

CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *TETRASELMIS SUECICA* (CHLOROPHYCEA) EN AMBIENTE CONTROLADO*

MIGUEL PADILLA G.**

ABSTRACT. The growth of *T. suecica* was analysed, under controlled environment conditions. The algae was maintained in a limited volume without the effects of predation and in absence of other competing algal populations.

The model used to describe its growth pattern was the Lotka Volterra single species growth equation.

The relatively simple method used to cultivate this organism, will be useful in the maintenance of micro-herbivores under laboratory conditions.

INTRODUCCION

De acuerdo con la clasificación de Frisch (1945) y Papenfuss (1955) y con las descripciones efectuadas por Butcher (1959), *Tetraselmis suecica* (lám. 1), es un alga de la clase Chlorophyceae que se caracteriza por ser unicelular y móvil. Fue aislada por Parke (1949) y originalmente descrita como *Platymonas suecica* por Kyling (1935). Es de color verde, de 7 a 9 micrones de diámetro, con una membrana celular delgada aunque conspicua y con cuatro flagelos isodinámicos. Los cuerpos celulares discernibles son un estigma de color rojizo, un cromatóforo verde y un cuerpo pirinoidal que generalmente se sitúa en una posición basal. La reproducción vegetativa ocurre por fisión longitudinal de las células que adoptan el estado inmóvil; en estos estados palmeloides las células nuevas pueden observarse completamente flageladas antes de quedar libres.

La ultraestructura de los flagelos examinados bajo el microscopio electrónico por Butcher (1959), demostró no ser acronemática (de flagelos lisos) sino pancronemática (con hileras de fibrillas). Los mastigonemas recubren el largo total del flagelo salvo en su parte terminal. Los flagelos nacen de una hendidura apical que se observa en la parte anterior de la célula y que está ubicada en la misma dirección en que el organismo avanza. La forma de la célula es elipsoidal y lateralmente compresada, condición que según Butcher (1959) la distingue del género *Carteria*.

T. suecica es una alga eurihalina que posee la capacidad de formar esporas y cuyos límites de tolerancia a las variables físicas son amplios. En los receptáculos empleados para su cultivo en el laboratorio alcanza densidades superiores a las 200.000 células por ml. Su tamaño la encuadra en la fracción fitoplanctónica denominada nanoplankton y su principal importancia está en que posee las dimensiones que le permite ser consumida por las fases larvales de los bivalvos filtradorés. Constituye además un alimento adecuado para los microherbívoros adultos tanto suspensivos como sedimentívoros (Veneridae, Mytilidae, Pectinidae, etc.).

La importancia de los integrantes del nanoplankton como *T. suecica* fue comprendida mejor después de las experiencias de Cole (1936), quien demostró que las larvas

*Esta investigación fue financiada en parte por la Oficina Técnica de Desarrollo Científico y Creación Artística de la Universidad de Chile.

**Departamento de Oceanología, Universidad de Chile, Valparaíso. Casilla 13-D. Viña del Mar.

de *Ostrea edulis* no pueden ingerir partículas mayores a los 10 micrones, de lo cual se desprende que los estados larvales de algunos moluscos bivalvos dependen de este tipo de organismos para su alimentación y desarrollo. Una vez que esto fue apreciado en su total dimensión, varios investigadores simularon las proliferaciones fitoplanctónicas explosivas de primavera (Spring blooms) y crearon en el laboratorio las condiciones que favorecen el crecimiento del nanoplancton. Así se pudieron cultivar los organismos que a fines de primavera y a principios de verano constituyen densas colonias en las fértiles y temperadas pozas que se forman en las depresiones de las rocas litorales. De este nanoplancton litoral, formado fundamentalmente por Chlorophyceas, es de donde se han aislado la mayoría de las cepas que en la actualidad se emplean para la alimentación de los estados larvales de los moluscos.

