

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.

Gloria E. Sánchez; Ever Morales; Gabriel Guillot Y Luis A. Vidal

RESUMEN

Es de interés el estudio de especies de microalgas bioindicadoras en lagunas costeras en proceso de reestauración, en función de la salinidad, silicato y fosfato. La respuesta de la diatomea centríca *Actinocyclus normanii*, proveniente de la Ciénaga Grande de Santa Marta, laguna del Caribe colombiano, fue evaluada en condiciones de laboratorio. Se realizaron dos grupos de bioensayos a una densidad celular inicial de 100 y de 800 cel·ml⁻¹. En ambos experimentos se estudió el efecto combinado de la salinidad (0, 15 y 25), fosfato (0,03, 1,5 y 3,0 µmol·l⁻¹) y silicato (10, 150 y 300 µmol·l⁻¹). Todos los cultivos se mantuvieron a una intensidad luminosa de 3 Klux (57,9 mE⁻²·seg⁻¹), fotoperiodo 12:12h, 22-24 °C y aireación constante. Se confirmó que el crecimiento de la diatomea estaba en función de la concentración del silicato, fosfato y salinidad. El silicato ejerció el efecto más estimulante, secundado por el fosfato; mientras que la salinidad disminuye la densidad celular. El tratamiento en el cual se produjo la mayor densidad 11.700 cel·ml⁻¹, contenía la combinación de silicato 300 µmol·l⁻¹, fosfato 3 µmol·l⁻¹ y salinidad 0; la densidad obtenida es 12 veces mayor, con relación a la obtenida a la menor concentración de silicato y fosfato en medio de salinidad cero. Aunque, el crecimiento disminuye con la salinidad, la diatomea mostró cierto grado de halotolerancia. Se sugiere que *Actinocyclus* constituye una especie indicadora de aguas dulces y al menos, ricas en silicato.

PALABRAS CLAVE: *Actinocyclus*, Bioindicador, Cultivo, Fosfato, Salinidad, Silicato.

ABSTRACT

Response of the diatom *Actinocyclus normanii* Hustedt to variations in initial cellular density, salinity, silicate, and phosphate concentrations in laboratory conditions. Microalgae are important for the restoration of coastal lagoon ecosystems affected by human activities because they are useful indicators of variations of salinity and levels of nutrients such as silicate and phosphate in the water column. With the centric diatom *Actinocyclus normanii* from Ciénaga Grande de Santa Marta (Colombian Caribbean) we conducted several experiments to evaluate the responses of this species at three levels of salinity (0, 15 and 25) and two initial densities (100 and 800 cells·ml⁻¹) to nine treatments combining several concentrations of phosphate (0, 1,5 and 3,0 µmol·l⁻¹) and silicate (10, 150 and 300 µmol·l⁻¹). All treatments were maintained with light intensity of 57,9 mE⁻²·seg⁻¹, photoperiod of 12:12 hrs, temperature between 22 and 24 °C and constant aeration. Results show that *A. normanii* grows in function of silicate, phosphate and salinity but silicate exerts a more important effect than phosphate while high salinity reduced the density of cells. The treatment that combined concentrations of 300 µmol·l⁻¹ silicate and 3 µmol·l⁻¹ phosphate achieved the highest density (11.700 cells·ml⁻¹) at salinity 0. This density is 12 fold than the obtained with the lowest silicate and phosphate concentrations in non-saline medium. Growth of *A. normanii* decreases with salinity, despite that the species exhibit certain degree of halotolerance, thus this species can be considered as indicator of non saline and (at least) silicate enriched conditions.

KEY WORDS: *Actinocyclus*, Bioindicator, Culture, Phosphate, Salinity, Silicate.

INTRODUCCIÓN

En la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM) se han realizados numerosos estudios de fitoplancton orientados básicamente al campo taxonómico y ecológico (Avila 1978; Hernández y Gocke, 1990). En este cuerpo de agua después de la reapertura de caños, la comunidad fitoplanctónica estaba compuesta por 184 taxa constituidos por el 15 % de clorofíceas, 10 % de cianofíceas, 59 % de diatomeas, 11 % euglenofíceas y 5 % de otros grupos (Sánchez *et al.*, 2001). En general durante los diferentes periodos de estudio de ésta laguna costera, una de las especies dominante ha sido la diatomea centrica *Actinocyclus normanii* la cual constituyó el 28 % del total de la densidad y fue la segunda especie más dominante en 1995. Recientes estudios fisiológicos y del ciclo reproductivo de ésta especie en laboratorio, indican que aparentemente soporta cambios drásticos en la salinidad; además que la formación de auxosporas, se presenta en niveles medios (10) y relativamente altos (20) de salinidad, pero no a niveles bajos (2,8) (Vidal y Galán, 1999).

