cercanas a la empleada en este trabajo (Aguirre-Muñoz, 1981; Badillo-Castro, 1989).

En el segundo experimento, donde mantuvo una concentración de nitratos alta para las diferentes intensidades luminosas, la tasa de crecimiento exponencial no presentó diferencias estadísticamente significativas con la condición de alta concentración de nutrientes y baja intensidad luminosa del primer experimento (Fig. 4; Tablas. VI, IX). Esto podría indicar que *C. didymus*, de la Bahía de Todos Santos, tiene la capacidad de adaptarse a distintas condiciones de luz, aunque no puede subsistir a una disminución en la concentración de nitratos del medio, como se demostró en el primer experimento. Gallanger et al., 1984 (en: Sakshaug y Andresen 1986), han encontrado distintas respuestas de los clones de una misma especie, y éstas dependen de las condiciones del lugar donde se

colectaron. Generalmente el patrón es: si una especie se aísla de una zona oligotrófica no estará limitada, en un experimento con bajas concentraciones de nutrientes y esa especie, cuando se colectó de un medio eutrófico, sí estará limitada cuando se exponga a concentraciones bajas de nutrientes. A partir de esta premisa, es válido pensar en que *C. didymus* colectado de la Bahía de Todos Santos, donde las condiciones de nutrientes no son limitantes por ser una zona costera de surgencias frecuentes (Cota, 1971; Chávez, 1975; Amador, 1975), estará adaptado a concentraciones altas de nutrientes y la respuesta ante una deficiencia de nutrientes, será como la registrada en la condición de alta intensidad luminosa y baja concentración de nitratos.

Por otra parte, Bahía de Todos Santos corresponde a un área de latitud templada y es muy somera, donde la variación de intensidad luminosa a lo largo del año es considerable (Martínez-García, 1988). *C. didymus* se colectó en primavera, cuando las aguas deben ser ricas en nutrientes por la acumulación durante el invierno y los días presentan una intensidad luminosa menor a la de verano pero mayor a la de invierno, además de ser más largos que en la estación anterior. En consecuencia, es probable

que, *C. didymus* tenga la capacidad de fotoadaptación. Esto es coherente con los resultados reportados por Gaxiola-Castro y Alvarez-Borrego (1984), quienes encontraron que cuando la columna de agua en la Bahía de Todos Santos está estratificada, las poblaciones fitoplanctónicas presentes están adaptadas a las distintas intensidades, luminosas que ocurren en ella.

4.2. ASPECTOS CITOLÓGICOS.

Otro factor que interviene en la tasa de crecimiento de una población es el tamaño celular. La longitud promedio del eje apical de las células de *C. didymus* fue de 38 μm (Tabla. XIII). Parsons y Takahashi (1973) demostraron que *Ditylum brightwellii* (30 μm de diámetro) puede alcanzar una tasa de crecimiento, hasta dos veces mayor que la que presenta un organismo fitoplanctónico de menor tamaño como *Emiliana* (*Coccolithus*) *huxleyi* (5 μm de diámetro) cuando hay una concentración alta de nutrientes aunque la intensidad luminosa sea limitante. Así, esto ratifica el aumento de la tasa de crecimiento exponencial de *C. didymus*, cuando se incrementó la concentración de nitratos.

El hecho de que no existiera diferencia significativa, entre las estimaciones de volumen celular (Tablas. XVI y XVII) pudo deberse a que la estimación se calculó en base a la frústula; probablemente, calculando el volumen citoplasmático se hubiera observado alguna variación. Debido al tamaño de las vacuolas, que además de ser considerable, no es fotosintéticamente activo (Raymont, 1980). En algunos organismos se ha detectado disminución del volumen celular, cuando fueron expuestos a condiciones limitantes de luz (Claustre y Gostan, 1987). *Skeletonema costatum* disminuyó su volumen en casi 50% cuando la intensidad luminosa fue muy baja ($2 \mu\text{Einsteins m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aproximadamente $1.2 \times 10^{-14} \text{Q cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, casi una tercera parte de la menor intensidad luminosa experimentada en este trabajo), y fue en igual proporción en *Dunaliella tertiolecta* (Falkowski, 1980).

Aparentemente, la adaptación de *C. didymus* a las condiciones del primer experimento (Tabla. I), no consistió en variar el volumen celular, estimado en base a la frústula.