El objetivo del presente trabajo, es dar a conocer las condiciones que han permitido el cultivo de *T. suecica* en un ambiente controlado y al mismo tiempo exponer un modelo matemático determinista y simple, que nos permita analizar algunos de sus parámetros poblacionales.

MÉTODOS

1. MÉTODOS DE CULTIVO

La cepa de *T. suecica* con que se efectuó la presente investigación, proviene del Culture Centre of Algae and Protozoa, Cambridge, England, y llegó a nuestro poder por la gentileza del Dr. Ll. D. Gruyffydd del Marine Science Laboratory, de Menai Bridge, Universidad de Gales U. K., y del Dr. J. C. Castilla del Departamento de Biología Ambiental y de Poblaciones de la Universidad Católica de Chile.

El cultivo se efectuó en un frasco de vidrio con capacidad para 10 litros. La parte superior del receptáculo se cerró con un tapón de goma con tres perforaciones que permitían el paso de tubos y mangueras: la primera para la entrada de aire, la segunda para que éste pueda salir y la tercera para la extracción de la muestra, o la incorporación de los nutrientes. El agua de mar se filtró en un filtro Millipore de 0.45 micrones y el medio de cultivo que se empleó fue el de Erd-Schreiber (1927), cuya fórmula damos a continuación:

$NaNO_3$	0.10 g
Na_2HPO_4	0.02 g
Extracto de tierra	50 ml
Agua de mar filtrada	1.000 ml

Las condiciones en que se mantuvo el cultivo durante el experimento fueron de 26°C, 1.500 lux de intensidad de luz artificial permanente, 32‰ de salinidad y un pH 9. El medio de cultivo fue inoculado con 5 ml de *T. suecica*, obtenidos de otro cultivo que se encontraba iniciando su fase declinatoria. Tanto los elementos de vidrio como las mangueras de plástico fueron esterilizadas en autoclave con 15 lb de presión y 121°C durante 30 minutos. El extracto de tierra fue preparado, colocando un kilo de tierra cernida en un litro de agua destilada, permitiéndose en seguida una decantación lenta. El sobrenadante, líquido amarillento que constituye el extracto, también fue esterilizado bajo las mismas condiciones expuestas anteriormente.

Para determinar la concentración de partículas, se usó un contador Coulter mo-

delo Zb, que se calibró con una suspensión de polen de 12 a 14 micrones. La dimensión del orificio de abertura empleado fue de 70 micrones y las lecturas se obtuvieron con un umbral mayor de 19 y un umbral menor de 10.

Las cuentas corresponden al promedio de 10 lecturas efectuadas en el contador, las que se rectificaron de acuerdo con las unidades empleadas, el factor de dilución del electrólito y la corrección de coincidencia del instrumento.

El electrólito empleado para este análisis fue de 2% NaCl.

2. MÉTODOS DE ANÁLISIS

a) Corrección de coincidencia del instrumento contador

Se efectuó la representación gráfica de los números de varias diluciones seriadas de una muestra de cultivo, comprobándose que sus valores no formaban una línea recta (la resultante fue ligeramente curva). Esto es indicativo de la presencia de coincidencia, fenómeno que se produce cuando el contador accidentalmente cuenta dos partículas como una. Con el propósito de rectificar esta situación se efectuó una corrección de coincidencia sumando el porcentaje de coincidencia obtenido del gráfico que proporciona el manual del contador al número obtenido en la cuenta (Tabla 1).