Considerando los cambios que se han presentado en la CGSM, como consecuencia de la reapertura de antiguos caños que conducían agua desde el río Magdalena hasta la ciénaga y que han ocasionado la disminución sustancial de la salinidad de este cuerpo de agua, se diseñaron una serie de ensayos con el fin de evaluar la incidencia de las variables densidad celular, salinidad y concentración de los nutrientes fosfato y silicato, sobre esta diatomea, a fin de evaluar su posible uso como especie indicadora de condiciones hidrológicas de la laguna costera CGSM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de los cultivos, el inóculo fue obtenido mediante arrastre con malla de 20 μm de poro, en la estación boca del río Sevilla (BRS) ubicada en el oriente de la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM), Caribe colombiano. Cada muestra fue tamizada y centrifugada en recipientes estériles a 7.500 RPM durante 2 minutos y lavada repetidas veces con agua dulce estéril, con el fin de eliminar contaminantes como protozoarios y otras microalgas. Para favorecer el crecimiento de ésta diatomea, el concentrado de células posteriormente fue transferido a recipientes de vidrio con medio de cultivo f/2 modificado (Tabla 1) y enriquecido con silicato. El cultivo obtenido estaba constituido casi en su totalidad por *A. normanii* (>99%) de acuerdo al recuento celular determinado para esta evaluación.

Para los experimentos, se realizaron ensayos en medio de cultivo f/2 modificado, suministrando al inicio del cultivo y por una sola vez, los nutrientes silicato y fosfato a las concentraciones 10, 150 y 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ y 0,03, 1,5 y 3 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Igualmente se utilizaron dos densidades iniciales de siembra, 100 y 800 $\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$, y tres salinidades (0,15 y 25). Los valores de éstas variables corresponden a los valores promedio bajos y altos encontrados en la CGSM. Como tratamiento control se utilizó el medio de cultivo f/2 modificado (Stein 1979), para cada una de las salinidades y densidad inicial, indicadas.

Todos los experimentos se realizaron en botellas de boca estrecha Nalgene 1600, de alta resistencia a la corrosión y reacción química, autoclavables y transparentes, de 500 ml. Los cultivos por tres réplicas para cada tratamiento se mantuvieron a 23 ± 1 °C, con aireación constante, fotoperiodo 12:12 h, intensidad de luz de 3 Klx (57,9 $\text{mE}^2\cdot\text{seg}^{-1}$) y

Tabla 1. Ingredientes del medio de cultivo f/2 (Stein, 1973).

| Compuesto | Concentración |
|----------------------------------------|---------------------------|
| * NaNO ₃ | 2 mmol·l ⁻¹ |
| NaH ₂ PO ₄ | 36,3 μmol·l ⁻¹ |
| Na ₂ SiO ₃ | 0,1 mmol·l ⁻¹ |
| Solución de vitaminas (∞g): | |
| Tiamina | 0,5 |
| Biotina | 100 |
| Metales traza (∞mol·l ⁻¹): | |
| Zinc | 0,08 |
| Manganeso | 0,9 |
| Molibdeno | 0,03 |
| Cobalto | 0,05 |
| Hierro | 11,7 |
| EDTA | 11,7 |

* Concentración modificada de nitrato de sodio.

pH neutro (aproximadamente 7), ajustado a lo largo del cultivo. El suministro de luz se realizó con lámparas Superactin (Ultraviolet Resouecer International); la densidad celular se determinó diariamente mediante recuento celular con cámara Sedgwick-Rafter, en muestras previamente fijadas con formol al 5%.

Los cálculos de parámetros poblacionales fueron:

$$\text{Tasa de crecimiento } K (\text{cel } \times \text{ ml}^{-1} \times \text{ días}^{-1}) = \frac{\ln N_f - \ln N_o}{t}$$

$$N_f = \text{No final de células } \times \text{ ml}^{-1}$$

$$N_o = \text{No inicial de células } \times \text{ ml}^{-1}$$

$$t = \text{No de días}$$

En el análisis estadístico inicialmente se utilizó un modelo factorial donde se incluyeron los factores salinidad, concentración de silicatos y concentración de fosfatos; sin embargo, la interacción de segundo orden salió altamente significativa, por lo cual se

analizó cada factor dentro de los niveles de los otros factores. En el análisis se utilizó el programa SAS (The SAS Institute, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bajo condiciones de laboratorio se realizaron 60 tratamientos con tres réplicas cada uno, cuya duración osciló entre 4 y 17 días, de acuerdo a las condiciones de cultivo y la respuesta de la diatomea a dichas condiciones. En los ensayos iniciados con 100 cel·ml⁻¹, la densidad celular más alta fue 2.374 cel·ml⁻¹ alcanzada en medio no salino, a 0,03 y 300 μmol·l⁻¹ de fosfato y silicato respectivamente (Figura 1 y 2); este tratamiento además, alcanzó la tasa de crecimiento (K) más alta 0,76 (Tabla 2). En los diferentes grupos de ensayos el tiempo de duplicación (Td) más bajo varió con el incremento de la salinidad, tomando valores bajos de 0,92 (0,03/300/0), 0,8 (0,03/10/15) y 1,2 días (1,5/10/25), en las combinaciones (PO₄/SiO₄/Sal) (Tabla 3). En los experimentos realizados con densidad inicial de 800 (cel·ml⁻¹), la densidad máxima alcanzada fue 11.700 cel·ml⁻¹ en el tratamiento 3/300/0 (PO₄/SiO₄/Sal) (Figuras 3 y 4), obtenida a los seis días de cultivo (K de 0,43 y Td = 1,6) (Tablas 4 y 5); los ensayos con silicato 10 μmol·l⁻¹ y fosfato 1,5 y 3 μmol·l⁻¹, presentaron decrecimiento desde el primer día de cultivo (Figura 3).

