

# Estudios sobre poblaciones de algas sometidas a gradientes continuos en la concentración de nutrientes

MARTA ESTRADA

Instituto de Investigaciones Pesqueras, Paseo Nacional, s/n., Barcelona

## INTRODUCCIÓN

Para el estudio de la dinámica de los ecosistemas es fundamental la consideración de las características de su distribución espacial. En el medio acuático, la elevada heterogeneidad espacial del fitoplancton plantea interesantes problemas ecológicos; en este contexto, la experimentación con cultivos de laboratorio puede servir para poner de manifiesto mecanismos semejantes a algunos de los que actúan en la naturaleza, como por ejemplo los efectos de la limitación por nutrientes difundidos a partir de un punto de aporte.

En los cultivos usuales en medio líquido suele realizarse una homogenización del medio mediante algún mecanismo de agitación. Si se suspende éste, aparecen gradientes (a causa de la difusión de gases y nutrientes, la sedimentación diferencial de las células, etcétera), pero son difícilmente controlables debido a que la perturbación producida al tomar las muestras es ya suficiente para destruirlos. Existen diversos modos prácticos de conseguir un medio heterogéneo; un ejemplo de este tipo serían tubos elevados en los que puede desarrollarse una estratificación intensa (MARGALEF, 1963). Un conjunto de quemostatos conectados en serie o en paralelo puede resultar también un sistema muy útil (MARGALEF & RYTHER, 1960; MARGALEF, 1967). En otro tipo de dispositivos se recurre a la colocación de tubos o placas de Petri a lo largo de un gradiente de luz o de temperatura (THOMAS *et al.*, 1963; CANNEFAX, 1962; LANDMAN *et al.*, 1962; EDWARDS & VAN BAALEN, 1970).

Con el fin de evitar los inconvenientes de la destrucción o interrupción del gradiente que implica la acción de la turbulencia en un medio líquido o el empleo de diversas unidades de cultivo, se decidió adoptar un método basado en la utilización de medios de cultivo solidificados con agar-agar; las experiencias se centraron en la obtención de gradientes de sales nutritivas (nitrato o fosfato) y en el estudio de sus efectos sobre poblaciones unialgales y mixtas de algas de agua dulce. La idea de la utilización de medio sólido se inspiró en los trabajos de HALLDALL (1958) y HALLDALL & FRENCH (1958), que establecieron gradientes cruzados de luz y temperatura en una placa rectangular de agar-agar, con objeto de estudiar el efecto de variaciones en estos parámetros sobre el crecimiento y la composición pigmentaria de algunas especies de algas. HALLDALL analizó los pigmentos poniendo las láminas de agar con las algas en un espectrofotómetro, pero no hizo determinaciones directas. CALDWELL & HIRSCH (1973) y CALDWELL *et al.* (1973) describieron un dispositivo para la obtención de gradientes estacionarios de nutrientes en dos direcciones perpendiculares. El aparato fue diseñado para estudiar la respuesta de comunidades microbianas a nutrientes o tóxicos y para producir un enriquecimiento de determinados organismos. CALDWELL & HIRSCH (1973) estudiaron el crecimiento de una población mixta de tres especies bacterianas, pero sólo expusieron los resultados de modo cualitativo. En el presente trabajo se llevaron a cabo extractos de pigmentos y se realizaron recuentos de células con el fin de obtener

datos cuantitativos sobre el tipo de distribución de los microorganismos y los resultados de la competencia entre las diversas especies.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Organismos y medios de cultivo*

Los experimentos se realizaron con clorofíceas y una diatomea de agua dulce. Los organismos empleados fueron *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs, *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson, *Stichococcus sp.* y *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith. Las tres primeras especies se mantenían en cultivo axénico y la última en cultivo unialgal en la colección del Instituto de Investigaciones Pesqueras de Barcelona. El medio de cultivo básico utilizado fue el recomendado por GUILLARD (1968), con una modificación en la solución de metales traza; la fórmula completa del medio se da en la tabla 1; la esterilización se hacía en el autoclave, a 120 °C durante 20 minutos. Según las necesidades del experimento, se omitían uno

o varios nutrientes o se añadían en las concentraciones convenientes. El medio sólido se preparaba añadiendo un 0,8 % de agar-agar. Las cepas se mantenían normalmente por duplicado, en matraces de tipo Erlenmeyer de 250 cc, provistos de un tapón de algodón y gasa, y en placas de Petri con medio sólido. Los inóculos para iniciar las experiencias se obtenían resemebrando en medio líquido células de una colonia crecida en placa. Todos los cultivos se mantuvieron en una cámara isotérmica con una temperatura constante de 17°C y estuvieron sometidos a una iluminación de unos 3.500 lux, obtenida por medio de lámparas fluorescentes.

### *Obtención experimental de gradientes de nutrientes*

Se emplearon sucesivamente dos tipos de dispositivo:

1. Cubetas de vidrio en forma de medio cilindro (fig. 1a), con difusión de nutriente a partir de uno o más puntos de salida constituidos por una cánula metálica de 0,5 mm de diámetro interior.