Debido a la manera de calcular el carbono por célula, tampoco se detectaron diferencias significativas,

sin embargo, los valores obtenidos presentan cierta congruencia con el trabajo de Eppley y Renger (1974), quienes reportan que *Thalassiosira pseudonana* (*Cyclotella nana*) tiene un volumen celular de $120 \mu\text{m}^3$ aproximadamente 5 veces menor que el volumen celular de *C. didymus*. El contenido de carbono de *T. pseudonana* se determinó por métodos químicos y resultó tener 4 veces menos carbono que *C. didymus*. Esto nos hace pensar que los resultados de carbono celular no están muy alejados de lo que puede esperarse.

Otros investigadores han observado que el carbono celular no varía, por ejemplo, cuando *Phaeodactylum tricornutum* se cultivó en condiciones limitantes de nitrógeno (Terry *et al.*, 1985a). Estos autores obtuvieron valores bajos para la tasa de reproducción y lo atribuyeron a pequeñas diferencias en carbono (no mayores de 105 fm C, aproximadamente 0.12 pg C, similar a la observada en este trabajo), por la acumulación de productos almacenables en la fracción lipídica.

La clorofila "a" por célula. en *C. didymus*, se incrementó en el transcurso del tiempo, cuando en el medio había nitratos, con iluminación baja e intermedia (Fig.

10). Cuando la concentración de nitratos fue limitante y la intensidad luminosa alta, el contenido por célula disminuyó con el tiempo.

Las variaciones de la clorofila "a" celular con respecto a la condición de cultivo se pueden explicar por el proceso de fotoadaptación fitoplanctónica, que consiste en aumentar el contenido de pigmentos fotosintéticos, si disminuye la intensidad luminosa. Esta variación puede explicarse por la modelización de la síntesis de clorofila propuesta por Falkowski (1980), que consiste en la regulación de la cantidad de clorofila por la competencia de dos enzimas. Si la intensidad luminosa disminuye, la tasa de abastecimiento de ATP disminuirá y provoca que la deshidrogenasa-glutámica compita con la sintetasa-glutámica por glutamato. La vía del glutamato a alfa-quetoglutarato, se realiza en la síntesis de ácido 4,5-dioxovalérico y ácido delta-aminolevulínico, principal precursor de la clorofila. Al incorporarse el ácido delta-aminolevulínico a clorofila, la utilización de luz es más eficiente, dando oportunidad a que la síntesis de ATP de la fotofosforilación se incremente y así, se restablezca el nivel alto de actividad de la glutamina sintetasa. Esto demanda una gran cantidad de

nitrógeno. Sin embargo, Raps *et al.* (1983), encontraron que la concentración de clorofila en *Microcystis aeruginosa* aumentó cuando la intensidad luminosa disminuyó, pero no encontraron variación en el nitrógeno celular. Esto se debe probablemente a que el estudio fue con una cianobacteria.

Así entonces, el aumento de clorofila que presentó *C. didymus*, en las condiciones del primer experimento, donde hubo intensidad luminosa baja con alta concentración de nitratos e intensidad luminosa moderada con una concentración de nitratos moderada, es lógico y razonable. Resultados similares son reportados por Gelder *et al.* (1985) cuando *Phaeodactylum tricornutum* aumentó su contenido de clorofila, en condiciones limitantes de intensidad luminosa. Falkowski y Owens (1980), detectaron que *Skeletonema* sp. y *Dunaliella* sp. presentaron un aumento de clorofilas. *Skeletonema* incrementó el tamaño de las unidades P700, un pigmento del sistema I. Esta estrategia fue más efectiva que la utilizada por *Dunaliella*, aumentar el número de unidades P700. Esta es una base sólida para entender la naturaleza de la respuesta de *C. didymus*.

