

Efecto de la salinidad y calidad del silicato sobre el crecimiento de la diatomea *Chaetoceros calcitrans*

Silvia Cristina Carrera¹

Resumen

Con objetivo de evaluar el efecto de la salinidad y calidad del silicato, sobre el crecimiento de la microalga *Chaetoceros calcitrans* se llevó a cabo un experimento factorial en condiciones de laboratorio en donde se evaluaron dos concentraciones de salinidad (30 y 35 ppm) y dos fechas de preparación del silicato. Ni la salinidad ni la calidad del silicato mostraron un efecto sobre el crecimiento algal de la diatomea *C. calcitrans* cultivada en laboratorio.

Palabras Claves: crecimiento, densidad celular, *Chaetoceros calcitrans*, salinidad, silicato.

Abstract

In order to evaluate the effect of salinity and silicate quality, on the growth of the microalgae *Chaetoceros calcitrans* a factorial experiment was carried out in laboratory conditions where two salinity concentrations (30 and 35 ppm) and two dates were evaluated. of silicate preparation. Neither the salinity nor the silicate quality showed an effect on the algal growth of the *C. calcitrans* diatom in the laboratory.

Keywords: growth, cell density, *Chaetoceros calcitrans*, salinity, silicate.

¹ Bióloga, Magister en Acuicultura y Ecología Acuática Tropical, Líder Sennova Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila, e-mail: sccarrera@sena.edu.co

Introducción

Las microalgas actualmente son usadas en acuicultura como alimento vivo para todos los estadios de crecimiento de los moluscos, para los estadios larvales de crustáceos, para algunas especies de peces y en la producción de zooplankton (Muller-Feuga, 2004; Babaro *et al.*, 2001). Dentro de los grupos de microalgas utilizadas en acuicultura, se distinguen las diatomeas como un grupo de vital importancia, ya que han demostrado ser un buen alimento en especial por su alto y balanceado contenido de ácidos grasos, carbohidratos y proteínas (Brown *et al.*, 1997; Bourne *et al.*, 1989). Sin embargo, su cultivo masivo se dificulta en algunas ocasiones, a pesar de que se conoce la mayoría de los aspectos relacionados con su producción en laboratorio (Regan, 1988).

Por su uso obligado en muchos laboratorios de producción de larvas para acuicultura, el cultivo de *Chaetoceros* y de otras microalgas representa un esquema cotidiano, formulado y mecánico en el cual se conjugan aspectos relacionados con un excelente manejo que se ve reflejado en la calidad bioquímica de la microalga, y que al final se traduce en un valor nutricional ideal (Bustillos-Hurtado & López-Elías, 1994). El conocimiento de este esquema implica en ciertos casos determinar las variables o parámetros ideales en los cuales podemos obtener mayores crecimientos

algales sin que se pierda esa calidad nutricional. El efecto independiente y combinado de estos factores varía de acuerdo a la especie de microalga y sus rangos de tolerancia (Lobban *et al.*, 1985), así mismo, de las condiciones específicas de las zonas donde son cultivadas (Brown *et al.*, 1997). La salinidad por ejemplo es un factor abiótico importante, porque afecta el crecimiento y densidad celular de las microalgas en cultivo, su variación provoca que la célula libere iones, sintetice compuestos orgánicos, disminuya la fijación de CO₂ y afecte el metabolismo del nitrógeno y en algunos casos del mismo silicato (Kirst, 1989).

Las diatomeas adicionalmente requieren sílice, compuesto que es utilizado en la estructuración de la pared celular (frústulo). Durante la mitosis, el proceso de depositación de las nuevas valvas silíceas y la separación de las células hijas, está acoplado al metabolismo de la sílice y del ciclo celular (Claquin & Martín-Jézéquel, 2002).

C. calcitrans es una diatomea céntrica con un solo cloroplasto, su tamaño varía entre 3 y 7 µm, tienen 4 setas que surgen de las esquinas de las valvas delgadas y rectas en un ángulo aproximado de 45° con respecto al eje pervalvar (Shifrin & Chisholm, 1981). A pesar de su amplia utilización como alimento son escasos los trabajos realizados que intenten comprender las relaciones entre los factores ambientales y su crecimiento, y

más difícil entender las razones por las cuales en cierta época del año resulta difícil su producción. Por ello, el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de la salinidad y calidad del silicato sobre la densidad celular de la microalga *C. calcitrans* cultivada en laboratorio.