2. Cubetas cuadrangulares de plástico transparente, de dos clases de tamaño.

a) De medidas interiores 13 × 17,2 × 2 cm, divididas en tres compartimentos; en el central se introducía medio de cultivo con agar-agar, y en los laterales las soluciones de nutriente; los compartimentos se conectaban entre sí por medio de unas piezas de papel de filtro dobladas (fig. 1b).

b) De dimensiones interiores 16,7 × 10,3 × 1,4 cm (fig. 1c); una vez introducido y solidificado el medio, se extraía una banda de agar-agar de 1,5 a 2 cm de anchura de uno o de dos extremos opuestos, y se llenaba el espacio así obtenido con la solución adecuada, en general una solución de elevada concentración del nutriente del que se quería obtener un gradiente (y que se había omitido del medio de cultivo).

Las cubetas de vidrio podían esterilizarse al autoclave; las de plástico se desinfectaban con alcohol etílico; este procedimiento no asegura, ni mucho menos, una esterilización completa, pero, dado el tipo de experimento que se realizaba, no hubo problemas debidos a contaminación bacteriana. En

TABLA 1. — Medio artificial de agua dulce (WM).

	mg/l	μM
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	36,76	250
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	36,97	150
Na <sub>2</sub> HCO <sub>3</sub>	12,60	150
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	8,71	50
NaNO <sub>3</sub>	85,01	1000
BO <sub>3</sub> H <sub>3</sub>	30,00	480
	ml/l	
Solución de Fe	1,0	
Solución de TRIS	4,0	
pH	7,1-7,3	

*Solución de Fe:* Disolver 3,15 g de FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O y 4,36 g de EDTA Na<sub>2</sub> en 900 ml de agua destilada; añadir 1 ml de solución de metales y completar hasta el litro con agua destilada.

*Solución TRIS:* Disolver 50 g de Tris (hidroximetil) amino-metano en 200 ml de agua destilada y añadir el HCl necesario para obtener un pH de 7,1-7,3.

*Solución de metales:* Disolver 2 g de MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O; 0,5 g de CoSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O; 0,3 g de LiCl<sub>3</sub>; 1 g de AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O; 0,5 g de NiSO<sub>4</sub> · 6H<sub>2</sub>O; 0,3 g de KI; 0,3 g de KBr; 0,5 g de ZnSO<sub>4</sub>; 0,75 g de Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>(NH<sub>4</sub>) · 4H<sub>2</sub>O en dos o tres gotas de HCl y completar luego hasta el litro con agua destilada.

los dos últimos tipos de dispositivo, en los que no se puede invertir la cubeta, el agua de condensación puede plantear problemas; en nuestro caso, lo que se hizo es decantarla cuando era necesario.

En las experiencias con gradientes en medio sólido la evolución de los cultivos es muy dilatada; algunos de ellos se incubaron durante más de tres meses, ya que seguían ocurriendo variaciones muy aparentes; las soluciones de nutriente de los depósitos se reponían varias veces a lo largo de cada experimento.

*Métodos de siembra*

Es incierto el resultado de pretender una siembra uniforme sobre la superficie de un medio sólido. Se utilizaron fundamentalmente dos métodos:

a) Adición al cultivo de un volumen determinado de suspensión de células procedentes de un cultivo en medio líquido. Para ello, un pequeño volumen de un cultivo muy concentrado se diluía en medio nuevo carente de nitrato o de nitrato y fosfato, según los casos, para evitar en lo posible el arrastre de nutrientes junto con el inóculo. El fluido sobrante se eliminaba luego por decantación o por evaporación; el segundo procedimiento es el mejor, pero existe el inconveniente de la posible contaminación por otros organismos.

b) Utilización de un papel de filtro estéril, recortado en forma adecuada, que se dejaba impregnar en una suspensión de células; este papel se depositaba sobre la superficie del medio sólido y se retiraba al cabo de un cierto tiempo; quedaba un pequeño volumen de líquido sobrante, que era pronto absorbido por el agar-agar.

*Procedimientos de muestreo*

Las muestras se tomaban recortando una faja de agar-agar en el sentido del gradiente establecido y dividiéndola luego transversalmente en cuadraditos, por medio de una hoja de afeitar. La superficie de las muestras recogidas se calibraba lo más exactamente posible. En las experiencias realizadas con cubetas de vidrio, como el crecimiento algal ocurría en un área muy redu-