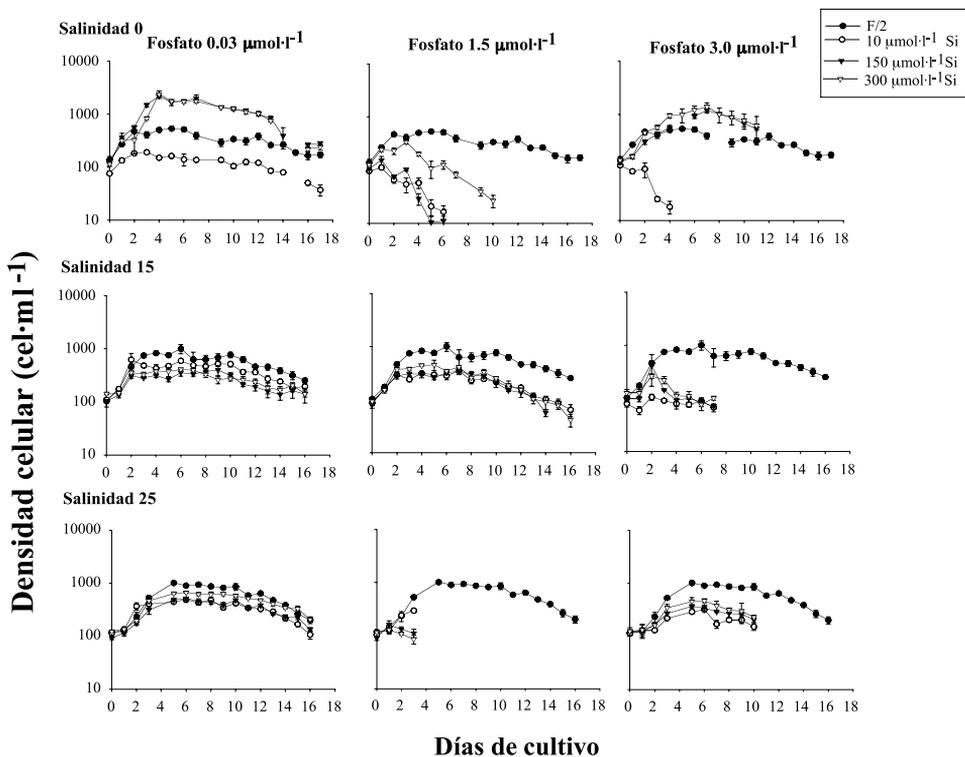


Figura 1. Curvas de crecimiento *A. normanii*, en función de la salinidad y los nutrientes fosfato y silicato (μmol·l⁻¹), en cultivos con densidad inicial 100 (cel·ml⁻¹). Las barras representan el valor extremos máximo y mínimo, y el promedio de las réplicas de cada tratamiento.