Materiales y métodos

En este estudio se trabajó con una cepa de la microalga *C. calcitrans*, obtenida del stock de microalgas del Laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena y cultivada en medio F/2 (Guillard, 1975) a una temperatura de 21°C, intensidad lumínica de 950 lux, aireación constante y salinidad de 30. El experimento se desarrolló siguiendo un diseño experimental factorial 2 x 2 en el cual se examinó el efecto de dos salinidades (30 y 35 ppm), y 2 fechas diferentes de preparación del silicato sobre el incremento en densidad de *C. calcitrans*. En total se manejaron 4 tratamientos y cuatro réplicas por cada uno. Las réplicas consistieron en frascos de vidrio de 100 ml provistos con 50 ml de medio F/2. Este medio fue preparado con agua de mar captada de la bahía de Taganga (11° 16' N, 74° 11' O), Caribe colombiano, microfiltrada (1 µm), esterilizada con UV y posteriormente con calor (120 °C/15 min). Cada frasco fue sembrado con un mismo inóculo del mismo tratamiento, utilizando un volumen de 10 ml. Los

frascos fueron rotulados y colocados en el cepario del Laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena, sin suministro de aireación y provistos de iluminación constante mediante lámparas fluorescentes de 75 W, cuya intensidad lumínica era de 950-1050 lux, respectivamente). Cada frasco era agitado varias veces al día, y cuando era necesario se iba reponiendo el volumen perdido por evaporación o toma de muestras, con agua destilada y esterilizada. Una de las réplicas fue seleccionada en cada tratamiento con el fin de medir diariamente el pH, la temperatura y salinidad. La densidad celular (D) se determinó cada 24 horas a partir de una muestra de 1 ml extraída previa homogenización del cultivo. La muestra fue contada y examinada con la ayuda de una cámara Neubauer bajo un microscopio. El cálculo de la densidad celular (D) se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$D \text{ (cel/mL)} = FD \times C \times 10.000$$

Donde: FD = Factor de dilución y C = Número de células promedio contadas en cada cuadrante de 1 mm.

$$FD = (vm + vf + va) / vm$$

Donde: vm = Volumen de la muestra (ml), vf = Volumen del fijador (ml), va = Volumen del agua de mar filtrada (ml).

Finalmente, se calculó la tasa de división celular (K) para cada tratamiento de acuerdo con la ecuación descrita por Fogg (1965):

$$K = \frac{\log_2 N - \log_2 N_0}{t}$$

Donde K es la tasa de crecimiento celular, $\log$ es el logaritmo en base 2, N la densidad celular final, N_0 la densidad celular inicial y t el tiempo de cultivo en días.

Con el fin de evaluar el efecto de la salinidad y calidad del silicato, se realizó un ANOVA factorial, comprobando los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Los análisis estadísticos se efectuaron mediante el programa estadístico STATGRAPHICS, con un nivel de significancia del 95 %.

Resultados

Los cultivos de *C. Calcitrans* que tenían una densidad inicial promedio de 300 cel/mL alcanzaron valores hasta de 4.900.000 cel/mL en 7 días de cultivo (Figura 1). En los tratamientos de salinidad de 35 ppm, hay evidencia de un mayor crecimiento con respecto a la salinidad de 30 ppm, sin embargo esta diferencia no fue significativa (Tabla 1). La tasa de división celular K presentó valores positivos en todos los tratamientos aplicados (Tabla 2). Los análisis estadísticos demostraron que la densidad

celular de la microalga no se vio afectada ni por la salinidad ni por la calidad del silicato (Tabla 1). El pH de los cultivos osciló entre 7,79 y 8,24 (Figura 2). Los valores tendieron a aumentar con la edad de los cultivos en los dos tratamientos.

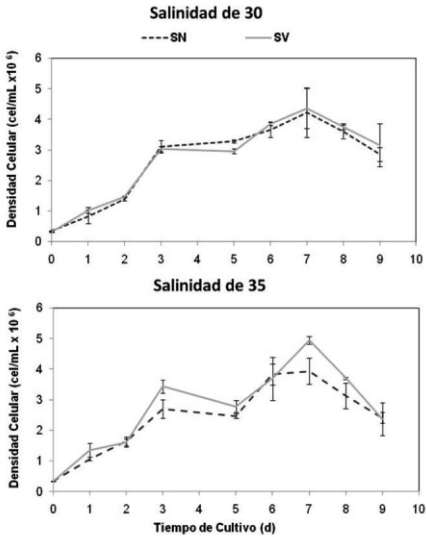


Figura 1. Curvas de crecimiento algal de *C. Calcitrans* cultivada bajo diferentes condiciones de salinidad (33 y 35) y calidad del silicato (SN = Silicato nuevo y SV= Silicato viejo).