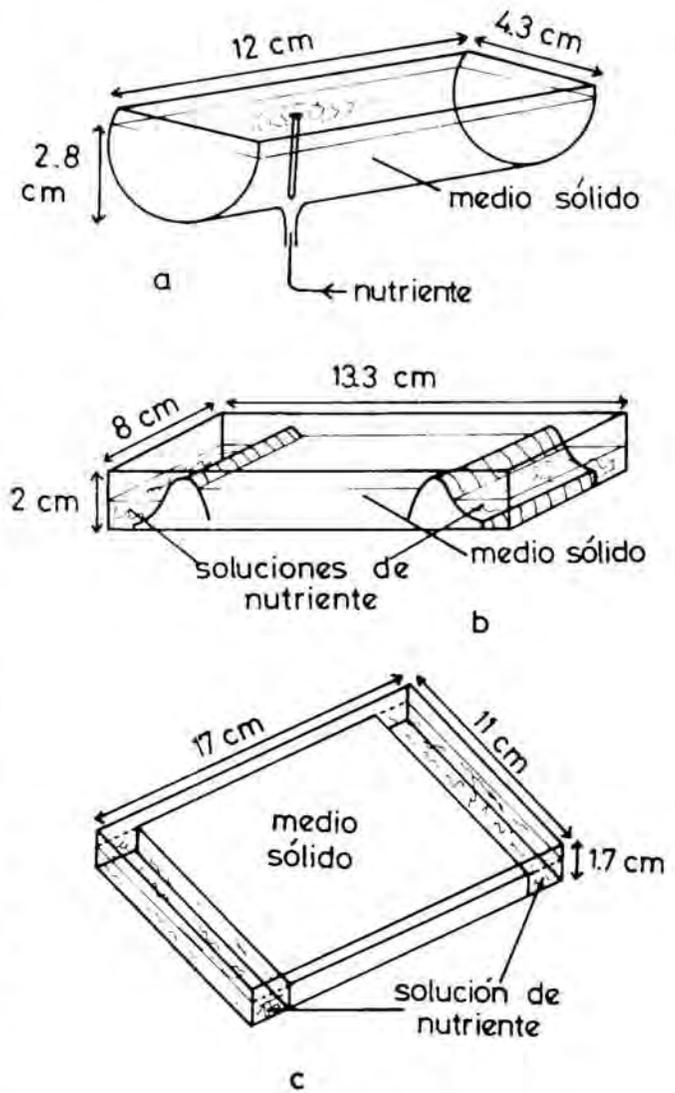


FIG. 1. — Recipientes de cultivo utilizados. — *Types of culture vessels.*

cida, se tomaban muestras de unos 2 mm<sup>2</sup>; en las cubetas de plástico se amplió la superficie a un mínimo de 1 cm<sup>2</sup>, lo que ya permitía la determinación de los pigmentos.

*Métodos de recuento de células*

La población procedente de una superficie determinada de medio sólido se suspendía en una cantidad conocida de líquido y se vertía después en una cubeta de sedimentación; se comprobó que el número de células que quedaba adherido a los fragmentos de agar-agar era relativamente pequeño. Este procedimiento no es muy preciso, pero dados los marcados gradientes que se formaban en la población de microorganismos, proporcionó resultados útiles.

*Determinación de pigmentos fotosintéticos*

Para determinar pigmentos en los cultivos en medio sólido, se cortaba un cuadrado de agar de superficie conocida (alrededor de 1 cm<sup>2</sup>), se introducía en un tubo Pyrex con tapón de rosca que contenía unos 6 ml de metanol y se guardaba a oscuras en una nevera durante un período mínimo de 24 horas, para permitir la extracción de los

pigmentos. En algunas ocasiones se utilizó para la extracción metanol caliente.

El material particulado se eliminaba del extracto por centrifugación o mediante filtración a través de varios filtros de fibra de vidrio. En las primeras experiencias se leyeron las densidades ópticas a las longitudes de onda adecuadas mediante un espectrofotómetro Beckman DU. En experiencias posteriores pudo contarse con un motor que

TABLA 2 A. — *Experimento: M/C/12-71. Realizado simultáneamente con cinco cubetas como la esquematizada en la fig. 1c. Siembra: 10-12-71. Adición a cada cubeta de 10 ml de suspensión con  $97 \times 10^6$  cel/ml de las especies *Scenedesmus quadricauda* (Sce), *Ankistrodesmus falcatus* (Ank), *Nitzschia palea* (Nit) y *Stichococcus sp.* (Sti) en proporciones respectivas, 1:0,2:0,01:0,14. Fuente de nutriente: WM con 500  $\mu\text{g-at/l}$  de N-NO<sub>3</sub>.*