Cuando la población de *C. didymus* se mantuvo, en condición de alta intensidad luminosa pero concentración de nitratos nula, presentó un patrón distinto al de las condiciones donde no se limitó la concentración de nitratos, con respecto al contenido de clorofila "a" (Fig. 10). Tomando en cuenta que en la condición de mayor intensidad luminosa y concentración de nitratos nula, se puede decir que no hubo una fuente de nitrógeno necesaria para sintetizar la clorofila suficiente, por ésto no se observó un aumento en el contenido de clorofilas, evidencia de lo anterior es el trabajo de Dauta (1982), quien demostró que el contenido de clorofila "a" por célula disminuyó en condiciones de cultivo, con el aumento del tiempo cuando hubo carencia de nitrógeno en el medio. Además, *C. didymus* estuvo expuesto a altas intensidades luminosas ($348.83 \mu\text{Einsteins m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en la condición de concentración de nitratos limitante, ya que se pretendió imitar las condiciones de luz y nutrientes que generalmente se encuentran en la superficie. Por otra parte, se ha detectado que *Skeletonema costatum* y *Dunaliella tertiolecta* presentaron una disminución en el contenido de clorofila celular, cuando se expusieron a intensidades luminosas mayores de $20 \mu\text{Einsteins m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Falkowski, 1980). En este experimento, en la condición

anterior se mantuvo una iluminación 17.4 veces mayor a la citada. Por lo tanto, en la condición de alta intensidad luminosa y baja concentración de nitratos *C. didymus*, probablemente presentó fotoinhibición.

El patrón que siguió el nitrógeno orgánico por célula, en los cultivos de *C. didymus*, fue un aumento conforme transcurrió el tiempo. Por otra parte, cuando en el medio la concentración de nitratos fue mayor, el nitrógeno celular fue mayor (Fig. 11).

El tamaño celular no interfiere en el contenido de nitrógeno (Sakshaug y Andresen, 1986). La concentración interna de nitrógeno está relacionada con la tasa de crecimiento y con la concentración externa de nitrato. Terry *et al.* (1985a), encontraron que *Phaeodactylum tricornutum* aumentó su contenido de nitrógeno orgánico en cultivos limitados por nitrógeno, cuando aumenta su tasa de crecimiento, esto es evidente cuando se observa que la razón N/C aumenta con la tasa de crecimiento de manera directa, como sucedió con *C. didymus* (Tabla. XIII). Otros autores han reportado esta misma relación de aumento de la razón N/C con el incremento de la tasa de crecimiento (Eppley y Renger, 1974; Goldman, 1986; Terry *et al.*, 1985b).

Se ha encontrado que la variación de nitrógeno celular está relacionada con las diferentes condiciones de luz. Sakshaug y Andresen (1986), establecen que el tamaño de las reservas internas, es dependiente del estado fotoadaptativo de las células, cuando se tiene un amplio abastecimiento de nitrógeno en el medio. En *Skeletonema* sp. se demostró un aumento nitrógeno orgánico celular, cuando las condiciones de luz fueron bajas (DeManche et al., 1979; Dortch, 1982 y Dortch et al. 1984).

En base al modelo de fotoadaptación (Falkowski, 1980), se puede explicar la demanda de nitrógeno para la elaboración del ácido delta-aminolevulinico, principal precursor de la clorofila. Así, cuando la intensidad luminosa decrece, la concentración de nitrógeno celular aumenta. Para que el fitoplancton pueda abastecerse del nitrógeno necesario, debe existir una concentración suficiente de nitrógeno en el medio y así poder sobrevivir a la limitación por luz, como sucedió en la condición de menor intensidad luminosa con una gran concentración de nitrógeno. Esto explica la respuesta de *C. didymus* en cuanto a la variación de nitrógeno celular. Generalmente cuando en el medio hay una condición de nitrógeno que no es limitante para el fitoplancton, las

reservas celulares de nitrógeno serán mayores, esto se ha demostrado en *Thalassiosira nordenskiöldii*, *T. pseudonana* y *T. fluviatilis* (Dortch et al., 1984).

Así entonces, cuando el fitoplancton se encuentra en condiciones de riqueza de nitratos, se reproducirá más rápidamente y aumentará sus reservas de nitrógeno. Entonces, podrá utilizar la reserva si las condiciones del medio se vuelven limitantes.

El utilizar la razón N/C, es un indicador poderoso de las condiciones que existen en el medio, con la que podemos expresar con certeza, el estado fisiológico de las células. Si N/C aumenta, entonces las células se encuentran en un medio rico y por lo tanto son saludables, y viceversa. En este experimento se evidenciaron los dos casos citados anteriormente (Tabla. XIII). *C. didymus* presentó un mejor estado fisiológico en las condiciones de riqueza de nitratos. Cuando se trabajó con el inverso de N/C para valores superiores a 13, se evidenció una deficiencia de nitrógeno en el medio de cultivo (Sakshaug y Holm-Hansen, 1977).