Tabla 1. Análisis de varianza factorial para la determinación del efecto de la salinidad y calidad del silicato sobre la densidad celular de *C. Calcitrans*.

Factor	GL	F	P
Salinidad	1	0,21	0,645
Calidad del silicato	1	1,07	0,303
Salinidad x calidad del silicato	1	0,4	0,529

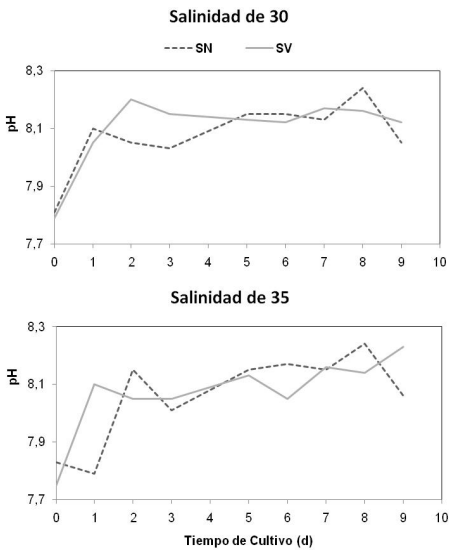


Figura 2. Comportamiento del pH en los cultivos de *C. Calcitrans* bajo diferentes condiciones de salinidad (30 y 35), y calidad del silicato (SN = Silicato nuevo y SV= Silicato viejo).

Tabla 2. Tasa de crecimiento relativo (K) para *C. Calcitrans* en los tratamientos aplicados (SN= silicato nuevo, SV= silicato viejo).

Salinidad	Calidad del silicato	K(div/día)
30	SN	0,11
	SV	0,12
35	SN	0,11
	SV	0,11

Discusión

La respuesta en la densidad celular con respecto a la variación en la salinidad del medio de cultivo

es diferente dependiendo de la especie de microalga cultivada. En el presente estudio la disminución de la concentración celular a salinidades bajas concuerda con el trabajo realizado por Rosales *et al.*, (2005) quienes encontraron que la mayor densidad celular de *Synechococcus* fue a 35 ppm de salinidad. Esta disminución del crecimiento en la salinidad de 30 ppm puede darse posiblemente a que la microalga está adaptada a crecer a salinidades cercanas a las del agua de mar debido a que su origen es marino, por lo que la disminución de la salinidad ocasiona que exista un aumento en el volumen celular por acumulación de agua en su interior y desvío de sus actividades metabólicas (Mansour & Salama, 2004). Sin embargo esta diferencias no fueron significativas para este especie al igual que para especies como *I. galbana* (Velasco *et al.*, 2009).

Por su parte, Arroyo-Pacheco & Martínez-Baldenebro (1994) reportaron que *Chaetoceros muelleri* cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio disminuye su densidad celular a salinidades altas (36 y 40 ppm). López-Elías *et al.*, (2004) encontraron que *Isochrysis* sp. Muestra una mayor densidad celular a concentraciones bajas de sal, sin embargo, Castro-Araujo *et al.*, (2005), observaron que las salinidades de 25 y 35 ppm no tuvieron un efecto significativo ($P > 0.05$) sobre el crecimiento y

la densidad celular máxima de *Chaetoceros cf. wighamii*.

Los cambios de salinidad afectan a los organismos en tres vías diferentes: a) Estrés osmótico con impacto directo sobre el potencial del agua celular; b) Estrés iónico causado por la entrada o pérdida de iones y c) Cambio en la tasa iónica celular debido a la permeabilidad iónica selectiva de la membrana (Mansour & Salama 2004). En cuanto al silicato, estos resultados muestran que no existe ninguna relación entre el tiempo de preparación del silicato con respecto al crecimiento de esta especie, probablemente los problemas se pueden presentar es en la manipulación concentración de silicato en el medio de cultivo a utilizar.

En el trabajo desarrollado por Sánchez *et al.*, (2003), se confirmó que el crecimiento de la diatomea *Actinocyclus normanii* estaba en función de la concentración del silicato, fosfato y salinidad, siendo el silicato el que ejerció el efecto más estimulante, seguido por el fosfato y por último la salinidad.

El tratamiento en el cual se produjo la mayor densidad fue aquel en el que la concentración de silicato era de 300 $\mu\text{mol/L}$. El medio de cultivo utilizado en este experimento es el medio F/2 de Guillard, el cual utiliza una concentración de 1100 $\mu\text{mol/L}$ de silicato, lo cual puede explicar las razones por las cuales no se

mostraron diferencias significativas. Los resultados sugieren que para el cultivo de este tipo de diatomeas se pueden utilizar rangos de salinidad entre 30-35 ppm, y que no hay un efecto significativo en el tiempo de preparación del silicato como tal, sino en la manipulación y concentración de este macronutriente en el medio de cultivo.