*Fecha de muestreo: 23-12-71.*

Distancia al reservorio (cm)	(Células/cm <sup>2</sup> ) x 10 <sup>-3</sup>				Clorofila $\mu\text{g/cm}^2$	D <sub>430</sub> /D <sub>665</sub>	Clor/cel. $\mu\text{g}/10^6$ cel.	Diversidad bits/cel.
	Nit	Sce	Sti	Ank				
0,5	8,1	45,5	109,5	0,5	0,93	2,27	5,67	1,1
1,5	29,2	58,5	61,9	1,5	1,64	2,42	10,88	1,6
2,5	15,7	59,8	48,3	0,8	1,40	2,59	11,21	1,5
3,5	12,1	64,8	28,7	5,2	1,00	2,53	9,04	1,5
4,5	4,6	66,3	7,0	7,6	0,70	2,76	8,17	1,1
5,5	11,0	71,6	75,7	8,5	1,06	2,48	6,33	1,0
6,5	7,4	53,6	9,1	7,6	1,04	2,56	13,35	1,4
7,5	1,7	37,0	24,4	6,9	0,93	2,37	13,23	1,2
8,5	1,8	49,3	31,9	16,0	1,13	2,28	11,44	1,6
9,5	1,2	48,6	14,3	9,4	1,02	2,13	13,88	1,3
10,5	0,4	20,1	10,4	20,9	0,66	2,06	12,74	1,6
11,5	0,4	8,8	3,1	4,2	0,28	2,73	17,04	1,6
12,5	0,1	28,0	32,8	18,9	—	—	—	1,6

TABLA 2 B. Continuación. — *Fecha de muestreo: 26-1-72.*

Distancia al reservorio (cm)	(Células/cm <sup>2</sup> ) x 10 <sup>-3</sup>				Clorofila $\mu\text{g/cm}^2$	D <sub>430</sub> /D <sub>665</sub>	Clor/cel. $\mu\text{g}/10^6$ cel.	Diversidad bits/cel.
	Nit	Sce	Sti	Ank				
0,25	0,00	0,11	33,28	0,22	—	—	—	0,1
0,5	—	—	—	—	2,65	2,57	0,09	—
0,75	0,00	1,36	21,57	0,32	—	—	—	0,4
1,5	0,00	0,90	8,78	0,08	1,04	3,18	0,11	0,5
2,5	0,02	0,67	7,46	0,23	0,70	3,64	0,08	0,6
3,5	0,01	0,66	3,02	0,14	—	—	—	0,9
4,5	0,05	0,59	3,10	0,07	0,85	4,44	0,22	0,8
5,5	0,05	0,65	2,03	0,14	0,76	4,50	0,26	1,1
6,5	0,04	0,96	2,15	0,13	0,66	4,77	0,20	1,2
7,5	0,25	2,99	3,56	0,22	0,79	5,23	0,11	1,3
8,5	0,29	3,23	2,39	0,28	0,51	7,66	0,08	1,4
9,5	0,13	4,05	1,45	0,17	0,68	6,82	0,12	1,1
10,5	0,24	9,35	1,52	0,38	—	—	—	0,9

TABLA 2 C. Continuación. — Fecha de muestreo: 4-II-72.

Distancia al reservorio (cm)	Nit	(Células/cm <sup>2</sup> ) x 10 <sup>-7</sup>		Ank	Clorofila $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	D <sub>630</sub> /D <sub>663</sub>	Clor/cel. $\mu\text{g}/10^6$ cel.	Diversidad bits/cel.
		Scs	Sti					
0,25	0,00	0,40	9,59	0,12	—	—	—	0,2
0,5	—	—	—	—	5,82	2,77	0,48	—
0,75	0,00	1,09	15,56	0,29	—	—	—	0,5
1,5	0,00	0,44	7,89	0,15	5,69	5,85	0,44	0,4
2,5	0,00	0,66	6,52	0,29	1,52	4,95	0,21	0,7
3,5	0,00	0,43	1,90	0,11	0,91	6,0	0,57	0,9
4,5	0,01	0,75	2,27	0,16	1,15	9,47	0,55	1,0
5,5	0,03	0,97	2,50	0,11	0,96	6,79	0,26	1,1
6,5	0,03	0,68	5,15	0,22	1,28	6,09	0,51	1,0
7,5	0,02	1,22	4,74	0,18	1,72	5,71	0,28	0,9
8,5	0,06	1,70	1,46	0,18	1,25	6,66	0,36	1,5

TABLA 2 D. Continuación. — Fecha de muestreo: 25-II-72.

Distancia al reservorio (cm)	Nit	(Células/cm <sup>2</sup> ) x 10 <sup>-7</sup>		Ank	Clorofila $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	D <sub>630</sub> /D <sub>663</sub>	Clor/cel. $\mu\text{g}/10^6$ cel.	Diversidad bits/cel.
		Scs	Sti					
A)								
0,25	0,00	0,29	7,86	0,15	—	—	—	0,3
0,5	—	—	—	—	0,71	4,50	0,07	—
0,75	0,00	0,25	9,74	0,05	—	—	—	0,2
1,5	0,00	0,44	2,59	0,10	0,55	5,25	0,10	0,8
2,5	0,00	0,69	2,24	0,14	—	—	—	1,0
3,5	0,00	0,54	2,08	0,12	0,16	7,05	0,06	0,9
4,5	0,00	0,60	1,52	0,08	0,28	6,25	0,14	1,1
5,5	0,00	0,59	0,56	0,11	0,10	—	0,08	1,3
6,5	0,00	0,40	0,54	0,02	0,11	—	0,15	1,1
B)								
0,25	0,00	0,97	8,15	0,25	2,55	5,65	0,25	0,3
0,75	0,00	1,28	8,52	0,10	1,85	4,67	0,19	0,6
1,5	0,00	0,71	2,10	0,15	0,55	4,45	0,19	0,9
2,5	0,00	0,77	1,20	0,14	0,50	5,75	0,14	1,2
3,5	0,00	0,64	2,06	0,10	0,59	6,00	0,14	1,0
4,5	0,00	0,55	0,58	0,05	0,09	11,09	0,07	1,2
5,5	0,00	1,57	2,09	0,14	0,20	11,50	0,06	1,2
6,5	0,00	1,56	0,91	0,07	0,42	6,80	0,18	1,1
7,5	0,00	1,15	0,77	0,05	0,24	7,57	0,12	1,1