b) Cálculo del factor de dilución del electrólito

El factor de dilución del electrólito se calculó de acuerdo con la fórmula empleada por Maloney *et al.* (1962):

$$DF = \frac{1}{ml \text{ contador}} \times ml \text{ de electrólito empleado} \times \frac{1}{ml \text{ de muestra}}$$

$$DF = \frac{1}{0.5} \times 100 \times \frac{1}{100}$$

$$DF = \left(\frac{100}{0.5}\right) \left(\frac{1}{100}\right) = \left(\frac{200}{1}\right) \left(\frac{1}{100}\right) = \frac{200}{100}$$

$$DF = 2$$

c) Modelo matemático

El modelo matemático que se empleó para caracterizar el crecimiento de la población de *T. suecica*, corresponde a una modificación de la ecuación de Lotka y Volterra (1925-26),

$$\log_e \frac{K - N}{K} = a - rt$$

ecuación que vendría a satisfacer las condiciones impuestas por una línea recta $y = a + bx$ cuyas coordenadas son:

$$y = \log_e \frac{K - N}{K} \text{ y } x = t$$

donde a define la posición de la recta con respecto al origen y donde r define la inclinación que adoptara esta misma recta.

d) *Análisis del modelo matemático*

El razonamiento que llevó a Latka y Volterra a desarrollar su ecuación de crecimiento presupone 3 condiciones que no siempre se cumplen, estas condiciones son: 1) que todos los términos son lineales, 2) que todas las respuestas son instantáneas, 3) que todos los organismos son iguales.

A pesar de esto, hay que reconocer que la mayor parte de la teoría ecológica contemporánea parte de esta importante ecuación, lo que nos está demostrando que para encarar la difícil situación de ajustar un modelo matemático a una situación biológica, hay que procurar que el modelo sea lo suficientemente realista en el sentido biológico para aproximarse al máximo a la realidad.

El crecimiento poblacional que deseamos cuantificar en el presente trabajo, también parte de la fórmula de Lotka y Volterra donde la solución a la ecuación diferencial

$$\frac{dN}{dt} = rN, \text{ es } N_2 = N_1 e^{rt}$$

y donde:

N_2 = Número de individuos al tiempo 2

N_1 = Número de individuos al tiempo 1

e = Base del Log natural

t = Tiempo en días

r = Constante de crecimiento instantáneo.

Sin embargo, es preciso reconocer que esta fórmula se refiere a un tipo especial de crecimiento, cual es el de un aumento poblacional sin límites, y ninguna población de laboratorio crece en forma exponencial constantemente.

Por lo tanto, la fórmula que mejor describe el crecimiento poblacional de *T. suecica* es la ecuación:

$$\frac{dN}{dt} = rN \frac{(K - N)}{K} \quad (1)$$

cuya solución es

$$N = \frac{K}{1 - e^{a - rt}} \quad (2)$$

donde $\frac{K - N}{K}$ es un término que se ha agregado con la finalidad de corregir matemáticamente el crecimiento sigmoideal.

La fórmula anterior también puede ser expresada como

$$\log_e \frac{K - N}{K} = a - rt \quad (3)$$

modelo que hemos elegido en el presente trabajo.

El aumento poblacional de *T. suecica* sin la corrección matemática que acabamos de efectuar, sigue el característico esquema de crecimiento sigmoideal que Fogg (1965) atribuye a los cultivos de algas sometidos a condiciones de laboratorio (Fig. 1).

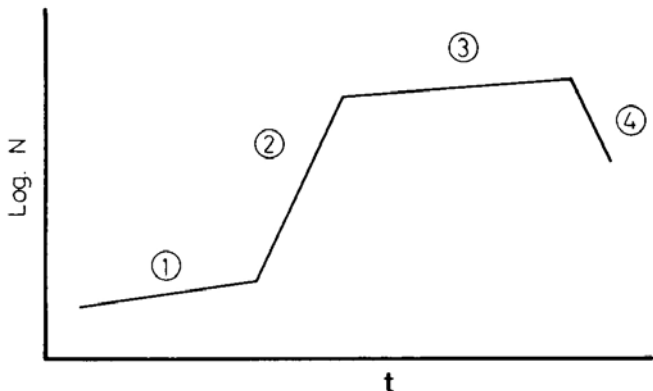


Fig. 1. Fases de crecimiento de algas cultivadas en condiciones de laboratorio. 1, fase retardatoria inicial. 2, fase exponencial. 3, fase estacionaria. 4, fase declinatoria.