La razón clorofila "a"/C, fue recomendada por

Steele y Braird (1961), porque la disminución de esta razón implica una producción primaria baja. En este experimento *C. didymus*, presentó la razón clorofila "a"/C menor, en la condición de menor concentración de nitratos con intensidad luminosa alta (Tabla. XIII). Así mismo, el valor más alto para la razón clorofila "a"/C, coincidió con los valores máximos de la razón N/C y de la tasa de crecimiento poblacional que corresponden a la condición de baja intensidad luminosa y alta concentración de nitratos (Tablas. VI y XIII). Entonces, *C. didymus* se adaptó a las bajas intensidades de luz por cambios en el contenido de clorofilas, probablemente por la competencia enzimática y la síntesis de clorofila se vio favorecida por la concentración de nitratos.

4.3. IMPLICACIONES ECOLOGICAS.

Las condiciones de cultivo del experimento 1 (Tabla. I), son similares a las que se encuentran en la columna de agua: una intensidad luminosa máxima en la superficie donde la concentración de nitratos es mínima; otra zona más profunda donde hay un gradiente máximo de la concentración de nitratos con concentración de aproximadamente 10 veces la de superficie, conocida como

la nitraclina, donde la intensidad luminosa es aproximadamente el 10% de la de superficie y una zona donde la concentración de nitrógeno es máxima en la capa más profunda de la zona eufótica. Así entonces, una especie que se aisló del nivel superficial de la columna de agua se expuso a las tres condiciones de la columna de agua: sobre la nitraclina, en la nitraclina y debajo de la nitraclina. El poder de adaptación que presentó *C. didymus* de la Bahía de Todos Santos puede fundamentar la respuesta sobre el origen del máximo superficial de clorofilas que existe en la columna de agua. Eppley et al. (1979), asocian la ocurrencia del máximo subsuperficial de clorofilas en la cuenca del sur de California a la nitraclina y Venrick et al. (1973), lo atribuyen a que en esa profundidad, hay un mayor número de células fitoplanctónicas acentuado por un incremento en la concentración de clorofila por célula. La presencia del máximo subsuperficial de clorofilas, se presenta sólo cuando hay un gradiente en los nutrientes en la columna de agua (Banse, 1974). Reid et al. (1978), reportan que frente al sur de California no existe el máximo subsuperficial de clorofilas, en periodos de surgencia intensa. Entonces se puede decir, en base a los resultados de este trabajo, que tanto el número de

células como el contenido de clorofila de éstas y la adaptación a las bajas intensidades luminosas, favorecida por el abastecimiento de nitratos de la nitraclina, pueden ser principales causantes del máximo subsuperficial de clorofilas. Aunque también pueden afectar otros factores, como la reducción de la tasa de hundimiento del fitoplancton por el incremento en la concentración de nutrientes (Steele y Yentsch, 1960), el pastoreo diferencial por herbívoros en la capa superficial (Lorensen, 1967) y tropismos cuando el fitoplancton tiene la capacidad de migrar, pero éste no es el caso de las diatomeas.

La relevancia ecológica, de la fotoadaptación fitoplanctónica, resuelve en parte, la primera paradoja del plancton (¿por qué si el fitoplancton tiende a hundirse a capas inferiores donde las condiciones de luz no son las óptimas para fotosintetizar, es tan productivo?), porque además de las adaptaciones morfológicas que presenta para la vida pelágica (Smayda, 1970), tiene la capacidad de fotadaptarse, es decir, si el fitoplancton tiene la capacidad de disminuir la velocidad de hundimiento, también puede aumentar la cantidad de clorofila interna cuando llega a niveles

donde la intensidad luminosa es menor, pero hay una buena fuente de nutrientes, como ocurre en la columna de agua.

Con respecto a la productividad orgánica primaria, la relevancia de las adaptaciones a diferentes intensidades luminosas del fitoplancton en el océano, fue descrita por Falkowski (1980), donde propone que, la importancia de la fotoadaptación depende de la interrelación de la tasa de mezcla y el tiempo de adaptación. Es decir, la interacción entre la tasa de mezcla vertical y el tiempo de adaptación, va a estar influenciada por la distribución de la luz y de las células que puedan fotoadaptarse. Cuando las células están distribuidas al azar (condiciones de mezcla) en la zona eufótica, la fotoadaptación no influirá significativamente en la producción integrada en la columna. Si se supone una columna de agua bien estratificada, cuando las células no están distribuidas al azar, la respuesta fotoadaptativa será determinante. Las células que tienden a acumularse en la región de mayor estabilidad vertical, la pycnoclina, a menudo tienen una capacidad fotosintética mayor que las células que se encuentran en capas superiores. La producción integrada en la columna de agua, se incrementará en cada

caso. Esto sugiere que el mayor efecto de la adaptación en la columna de agua ocurre cuando la tasa de mezcla es pequeña y la distribución de células no es al azar.