permitía la homogenización de los filtros (con un homogenizador de vidrio) y con un espectrofotómetro de registro Perkin Elmer.

Las ecuaciones utilizadas para los cálculos de concentración de clorofila *a* fueron, según los casos:

$$\begin{aligned} \text{clorofila } a, \mu\text{g}/\text{ml solvente} &= \\ &= 11,64 \times D_{663} - 2,16 \times D_{645} + 0,10 \times D_{630} \end{aligned}$$

(RICHARDS y THOMPSON, 1952)

clorofila *a*,  $\mu\text{g}/\text{ml solvente} = 12,6 \times D_{663}$   
(MARGALEF, 1972)

$D_{663}$ ,  $D_{645}$ ,  $D_{630}$  son las densidades ópticas a 663, 645 y 630 nm, respectivamente, medidas en cubetas de 1 cm de recorrido óptico, después de restar la densidad óptica a

750 nm como corrección para la turbidez. Los valores obtenidos mediante las fórmulas citadas se multiplican por el volumen de extracto en ml y se dividen por la superficie de muestra en  $\text{cm}^2$ , para obtener la concentración de clorofila en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

## RESULTADOS

### *Distribución de la concentración celular en cultivos con gradientes simples*

La estructura de la población afectada por el gradiente experimenta grandes cam-

bios en el transcurso del tiempo; el aspecto de los cultivos varía de modo típico. En el caso de *Scenedesmus*, en la frontera con la zona de aporte del nutriente limitante (en general, se utilizó nitrato) aparece una faja verde que va extendiéndose y aumentando en intensidad; el color va haciéndose más anaranjado-amarillento en las zonas más alejadas del nutriente.

Estas variaciones en el color son debidas al acúmulo de pigmentos accesorios (como los carotinoídes) y son comunes, en mayor o menor grado, a todos los componentes del fitoplancton. Normalmente, el