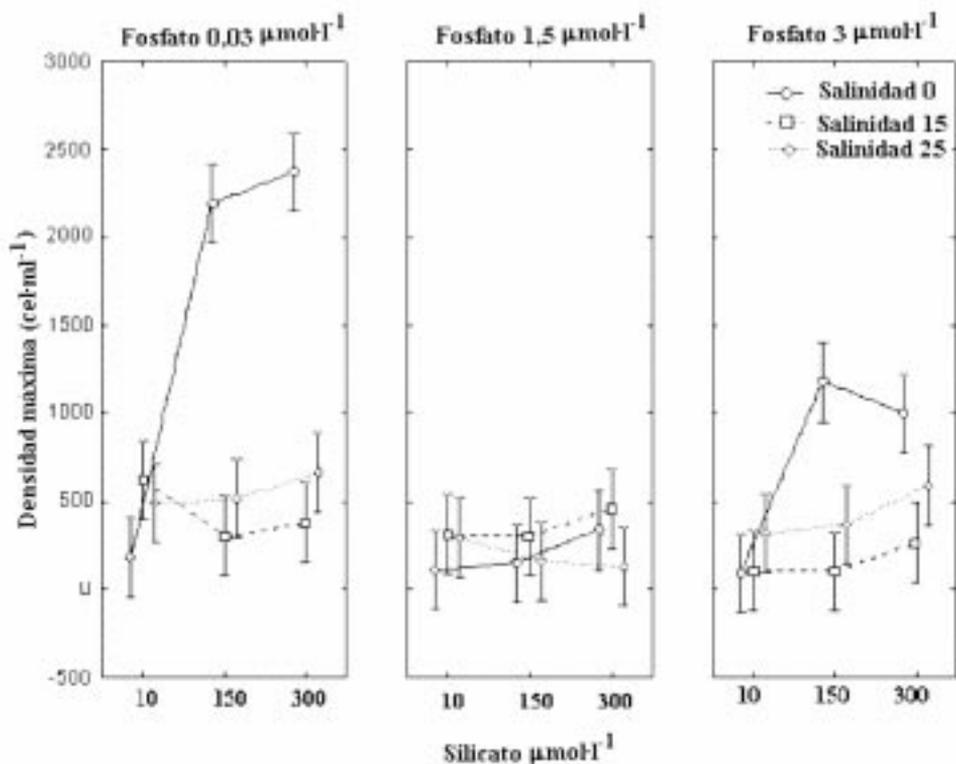


Figura 2. Valores de densidad celular máxima (cel·ml⁻¹) de *A. normanii*, en función de la salinidad, fosfato y silicato (μmol·l⁻¹), en cultivos de densidad inicial 100 (cel·ml⁻¹), con su desviación estándar.

Tabla 2. Valores de la tasa de crecimiento (k) de *A. normanii*, a salinidad 0, 15 y 25 y densidad inicial de 100 cel·ml⁻¹.

| P | Si | Salinidad 0 | | | Salinidad 15 | | | Salinidad 25 | | |
|------|----|-------------|------|------|--------------|------|------|--------------|------|------|
| | | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 |
| 0,03 | | 0,31 | 0,74 | 0,76 | 0,64 | 0,15 | 0,18 | 0,24 | 0,28 | 0,28 |
| 1,5 | | 0,16 | 0,39 | 0,33 | 0,20 | 0,20 | 0,31 | 0,35 | 0,57 | 0,10 |
| 3 | - | | 0,32 | 0,32 | 0,14 | ND | 0,2 | 0,17 | 0,22 | 0,39 |

-: Decrecimiento

ND: No determinada

Tabla 3. Valores del tiempo de duplicación (días) en cultivos de *A. normanii*, en función de la salinidad, fosfato y silicato ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), en cultivos de densidad inicial $100\text{ (cel}\cdot\text{ml}^{-1})$.

| P | Si | Salinidad 0 | | | Salinidad 15 | | | Salinidad 25 | | |
|------|----|-------------|------|------|--------------|------|------|--------------|------|------|
| | | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 |
| 0,03 | | 2,20 | 0,94 | 0,92 | 0,80 | 4,60 | 3,90 | 2,90 | 2,40 | 2,50 |
| 1,5 | | 4,50 | 1,80 | 2,10 | 3,40 | 3,40 | 2,20 | 2,00 | 1,20 | 7,00 |
| 3 | | - | 2,20 | 2,20 | 4,90 | 0,96 | 3,50 | 4,00 | 3,20 | 1,80 |

-. Decrecimiento

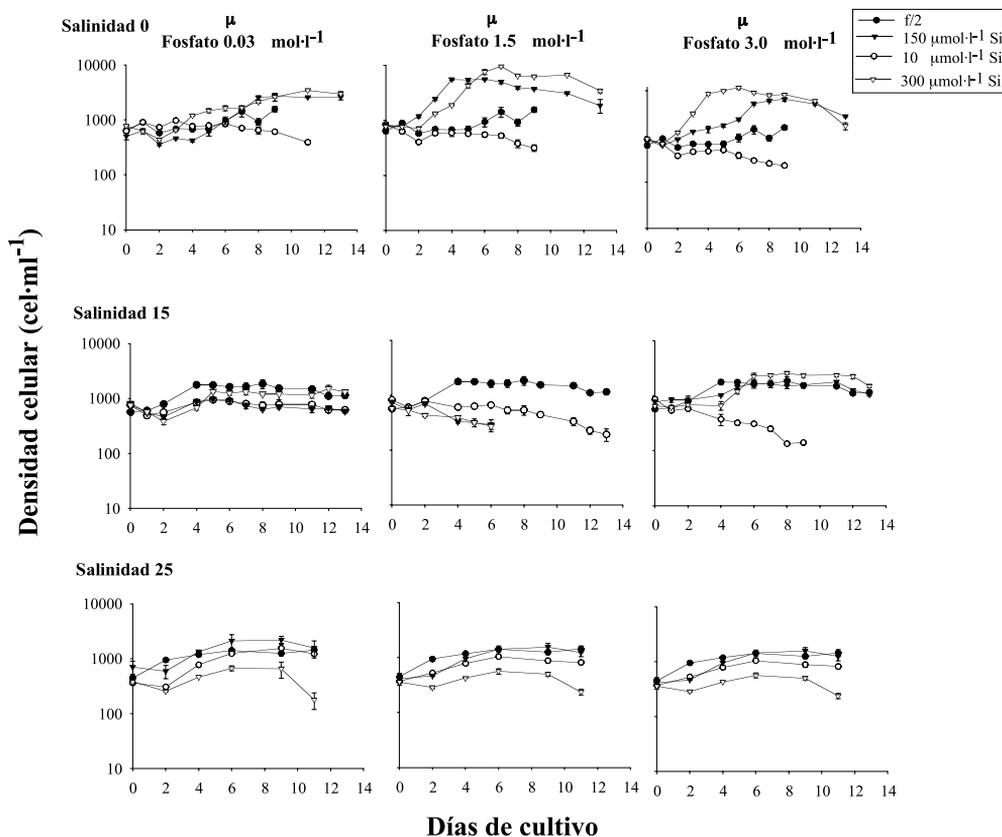


Figura 3. Curvas de crecimiento *A. normanii*, en función de la salinidad y los nutrientes fosfato y silicato ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), en cultivos con densidad inicial $800\text{ (cel}\cdot\text{ml}^{-1})$. Las barras representan el valor extremos máximo y mínimo, y el promedio de las replicas de cada tratamiento.