En este experimento se comprobó que la tasa de reproducción de *C. didymus*, de la Bahía de Todos Santos, varía con el aumento de nitratos aunque esté expuesto a bajas intensidades luminosas, entonces la ocurrencia de parches después de los fenómenos de surgencia pueden explicarse por la adaptación del fitoplancton a condiciones de turbidez alta pero con una cantidad de nutrientes que no es limitante, siempre y cuando las condiciones de la masa de agua en la vertical sean de gran estabilidad.

En este trabajo se determinó que *C. didymus*, se reprodujo más rápidamente (tasa de duplicación mayor), cuando hubo una mayor cantidad de nutrientes y que presenta fotoadaptación aumentando su contenido de clorofilas. Estas características son importantes cuando se habla de los procesos que regulan la distribución en parches del fitoplancton. Stavn (1971) enlista varios factores que regulan la presencia de parches, entre los que destacan las condiciones de nutrientes, luz y la tasa

de reproducción de las poblaciones.

En la nutrición de especies de interés comercial filtradoras existen dos necesidades, la de acelerar su crecimiento y aumentar su peso en un tiempo corto. La calidad de las microalgas que sirven de alimento es la forma de cubrir estas necesidades. La calidad se refleja en el contenido de carbono y nitrógeno de las células. Es decir, que para especies del tipo de *C. didymus*, de la Bahía de Todos Santos, la calidad del alimento depende de la concentración de nutrientes del medio, aunque las condiciones de luz no sean las óptimas, como ocurren en los cultivos masivos.

Uno de los gastos más grandes que se realizan en infraestructura para el cultivo de microalgas a nivel masivo, es dar condiciones óptimas de luz. Si se trabajara con fitoplancton de la Bahía de Todos Santos, que se comportara como *C. didymus*, los cultivos se podrían exponer a la luz solar y sólo mantener la solución de nutrientes adecuada.

5. CONCLUSIONES.

1.- *C. didymus* de la Bahía de Todos Santos es una buena especie para realizar bioensayos por la repetitividad en su respuesta a variaciones en medios de cultivo.

2.- *C. didymus* se fotoadaptó a las condiciones de iluminación en las que se mantuvo, consistiendo en el aumento de la tasa de crecimiento, la concentración de clorofila "a" y nitrógeno por célula, cuando en el medio la concentración de nitratos fue alta.

3.- La concentración de nitratos en el medio, limitó la tasa de crecimiento poblacional de *C. didymus*.

5. LITERATURA CITADA.

- Aguirre-Muñoz, A. (1981). *Estudios con un Cultivo Semicontinuo de Tetraselmis suecica* KYLIN (1935): *Nutrientes, Vitaminas, Desinfección del Medio con U.V. y Producción del Sistema a Largo Plazo*. Tesis de Licenciatura. U.A.B.C. Escuela Superior de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C. México. 64 p.
- Amador, A. (1975). *Características de las Aguas de Surgencia Adyacentes a la Bahía de Todos Santos*. Tesis de Licenciatura. U.A.B.C. Escuela Superior de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C. México. 50 p.
- Auclair, J. C., S. Deeners, M. Frechette, L. Legendre and C. L. Trump. (1982). High frequency endogenous periodicities of chlorophyll synthesis in estuarine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 27:348-352.
- Badillo-Castro, S. A. (1989). *Determinación de la Dilución Óptima del Cultivo Semicontinuo de la Microalga Monochrysis lutheri en Tanques de 400 litros*. Tesis de Licenciatura. U.A.B.C. Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C. México. 54 p.
- Banse, K. (1987). Clouds, deep chlorophyll maxima and the nutrient supply to the mixed layer of stratified water bodies. *Journal of Plankton Research.* 9:1031-1036.
- Beardal, J. y I. Morris (1976). The concept of light intensity adaptation in marine phytoplankton: some experiments with *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Biology.* 37:377-387.
- Chan, A. T. (1978). Comparative physiological study of marine diatoms and dinoflagellates in relation to irradiance and cell size. I. Growth under continuous light. *J. Phycol.* 14:396-402.