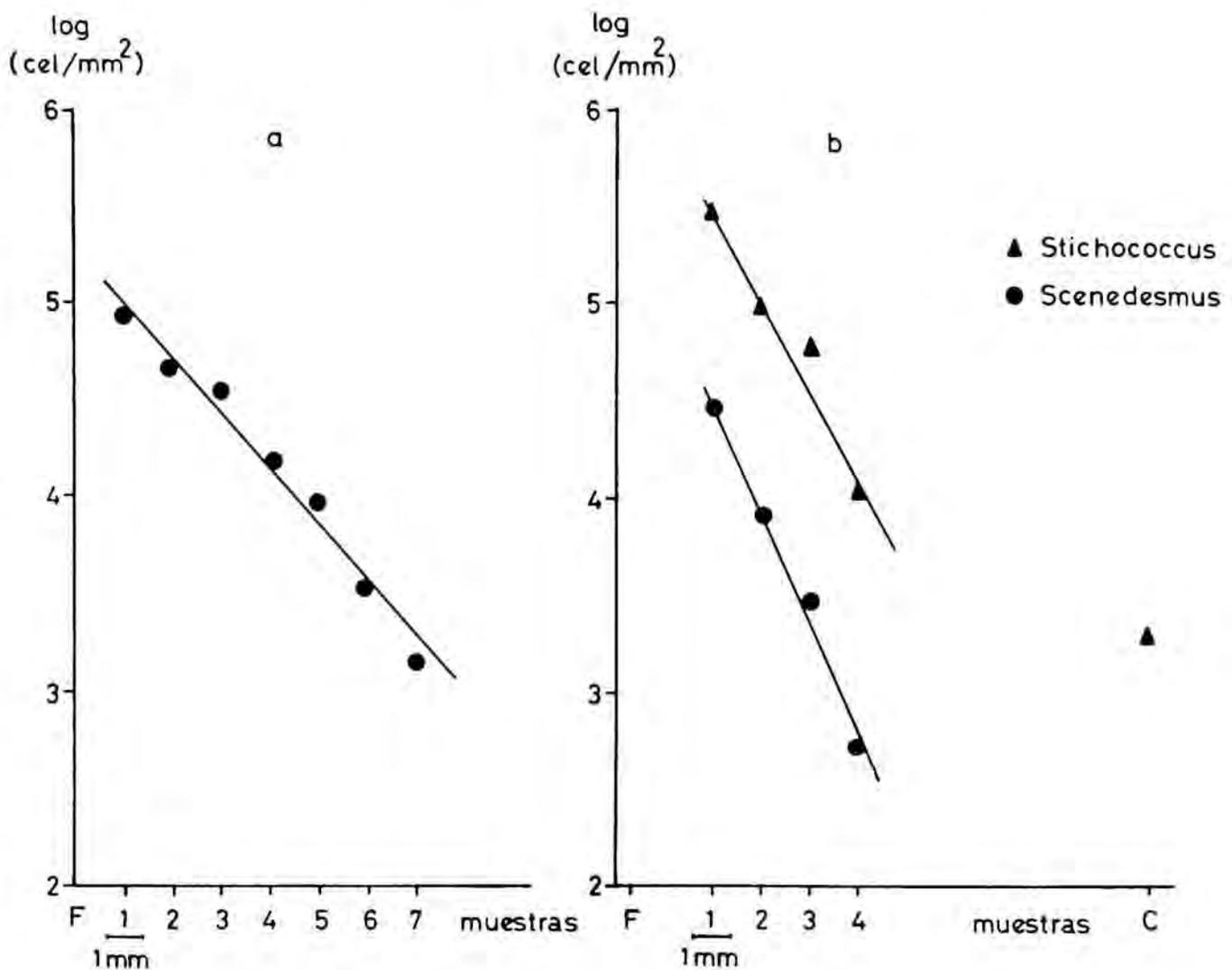


FIG. 2. — a (Izquierda): Distribución de *Scenedesmus quadricauda* en un cultivo en medio sólido con gradiente de nitrato. Se empleó una cubeta como la de la figura 1a. F indica la zona de aporte de nitrato. a (Left): Distribution of *Scenedesmus quadricauda* growing on solid medium in a nitrate gradient. Culture chamber as in fig. 1a. F indicates the position of the nitrate source. b (Derecha): Distribución de *Stichococcus* sp. y de *Scenedesmus quadricauda* en un cultivo mixto con las mismas características que el de la fig. 2a. C indica la posición de una muestra de control, alejada de la fuente de nitrato (F). — b (Right): Distribution of *Stichococcus* sp. and *Scenedesmus quadricauda* in a mixed culture under conditions similar to those of 2a. C indicates the position of a control sample, far from the nitrate source (F).