El gráfico de la Fig. 1, también puede ser expresado en forma diagramática (Fig. 2), en el cual se aprecia que K es una constante que expresa la densidad de saturación de la población, que cuando N es menor que K la tasa de crecimiento es máxima y $\frac{K-N}{K} \sim 1$; en la misma forma cuando $N = K$ entonces $\frac{K-N}{K} = 0$ y por lo tanto $\frac{dN}{dt} = 0$, ó sea, que cuando una población está en, o cerca de la densidad de saturación, la población no crece.

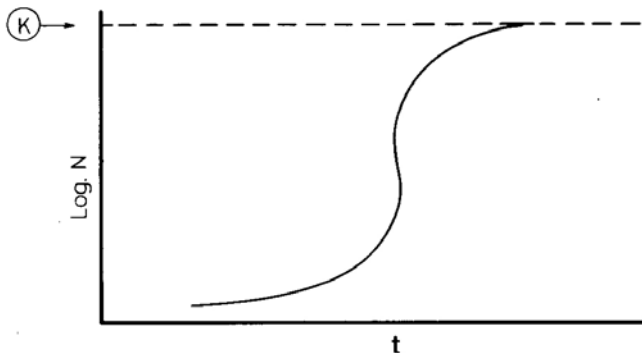


Fig. 2. Diagrama de crecimiento sigmoideal. t, tiempo; K, constante de densidad de saturación de la población.

RESULTADOS

Los resultados expresados en la figura 3, nos demuestran que *T. suecica* cultivada bajo las condiciones señaladas en el método, inicia su fase exponencial al cuarto día y la termina una vez transcurrido el séptimo día. Las densidades máximas alcanzadas fueron del orden de las 250.000 células por ml. Una vez obtenidas, estas concentraciones se mantuvieron durante siete días más sin necesidad de renovar los nutrientes. Con el fin de caracterizar o describir en forma cuantitativa el crecimiento poblacional de *T. suecica*, se efectuó una regresión lineal de los datos corregidos en base a un modelo derivado de la fórmula de Lotka y Volterra.

Los resultados experimentales fueron expresados en términos de este modelo en la forma de la ecuación (3) (tabla 3). Los parámetros a y r fueron calculados por mínimos cuadrados obteniéndose la relación:

$$\log_e \frac{K - N}{K} = -0.04594 - 0.09014 t$$

Esto origina entonces una constante de crecimiento instantáneo r igual a 0.0901 vale decir, un 9.00%.

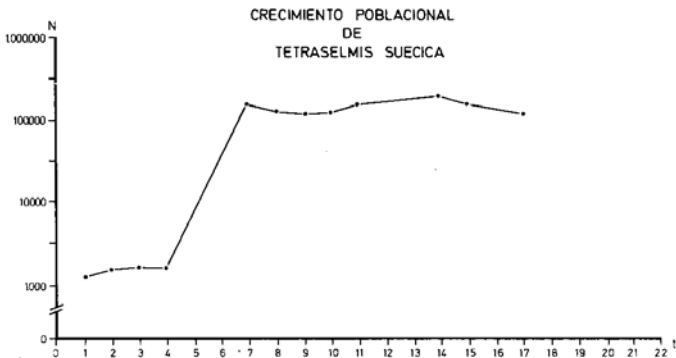


Fig. 3. Crecimiento poblacional de *Tetraselmis suecica*. N, número de células \times ml; t, tiempo en días.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En este trabajo hemos analizado el crecimiento poblacional de *T. suecica* en el laboratorio, bajo condiciones de ambiente controlado, en un volumen relativamente reducido, en ausencia de la competencia de otras poblaciones de algas y sin los efectos de la predación.

Las experiencias realizadas nos permiten afirmar que *T. suecica* es una alga susceptible a ser cultivada con facilidad, de la que pueden obtenerse cantidades significativas en un tiempo relativamente corto.