- Chávez, M. C. (1975). *Algunas Condiciones de Surgencia durante la Primavera de 1974 para el Area Adyacente a Punta Banda, Baja California*. Tesis de Licenciatura. U. A. B. C. Escuela Superior de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C. México. 73 p.
- Claustre, H. y J. Gostan. (1987). Adaptation of biochemical composition and cell size to irradiance in two microalgae: possible ecological implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 40:167-174.
- Collos, Y. y G. Slawyk, G. (1980). Nitrogen uptake and assimilation by marine phytoplankton. En: *Primary Productivity in the Sea*. P. G. Falkowski (ed.) Plenum Press. p. 195-211.
- Cota, V. A. (1971). *Estudio Oceanográfico de la Surgencia Localizada en la Zona de Punta Banda, B. C.* Tesis de Licenciatura. U. A. B. C. Escuela Superior de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C. México. 62 p.
- Cupp, E. E. (1943). Marine plankton diatoms of the west coast of North America. *Scripps Inst. Bull.* 5:1-237.
- Dauta, A. (1982). Conditions de developpement du phytoplancton. Etude comparative du component de huit especes en culture. II Role des nutriments: assimilation et stockage intracellulaire. *Annls. Limnol.* 18:263-292.
- De Manche, J. M., H. C. Jr. Curl, D. W. Lundy and P. L. Donaghay (1979). The rapid response of the marine diatom *Skeletonema costatum* to changes in external and internal nutrient concentration. *Mar. Biol.* 53:323-333.
- Descolas-Gros, C. (1978). *Role de Certaines Especies de Diatomees dans la Estructura des Comunautés Phytoplantoniques*. Thésés de doctorat de 3eme. Cycle. Université de Paris VI. 85p.

- Dortch, Q. (1982). Effect of growth conditions on accumulation of internal nitrate, amonium, aminoacids, and protein in three marine diatoms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 61:243-264.
- and H. L. Conway. (1984). Interactions between nitrate and amonium uptake: variation with growth rate, nitrogen source and species. *Mar. Biol.* 79:151-164.
- , J. R. Clayton Jr., S. S. Thorensen and S. I. Ahmed. (1984). Species differences in accumulation of nitrogen pools in phytoplankton. *Mar. Biol.* 81:237-250.
- Durbin, E. G. (1974). Studies on the autoecology of the marine diatom *Thalassiosira nordenskioldii* Cleve. 1. The influence of daylength, light intensity, and temperature on growth. *J. Phycol.* 10:220-225.
- Eppley, R. W., A. F. Carlucci, O. Holm-Hansen, D. Kiefer, J. J. McCarthy, E. Venrick and P. M. Williams. (1971). Phytoplankton growth and composition in shipboard cultures supplied with nitrate, amonium, or urea as the nitrogen source. *Limnol. Oceanogr.* 16:741-751.
- and E. H. Renger. (1974). Nitrogen assimilation of an oceanic diatom in nitrogen-limited continuous culture. *J. Phycol.* 10:15-23.
- , E. H. Renger and W. G. Harrison. (1979). Nitrate and phytoplankton production in Southern California coastal Waters. *Limnol. Oceanogr.* 24:483-494.
- Falkowski, P.G. (1980). Light-shade adaptation in marine phytoplankton. In: *Primary Productivity in the Sea*. P. G. Falkowski (ed.) Plenum Press. New York. 99-119 p.
- , P. G. and T. G. Owens. (1980). Light-Shade adaptation. Two strategies in marine phytoplankton ecology. *Plant. Physiol.* 66:592-595.