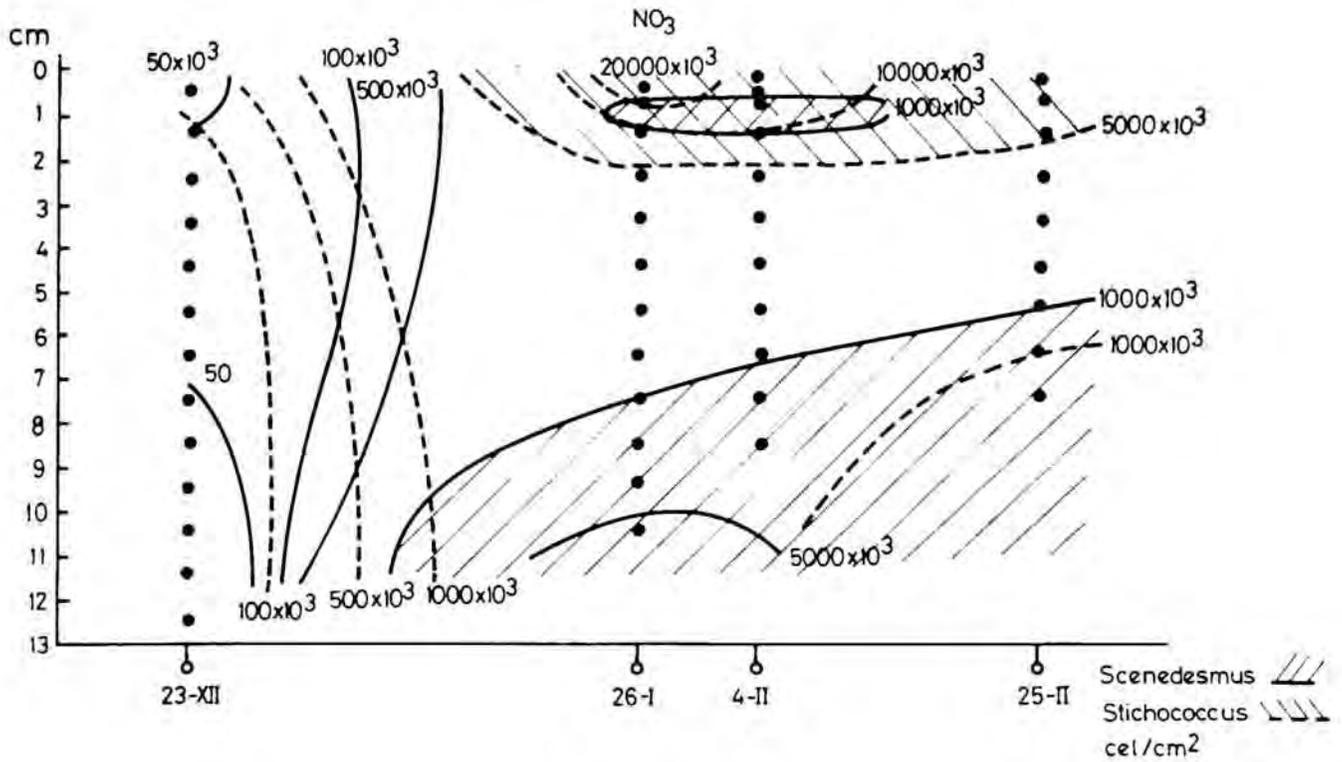


FIG. 3. — Evolución de la densidad de población de *Scenedesmus quadricauda* y de *Stichococcus* sp. durante el experimento de la tabla 2.  $\text{NO}_3$  señala el extremo de aporte de nitrato. — Variation of the population density of *Scenedesmus quadricauda* and *Stichococcus* sp. during the experiment summarized in table 2.  $\text{NO}_3$  indicates the position of the nitrate source.

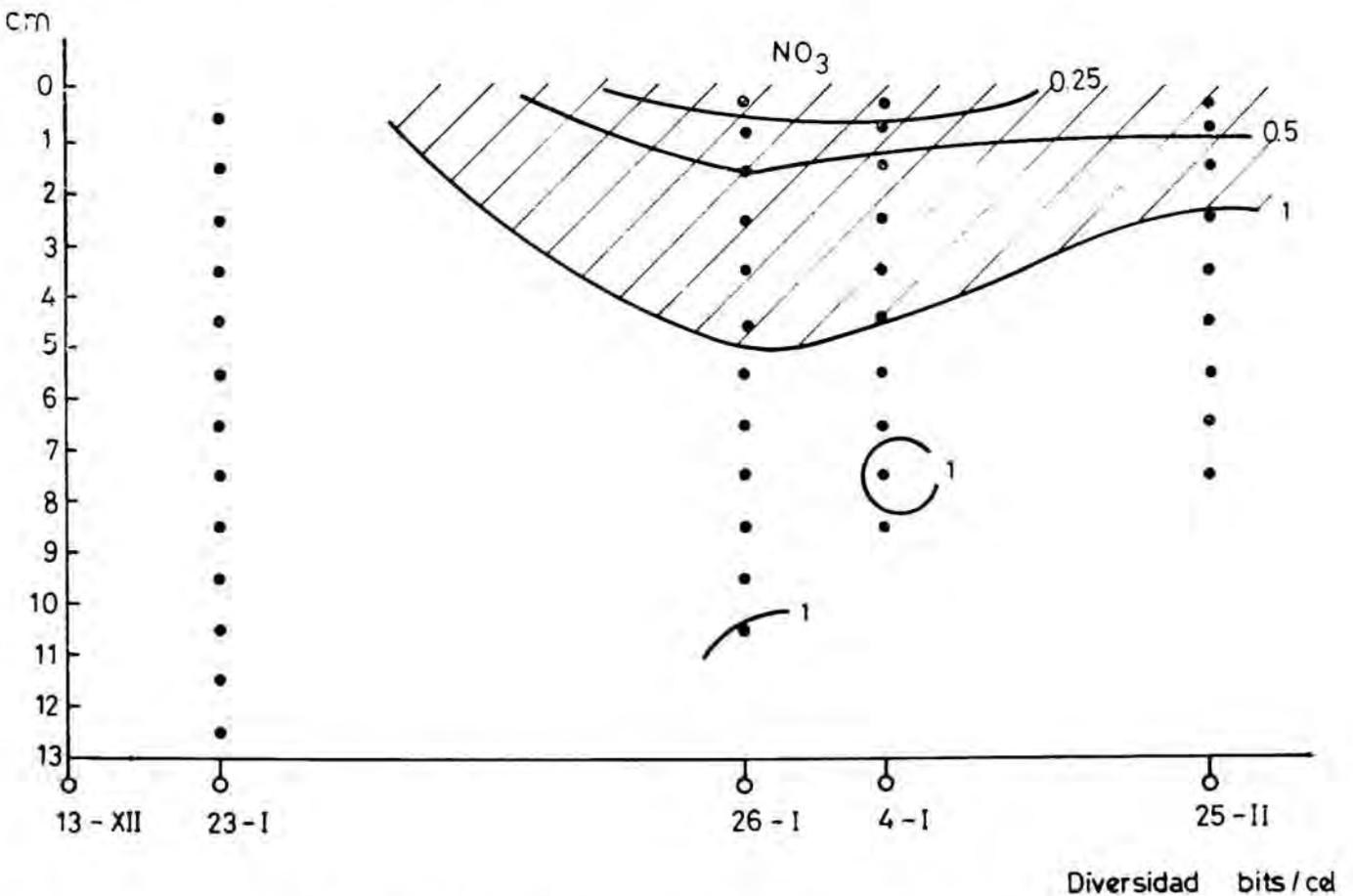


FIG. 4. — Evolución de la diversidad en el experimento de la tabla 2.  $\text{NO}_3$  señala el extremo de aporte de nitrato. — Variation of the diversity during the experiment summarized in table 2.  $\text{NO}_3$  indicates the nutrient source.