El desarrollo de un método sencillo, como fue el utilizado para cultivar *T. suecica*, nos da la oportunidad de disponer de un stock suficiente de esta especie, para efectuar una amplia gama de trabajos experimentales en el laboratorio, entre los cuales es importante señalar la alimentación de organismos en cultivos artificiales.

AGRADECIMIENTOS.

Deseo expresar mis agradecimientos al profesor Héctor Etcheverry por sus valiosas indicaciones.

LITERATURA CITADA

- BUTCHER, R. W. 1959. An Introductory account of the smaller algae of British coastal waters. *Fish. Invest. Lond.* (4): 1-54.
- COLE, A. A. 1936. Experiments in the breeding of oysters in tanks with special reference to the food of the larvae and spat. *Fish. Invest., Lond.* (2), 15 (14): 1-50.
- FOGG, G.T. 1965. Algal cultures and phytoplankton ecology, 126 pp. The Athlone Press of the Univ. of London.
- FRISTCH, F. E. 1945. The structure and reproduction of the Algae. Vol. I, Cambridge Univ. Press.
- KYLING, H. 1935. Über Rhodomonas, Platimonas und Prasinocladus Kingl. *K. Fysiogr. Sällsk. Lund Förh.*, 5 (22): 1-13.
- LOTKA, A. J. 1925. Elements of Physical Biology, 460 pp. Williams & Wilkins, Baltimore.
- MALONEY, T. E. 1962. Determination of numbers and sizes of algal cells with an electronic particle counter. *Phycologia*, 2 (1): 1-8.
- PAPENFUSS, C. F. 1965. Classification of the Algae. A century of Progress in the Natural Sciences. California Acad. of Science.
- PARKE, M. W. 1949. Studies on marine flagellates 1. *J. Mar. biol. Ass. UK.*, 34: 579.
- SCHREIBER, E. 1927. Die Reinkultur von marinen Phytoplankton und deren Redenting für die Erforschung der Produktions fähigkeit des Meers wassers. *Wis Meeressuntershuch. Abt. Helgoland n. f.*, 16 (10): 1-34.
- VOLTERRA, V. 1926. Variazioni e fluttuazioni del numero d'individui in especie animali conviventi. *Memo-rie Accademia Scienze*, Roma, 2: 31-113.

TABLA 1. Corrección de los datos obtenidos del Contador

Fecha	N del Coulter	% corrección de coincidencia	N corregido para coincidencia	N corregido para unidades empleadas (ml)	N corregido para dilución empleada = N
6 mayo 75	440.3	0.10	440.74	881.48	1762.96
7 mayo 75	564.0	0.12	564.68	1129.35	2258.71
8 mayo 75	669.7	0.15	670.70	1341.41	2682.82
9 mayo 75	606.5	0.13	607.29	1214.58	2429.16
12 mayo 75	57 872.7	5.00	60 766.34	121 532.68	243 065.36
13 mayo 75	40 426.7	3.80	41 962.91	83 925.83	167 851.66
14 mayo 75	35 942.5	3.20	37 092.66	74 185.32	148 370.64
15 mayo 75	38 137.3	3.40	39 433.97	78 867.94	157 735.88
16 mayo 75	57 973.0	5.10	60 929.62	121 859.24	243 718.48
19 mayo 75	63 738.4	5.60	67 307.75	134 615.50	269 234.00
20 mayo 75	53 203.6	4.70	55 704.17	111 408.34	222 816.68
22 mayo 75	47 181.0	4.20	49 162.60	98 325.20	196 650.40
23 mayo 75	45 663.9	4.00	47 490.46	94 980.92	189 961.84