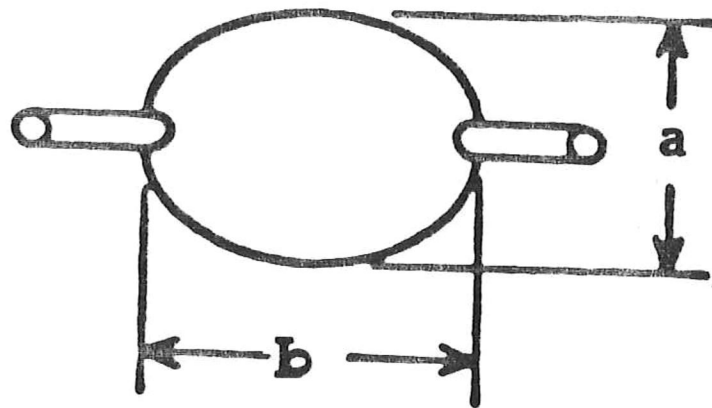
- Fogg, G. E. (1975). *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. 2a. Ed. The University of Wisconsin Press. E.E.U.U. 175 p.
- Gaxiola-Castro, G. y S. Alvarez-Borrego. (1984). Relación fotosíntesis-irradiación en el fitoplancton de aguas costeras del noroeste de Baja California. *Ciencias Marinas* 10:53-66.
- Gelder, R. J., B. A. Osborne y J. A. Raven. (1985). Light dependence of growth and photosynthesis in *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 21:609-619.
- Goldman, J. C. (1986). On phytoplankton growth rates and particulate C:N:P ratios at low light. *Limnol. Oceanogr.* 31:1358-1363.
- Guillard, R. R. L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of Marine Invertebrates Animals*. (M. L. Smith and M. H. Chawley, eds.) Plenum Press. N.Y. 338 p.
- Healey, F. P. (1985). Interacting effects of light and nutrient limitation on the growth rate of *Synechococcus linearis* (cyanophyceae). *J. Phycol.* 21:134-146.
- Heaney, S. I. and R. W. Eppley. (1981). Light, temperature and nitrogen as interacting factors affecting diel vertical migrations of dinoflagellates in culture. *Journal of Plankton Research*. 3: 331-344.
- Kovala, P. E. and J. D. Larrance. (1966). *Computation of phytoplankton cell numbers, cell volume, cell surface, and plasma volume per liter from microscopical counts*. Spec. rep. No. 38. Dep. of Ocean. Univ. of Wa., Seattle Wa.
- Kreyszig, E. (1985). *Introducción a la Estadística Matemática*. LIMUSA, S.A. 8a, reimp. México, D.F. 505 p.
- Lorensen, C. J. (1967). A note on the chlorophyll and phaeopigments: Baja California. *Deep-Sea Res.* 14: 735-745.

- Martínez-García, G. M. (1988). *Aspectos Hidrológicos para el Diseño de un Emisor Submarino en la Bahía de Todos Santos, B. C.* Tesis de Licenciatura. U. A. B. C. Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C. México. 50 p.
- Mullin, M. M., P. R. Sloan and R. W. Eppley. (1966). Relationship between carbon content, cell volume, and area in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 11: 307-3011.
- Parsons, T. R. and Takahashi, M. (1973). Environmental control of phytoplankton cell size. *Limnol. Oceanogr.* 18: 511-515.
- Parsons, T. R., M. Takahashi and B. Hargrave (1984). *Biological Oceanographic Processes*. 3a. Ed. Pergamon Press. Oxford, Gran Bretaña 330 p.
- Post, A. F., Z. Dubiniski, K. Wyman and G. Falkowski (1984). "Kinetics of light-intensity adaptation in a marine planktonic diatom." *Mar. Biol* 83:231-238.
- Raps, S., Wyman, K., Siegelman, H. W., Falkowski, P. G. (1983). Adaptation of the Cyanobacterium *Mycrocystis aeruginosa* to light intensity. *Plant. Physiol.* 72: 829-832.
- Raymont, J. E. G. (1980). *Plankton and Productivity in the Oceans. Vol. I Phytoplankton*. Pergamon Press. 489 p.
- Reid, F.M.H., E. Stewart. R. W. Eppley and D. Goodman. (1978). Spatial distribution of the phytoplankton species in chlorophyll maximum layers off Southern California. *Limnol. Oceanogr.* 23:219-226.
- Rhee, G. Y. and I. G. Gotham (1981). The effect of environmental factors on phytoplankton growth: Light and the interactions of light with nitrate limitations." *Limnol. Oceanogr.* 26: 649-659.