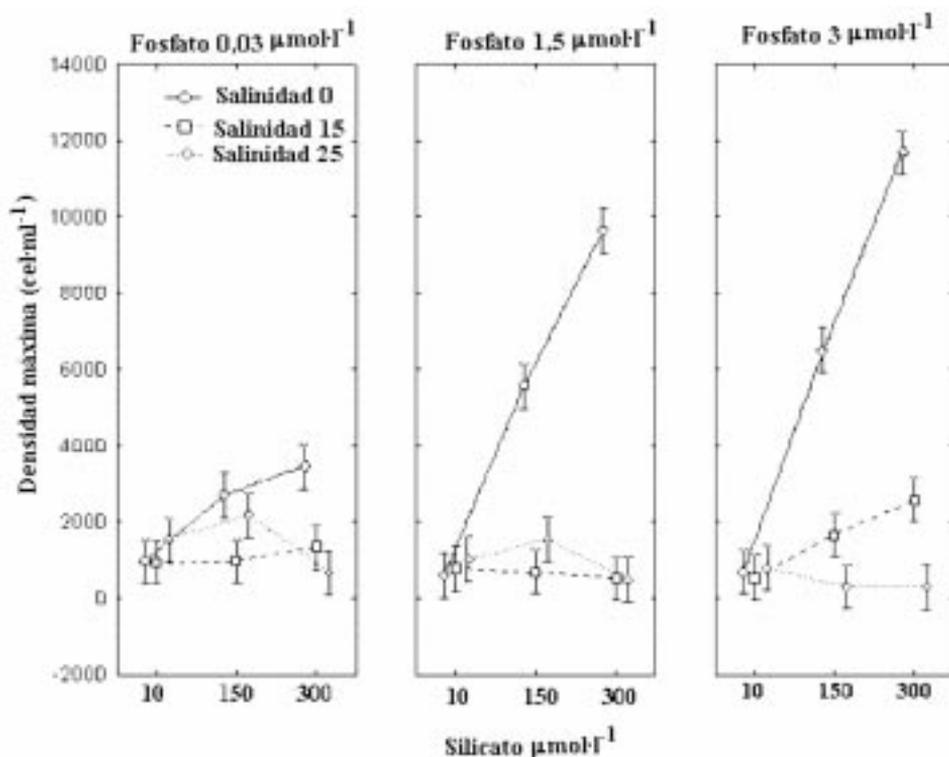


Figura 4. Valores máximos de densidad celular ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) de *A. normanii*, en función de la salinidad, fosfato y silicato ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), en cultivos de densidad inicial $800\text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ con su desviación estándar.

Tabla 4. Valores de la tasa de crecimiento (k) de *A. normanii*, a salinidad 0, 15 y 25 y densidad inicial de $800\text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$.

| P | Si | Salinidad 0 | | | Salinidad 15 | | | Salinidad 25 | | |
|------|----|-------------|------|------|--------------|------|------|--------------|------|------|
| | | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 |
| 0,03 | | 0,15 | 0,19 | 0,14 | 0,04 | 0,03 | 0,11 | 0,16 | 0,18 | 0,09 |
| 1,5 | | - | 0,48 | 0,36 | - | - | - | 0,17 | 0,15 | 0,08 |
| 3 | | - | 0,23 | 0,43 | - | 0,13 | 0,17 | 0,01 | - | - |

-: Decrecimiento

Tabla 5. Valores del tiempo de duplicación (días) en cultivos de *A. normanii*, en función de la salinidad, fosfato y silicato ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), en cultivos de densidad inicial $800 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$.

| Si | Salinidad 0 | | | Salinidad 15 | | | Salinidad 25 | | |
|------|-------------|-----|-----|--------------|------|-----|--------------|------|-----|
| | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 | 10 | 150 | 300 |
| P | | | | | | | | | |
| 0,03 | 4,7 | 3,7 | 5,1 | 15,6 | 20,0 | 6,0 | 4,3 | 20,0 | 7,3 |
| 1,5 | - | 1,5 | 1,9 | - | - | - | 4,0 | - | 9,1 |
| 3 | - | 3,0 | 1,6 | - | 5,4 | 4,1 | 80 | 5,4 | - |

-: Decrecimiento

La diatomea *A. normanii* de distribución tropical, subtropical y temperada, no se le ha definido bien su hábitat. Margalef (1983), la define como especie de remoto origen marino que actualmente se encuentra en agua dulce, donde se le considera un elemento extraño; se ha informado sobre la presencia de la especie tanto en medio marino-estuarino, como estuarino-aguadulce, frente a la desembocadura de los ríos (Hasle, 1977; Kiss, *et al.*, 1990; Tomas, 1996); en Colombia ha sido registrada en aguas de la CGSM (Ávila, 1978), en la desembocadura del río Magdalena (Hasle, 1977) y en la Ciénaga de Tesca.