Agradecimientos

El autor agradece a Walter Barbosa por su ayuda en la toma de datos y a Judith Margarita Barros, en el manejo estadístico de la información. Este trabajo fue realizado dentro del curso de cultivo de microalgas de la Maestría de Acuicultura y Ecología Acuática Tropical de la Universidad del Magdalena.

Referencias Bibliográficas

- Arroyo-Pacheco, L.E. & F. Martínez-Baldenebro. 1994. Producción de biomasa y composición química de dos especies de microalgas marinas a diferentes salinidades. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Hermosillo, México. 78 pp.
- Babaro, F.M.J., J.M. Fernández & U. Laborta. 2001. Influence of preservation techniques and freezing storage time

- on biochemical composition and spectrum of fatty acids of *Isochrysis galbana* clone T-ISO. *Journal of phycology*. 32: 565-572.
- Bourne, N., C.A. Hodgson. & N.C. Whyte. 1989. A manual for scallop cultura in British Columbia. Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences 1694, 215p.
- Brown, M., S. Jeffrey, J. Volkman. & G. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151: 315-331.
- Bustillos-Hurtado, C.A. & J.A. López-Elías. 1994. Composición química de dos especies de microalgas en dos fases de crecimiento, cultivadas en medios simplificados. *Oceanología*. 2:133-148.
- Castro-Araujo, S. & G.V. Tavano. 2005. Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros cf. wighamii brightwell* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. I. Protein, carbohydrates and lipids. *Aquaculture*. 246: 405-412.
- Claquin, P. & V. Martin-Jezequel. 2002. Uncoupling of silicon compared with carbon and nitrogen metabolisms and the role of the cell cycle in continuous cultures of *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae) under light, nitrogen, and phosphorus control. *Journal Phycology*. 38: 922-930.
- Fogg, G.E. 1965. Algal cultures and phytoplankton ecology. The University of Wisconsin Press. Madison. 175 p.
- Guillard, R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: *Culture of marine invertebrate animal*. Plenum Press. New York: 29-59.
- Kirst, G.O. 1989. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40: 21-53.
- Lobban, C.S., P.J. Harrison. & M.J. Duncan. 1985. The physiological ecology of seaweeds. Cambridge University Press. New York. 200 p.
- López-Elías, J.A., N. Huerta-Aldaz, G. Estrada- Durán., M Celis-Salgado., E. De la Re-Vega, N. Quintero-Arredondo., J. Estrada-Quintero, J. Niebla-Larreta., N. Miramontes-Higuera., K. García-Quiroz., J. Rodríguez-Niebla., I. Carvajal-Sánchez & J Velasco-Rameños. 2004. Efecto de la salinidad en el crecimiento de *Isochrysis sp.* Bajo condiciones de cultivo estático. *Biotechnia*. 3 (6): 10-15.

- Mansour, M.M.F. & K.H.A Salama. 2004. Cellular basis of salinity tolerance in plants. *Environmental and Experimental Botany*. 52:113-22.
- Muller-Feuga, A. 2004. Microalgae for Aquaculture: The Current Global Situation and Future Trends. En Richmond A. *Handbook of Microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing. U.S.A. 352-363 pp.
- Regan, D. I. 1988. *Other microalgae*. En: Borowitzka, M. A. y Borowitzka, I. J. (Ed.). *Microalgal Technology*. Cambridge University Press. Cambridge, MA. USA. 477 pp.
- Rosales, N., J. Ortega, R. Mora. & E. Morales. 2005. Influencia de la salinidad sobre crecimiento y composición bioquímica de la cianobacteria *Synechococcus* sp. *Ciencias Marinas*. 31(2): 349-355.
- Sánchez, G., E. Morales, E. G. Gabriel & L.A Vidal. 2003. Respuesta de la diatomea *actinocyclus normanii* hustedt, a las variaciones en la densidad celular inicial, concentración de salinidad, silicato y fosfato en condiciones de laboratorio. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. 32: 169-181
- Shifrin, N.S. & S.W. Chisholm. 1981. Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light/dark cycles. *Journal Phycology*. 17: 374-383
- Velasco, L.A, J. Barros, C. Trujillo y G. Sánchez. 2009. Efecto de la intensidad lumínica, temperatura y salinidad sobre el crecimiento de la microalga *Isochrysis galbana* (clon t-iso). *Revista Intrópica* 4:93-99