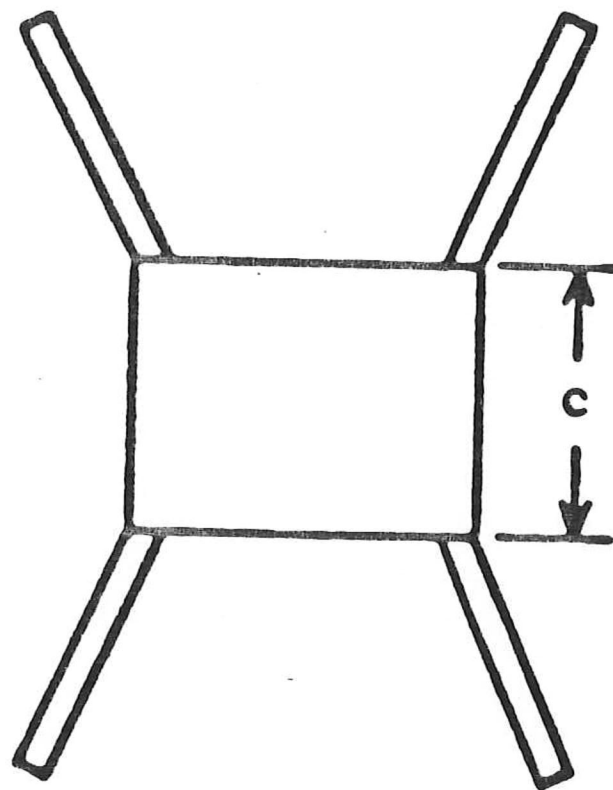
- Sakshaug, E. and O. Holm-Hansen. (1977). "Chemical composition of *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve and Pavlova (*Monochrysis*) *lutheri* (Droop) Green as a function of Nitrate-, Phosphate-, and Iron-limited growth." *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 29: 1-34.
- , E. and K. Andresen, (1986). "Effect of light regime upon growth rate and chemical composition of a clone of *Skeletonema costatum* from the Trondheimsfjord, Norway." *Journal of Plankton Research*. 8: 619-637.
- Sharp, J. H. (1983). The distribution of inorganic nitrogen and dissolved and particulate organic nitrogen in the sea. p. 1-35. In: *Nitrogen in the Marine Environment*. E.J. Carpenter and D. G. Capone (eds.) Academic Press. London. 35p.
- Siegel, S. (1986). *Estadística no Paramétrica Aplicada a las Ciencias de la Conducta*. Décima reimpresión. TRILLAS. México. 344 pp.
- Smayda, T. (1970). The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 8:353-414.
- Stavn, R. H. (1971). The horizontal-vertical distribution hypothesis: Lagmuir circulation and *Daphnia* distributions. *Limnol. Oceanogr.* 16:453-466.
- Steele, J. H. and C. S. Yentsch. (1960). The vertical distribution of chlorophyll. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 39:217-226.
- and I. E. Baird. (1961). Relations between primary production, chlorophyll and particulate carbon. *Limnol. Oceanogr.* 6:68-78.
- Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. (1972). A practical handbook of seawater analysis. Bulletin 167 2a. Edición. Fisheries Research Board of Canada. 310 pp.

- Syrett, P. J. (1981). Nitrogen metabolism of microalgae. In: Platt, T. (ed.) 1981. *Physiological Bases of Phytoplankton Ecology*. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210. pp. 182-210.
- Terry, K. L., J. Hirata, and E. A. Laws. (1985a). Light-, Nitrogen-, and phosphorus-limited growth of *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin strain Tex-1: Chemical composition, carbon partitioning and the diel periodicity of physiological processes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 86:85-100.
- Terry, K. L., E. A. Laws, and D. J. Burns. (1985b). Growth rate variation in the N:P requirement ratio of phytoplankton. *J. Phycol.* 21:323-329.
- Venrick, E. L., J. A. McGowan and A. W. Mantyla. (1973). Deep maxima of photosynthetic chlorophyll in the Pacific Ocean. *Fish. Bull.* 71:653-666.
- Williams, P. M. (1986). Chemistry of the dissolved and particulate phases in the water column. In: Eppley, R. W. (ed.) *Plankton Dynamics of the Southern California Bight*. 53-83 p.
- Yamaji, I. (1979). *Illustrations of the Marine Plankton of Japan*. Sed. ED. Horkusha Pub. CD. Ltd. Japan. 531 p.

1 ▸



2 ▸



APENDICE I

Esquema geometrico de una célula de *Chaetoceros didymus*.
 1.- Vista valvar. 2.- Vista cingular. a.- eje apical. b.-
 eje transapical. c.- eje perivalvar. (tomada de Kovalá y
 Larrance 1966).