En los ensayos aquí realizados se estableció que la salinidad es un factor determinante en el crecimiento de *A. normanii*; como se puede observar claramente en los tratamientos a concentraciones moderadas y altas de fosfato y silicato, en los cultivos iniciados con $100 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$; en estos, el crecimiento disminuye drásticamente con el incremento de la salinidad (Figura 1). Así, a $0,03/300 \text{ (PO}_4/\text{SiO}_4)$ y el aumento de 0 a 15 unidades de salinidad, el crecimiento del cultivo disminuye 4,2 veces, mientras que a 25 unidades de salinidad, el efecto es menos drástico (2,7 veces menor). Los valores máximos de densidad celular alcanzados en los cultivos a 15 y 25 de salinidad, oscilaron entre 622 y $668 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ en los cultivos iniciados con $100 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ y 2.107 y $2.575 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ en los cultivos iniciados con $800 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Figuras 2 y 5); el efecto más negativo sobre su crecimiento, tiene lugar cuando ésta es expuesta a un medio con salinidad 25, a partir de 150 y $3 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ de silicato y fosfato respectivamente; con lo cual se establece que las combinaciones fosfato/silicato/salinidad menos adecuadas corresponden a $1,5/10-150/15$; $1,5/300/15$; $3/10/15$ y $3/150-300/25$ donde hubo decrecimiento de los cultivos (Tablas 2 y 4). Este comportamiento también se refleja en el tiempos de duplicación (Tablas 3 y 5).

Como se indicó en la metodología, debido a la interacción de los factores salinidad, concentración de silicato y concentración de fosfato, cada uno fue analizado dentro de los niveles de los otros factores; en las tablas seis, siete y ocho, se presentan las interacciones significativas ($p < 0,05$), con los factores fijos de salinidad, fosfato y silicato, respectivamente. El efecto de la salinidad se detecta cuando los tratamientos a salinidad 0 versus $0,03$ y $3,0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ de fosfato, presentan diferen-

cias significativas ($p < 0,05$), en tanto que en las salinidades restantes, no hubo diferencias, es decir que solo en medio no salino se evidencia (Figura 2); también, en los cultivos con densidad inicial $800 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$, el incremento de la salinidad no genera diferencias significativas en ninguno de los niveles de fosfato y silicato (Figura 4) (Tabla 6).

Tabla 6. Interacciones entre la concentración de nutrientes en el medio de cultivo de *A. normanii* manteniendo como factor fijo la salinidad. Estas interacciones se evaluaron para dos densidades iniciales de cultivo. Por simplicidad se presentan únicamente las combinaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

| Densidad ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) | Factor Fijo Salinidad | $\text{PO}_4^{=}$ en Si ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) | Si en $\text{PO}_4^{=}$ ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) |
|-------------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 100 | 0 | 150 | 0,03 |
| | | 300 | 3 |
| | 15 | 10 | |
| | | 150 | |
| 25 | 300 | | |
| | 800 | 0 | 150 |
| 300 | | | 1,5 |
| 3 | | | |

Entre los nutrientes esenciales para el desarrollo de las microalgas se encuentran el nitrógeno y el fosfato, este último interviene en la mayoría de los procesos celulares de transferencia de energía y de síntesis de ácidos nucleicos, además su deficiencia, provoca un descenso en la síntesis de ácidos nucleicos, ATP y clorofila (Boney, 1989; Hameed, *et al.*, 1999). Las diatomeas adicionalmente requieren sílice, ya que este compuesto 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 y Martín-Jézéquel, 2002); *A. normanii* en la CGSM presenta un frústulo fuerte, bien silificado y cuyo tamaño varía entre 22 a 68 μm de diámetro (Vidal, 1995), de modo que se esperaba una alta demanda de este compuesto.

Así el mayor crecimiento de la especie, esta relacionado con la concentración de silicato entre 150 y 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ y de fosfato entre 0,03 y 3 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, a 0 salinidad (Figura 2 y 4); estos cultivos (cero salinidad) presentaron diferencias significativas en todos los niveles de fosfato, debidas al silicato (Tabla 7); en cambio, a 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ de silicato, el incremento del fosfato disminuyó la tasa de crecimiento de la diatomea en salinidad de 0 y 15 (Tablas 2 y 4); en estos tratamientos (Si 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), pese al incremento de la concentración de fosfato y de salinidad, no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos tanto con densidad inicial 100 $\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ como de 800 $\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Tabla 8), de modo que podría considerarse dicha concentración como muy limitante para el crecimiento de ésta especie, en las condiciones en las que se realizó este estudio.