TABLA 2. Tabulación de los datos para obtener $\log_e \frac{K-N}{K}$

K = 300.000

Fecha	N	K - N	$\frac{K-N}{K}$	$\log_e \frac{K-N}{K}$
6 mayo 75	1 762.96	298 237.04	0.994	- 0.00602
7 mayo 75	2 258.71	297 741.29	0.992	- 0.00803
8 mayo 75	2 682.82	297 317.18	0.991	0.00904
9 mayo 75	2 429.16	297 570.84	0.992	- 0.00803
12 mayo 75	243 065.36	56 934.64	0.190	- 1.66073
13 mayo 75	167 851.66	132 148.34	0.440	- 0.82098
14 mayo 75	148 370.64	151 629.36	0.505	- 0.68320
15 mayo 75	157 735.88	142 264.12	0.474	- 0.74655
16 mayo 75	243 718.48	56 281.52	0.188	- 1.67131
19 mayo 75	269 231.00	30 769.00	0.102	- 2.28278
20 mayo 75	222 816.68	77 183.32	0.257	- 1.35868
22 mayo 75	196 650.40	103 349.60	0.344	- 1.06711
23 mayo 75	189 961.84	110 038.16	0.367	- 1.00239

TABLA 3. Tabulación de los datos para un análisis de regresión

<i>N</i> ^o Obs.	<i>t</i> en días	$\log_e \frac{K-N}{K}$		
<i>n</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>x</i> ²	<i>xy</i>
1	1	- 0.00602	1	- 0.00602
2	2	- 0.00803	4	- 0.01606
3	3	- 0.00904	9	- 0.02712
4	4	- 0.00803	16	- 0.03212
—	—	—	—	—
5	7	- 1.66073	49	- 11.62511
6	8	- 0.82098	64	- 6.56784
7	9	- 0.68320	81	- 6.14880
8	10	- 0.74655	100	- 7.46550
9	11	- 1.67131	121	- 18.38441
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
10	14	- 2.28278	196	- 31.95892
11	15	- 1.35868	225	- 20.38020
—	—	—	—	—
12	17	- 1.06711	289	- 18.14089
13	18	- 1.00239	324	- 18.04302
$\Sigma = 13$	119	- 11.32485	1479	- 138.79599

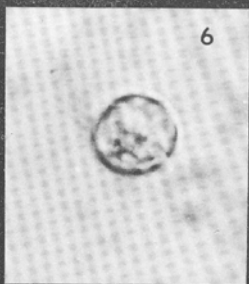
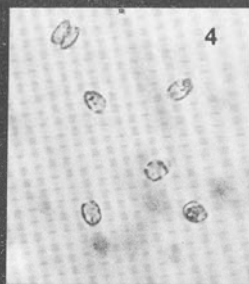
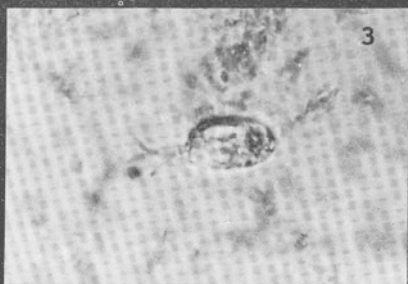
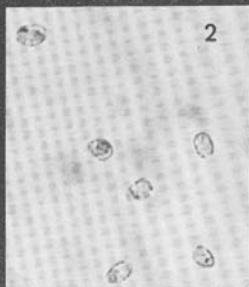
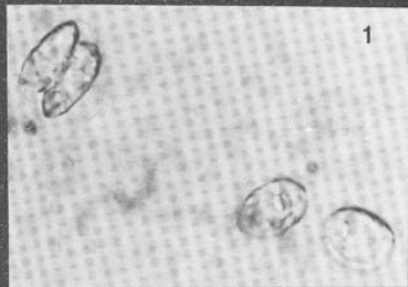


Lámina 1. *Tetraselmis suecica*: 1, estados palmeloide y coccoide; 2, estados coccoides; 3, célula con flagelos; 4, estados palmeloide y coccoide; 5, membrana celular del estado palmeloide; 6, estado de espora.