Tabla 7. Interacciones entre la concentración de nutrientes en el medio de cultivo de *A. normanii* manteniendo como factor fijo el fosfato. Estas interacciones se evaluaron para dos densidades iniciales de cultivo. Por simplicidad se presentan únicamente las combinaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

| Densidad (cel*ml ⁻¹) | Factor Fijo PO ₄ ⁼ (μmol*l ⁻¹) | Si en Salinidad | Salinidad en Si (μmol*l ⁻¹) |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------|
| 100 | 0,03 | 0 | 10 150 300 |
| | | 1,5 | 300 |
| | | 3 | 0 150 300 |
| 800 | 0,03 | 0 25 | 150 300 |
| | | 1,5 | 0 25 300 |
| | | 3 | 0 15 300 |

Tabla 8. Interacciones entre la concentración de nutrientes en el medio de cultivo de *A. normanii* manteniendo como factor fijo el silicato. Estas interacciones se evaluaron para dos densidades iniciales de cultivo. Por simplicidad se presentan únicamente las combinaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

| Densidad (cel*ml ⁻¹) | Factor Fijo Silicato (μmol*l ⁻¹) | PO ₄ ⁼ en Salinidad | Salinidad en PO ₄ ⁼ (μmol*l ⁻¹) |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 100 | 10 | 15 | 0,03 |
| | | 0 25 | 0,03 3 |
| | | 0 25 | 0,03 1,5 3 |
| 800 | 150 | 0 15 25 | 0,03 1,5 3 |
| | | 0 15 | 0,03 1,5 3 |

Los resultados sugieren que el silicato y fosfato contribuyen al crecimiento de la diatomea y éste crecimiento es proporcional a la concentración de ambos nutrientes, al menos en las concentraciones utilizadas en este estudio. Este efecto se observa claramente en el grupo de ensayos de 800 cel·ml⁻¹, donde el efecto combinado de silicato y fosfato produjo un crecimiento hasta de 2,9 (1,5/150) y 3,2 (3/300) veces, con relación al obtenido a 0,03/10 mmol·l⁻¹. El silicato parece mejorar la asimilación del fosfato, de tal manera que posiblemente puede manifestarse un efecto sinérgico (Figuras 2 y 4).

Al comparar los resultados de los ensayos con relación a la densidad celular inicial (100 y 800 cel·ml⁻¹), con el incremento de la densidad celular tal como se esperaba, hay una disminución general de la tasa de crecimiento, de modo que el valor máximo alcanzado fue 1,6 veces mayor en los cultivos de menor densidad, que en el grupo de ensayos iniciados con 800 cel·ml⁻¹, pasando de 0,76 en 0,03/300 a 0,48 en 1,5/150 (PO₄/SiO₄), en ambos casos en medio no salino. En el caso del fosfato a 0,03 mmol·l⁻¹, se observó disminución en la tasa de crecimiento, lo que sugiere que esta concentración de fosfato para los experimentos con densidad inicial de 800 cel·ml⁻¹, es ligeramente limitante.

De la misma manera, los datos de tiempo de duplicación en general concuerdan con las tendencias observadas con la tasa de duplicación y la densidad máxima; en los cultivos iniciados con 100 cel·ml⁻¹, el Td osciló entre 0,8 a 7 días 0,03/10/15 y 1,5/150/25 (PO₄/SiO₄/Sal) respectivamente (Tabla 3); sin embargo, en los cultivos iniciados con 800 cel·ml⁻¹, el tiempo de duplicación osciló entre 1.6 a 80 días 3/300/0 y 3/10/25 (PO₄/SiO₄/Sal) respectivamente (Tabla 5). En general se observa el incremento en el Td en los tratamientos con densidad inicial de 800 cel·ml⁻¹ (Tabla 5); en el caso del efecto del silicato a cero salinidad y 0,03 mmol·l⁻¹ de fosfato, el Td es 2,1 y 5,5 veces mayor, a la mínima y máxima concentración de éste nutriente (10 y 300 mmol·l⁻¹) respectivamente, al registrado en estos mismos tratamientos pero iniciados con 100 cel·ml⁻¹. En cuanto a la salinidad para ambos casos, los mejores tiempos de duplicación se obtienen en el medio no salino, aunque para el grupo de 800 cel·ml⁻¹, el Td promedio es 1,5 veces mayor que el registrado con 100 cel·ml⁻¹; igualmente, el tiempo de duplicación promedio para el grupo de 800 cel·ml⁻¹, es 5,2 veces mayor en condiciones de máxima salinidad (25), mientras que en el grupo 100 cel·ml⁻¹, el incremento del Td promedio es tan solo de 1,4 veces, con relación al observado en el medio no salino.

El mayor crecimiento de la diatomea *A. normanii* está dado en función de la concentración del silicato en medio no salino, de modo que la salinidad induce inhibición e incluso muerte celular; a pesar de que esta especie exhibe cierto grado de tolerancia a la salinidad, se considera que es una especie indicadora de aguas no salinas y ricas en silicato; así mismo, aunque en medio no salino, el silicato ejerce un papel esencial en el crecimiento de la diatomea, bajo deficiencia de silicato, el fosfato no estimula la producción celular. El posible vínculo de esta especie con las condiciones salinas podría estar relacionado con la reproducción sexual durante la formación de auxosporas (Vidal y Galan, 1999).

CONCLUSIONES

La diatomea *Actinocyclus normanii* exhibe cierto grado de halotolerancia, aunque su crecimiento disminuye drásticamente con el incremento de la salinidad; se considera una especie bioindicadora de aguas de baja salinidad y ricas en silicato.

El incremento de la tasa de crecimiento de la diatomea con la concentración del silicato y fosfato combinada, pudiese determinar un efecto sinérgico entre ambos nutrientes. Sin embargo, el silicato ejerce una mayor influencia en el crecimiento de la diatomea, de modo que en el medio natural, este compuesto podría limitar con mayor probabilidad el desarrollo de la especie, que el fosfato.

La salinidad, silicato y el fosfato parecen ser los parámetros más limitantes del crecimiento de la diatomea; con el efecto más significativo de la salinidad, seguida del silicato y posteriormente por el fosfato. El tiempo de duplicación de la especie se ve afectado por el incremento de la densidad celular, en términos de que a mayores densidades celulares la cuota por célula es menor y se genera competencia intraespecífica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo expresan su agradecimiento al Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales “Francisco José de Caldas” COLCIENCIAS y al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives De Andreis” INVEMAR, por el apoyo financiero que dieron a este trabajo. Así mismo, a la Dra. Katia Saez y al Señor Pablo Alemparte del Departamento de Estadística de la Universidad de Concepción -Chile-, quienes contribuyeron en el análisis estadístico.

BIBLIOGRAFÍA

- Avila, G. 1978. Variación de grupos planctónicos en la Ciénaga Grande de Santa Marta (Junio 1971-Mayo 1972). *Divulgación Pesquera*. 12 (4-5): 1-16.
- Boney, A. 1989. *Phytoplankton*. Edward Arnold Ec. London. 118.
- Claquin, P., Martin-Jezequel, V. 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. *J. Phycol.* 38: 922-930.
- Hameed, A.; Kilinc, S.; McGowan, S.; B. Moss. 1999. Physiological tests and bioassays: aids or superfluties of phytoplankton nutrient limitation? A comparative study in the Broads and meres of England. *Eur. J. Phycol.* 34: 253-269.
- Hasle, R. 1977. Morphology and taxonomy of *Actinocyclus normanii* f. *subsalsa* (Bacillariophyceae). *Phycologia*. 16(3): 321-328.
- Hernández, C.A. y K. Gocke. 1990. Productividad primaria en la Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín*. 19-20: 101-119.
- Kiss, K.; Le Cohu, R.; Coste, M.; Genkal, S.V.; Houk. 1990. *Actinocyclus normanii* (Bacillariophyceae) in some river and lakes in Europe. Morphological examinations and quantitative relations. *Ouvrage dédié à H. Gernain, Koeltz*. 111-123.
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Ed. Omega, S.A. Barcelona, España. 1010 p.
- Sánchez, G.; Vidal, L.; Guillot, G.; Morales, E. 2001. Dinámica de la comunidad fitoplanctónica en la Ciénaga Grande de Santa Marta durante su rehabilitación y verificación parcial de esta dinámica, a través de bioensayos con *Actinocyclus normanii* Hustedt (Bacillariophyceae) en labo-

- ratorio. Informe Técnico Final. INVEMAR- COLCIENCIAS- Universidad Nacional de Colombia. Manuscrito sin publicar. 122 pp.
- Stein, J. 1979. Handbook of phycolgical methods. Culture methods and measurements. Cambridge, Univ. Press. 446 pp.
- The SAS Institute, 1998. SAS, Software Version 7. North Carolina State University. On Line Manual: <http://www.uwm.edu/IMT/Computing/sasdoc8/sashtml/ets/chap7/index.htm>
- Tomas, C. (Ed). 1996. Identifying marine diatoms and dinoflagellates. Academic Press, Inc., 598 p.
- Vidal, L. A., 1995. Estudio del fitoplancton en el sistema lagunar estuarino tropical Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia, durante el año 1987. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 207p+62 lam. Manuscrito sin publicar.
- _____, L. y Galan, A. 1999. Bioensayos con *Actinocyclus normanii* (Bacillariophyta), para determinar condiciones de su mantenimiento en laboratorio. Informe técnico. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras INVEMAR. Manuscrito sin publicar. Santa Marta. 25 p.

FECHA DE RECEPCIÓN: 08/04/02

FECHA DE ACEPTACIÓN: 25/07/03

DIRECCIÓN DE LOS AUTORES

INVEMAR, A.A. 1016 Santa Marta, Colombia, email: glsanchez@udec.cl (GS) y javidalve@yahoo.com (LAV). Universidad del Zulia, Maracaibo - Venezuela, email: everm@iamnet.com (EM). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología
Email: gguillot@ciencias.ciencias.unal.edu.co (GG)