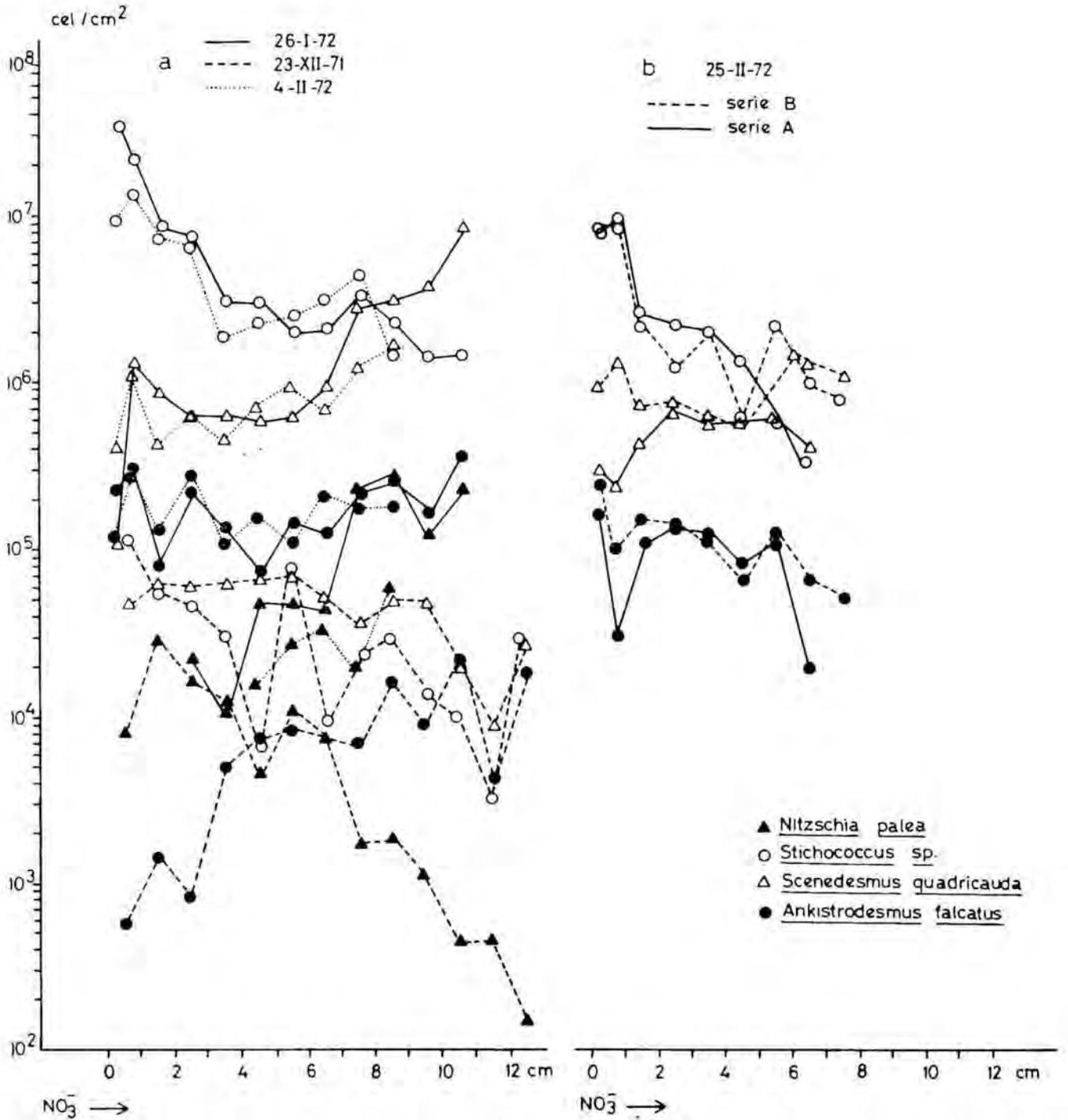


FIG. 5 a, b. — Distribución de la densidad de población (células/cm<sup>2</sup>) de las distintas especies en los sucesivos muestreos del experimento de la tabla 2. NO<sub>3</sub> indica el extremo de aporte de nitrato. — *Distribution of the population densities of the different species (cells/cm<sup>2</sup>) in the successive samplings of the experiment described in table 2. NO<sub>3</sub> indicates the nitrate source.*

muestreo se hacía cuando el gradiente de pigmentación era bien aparente a simple vista. En estas condiciones se halló que la distribución del número de células por unidad de superficie presentaba una variación aproximadamente exponencial a partir del punto de aporte de nutriente. En las figuras 2a y 2b se presentan los resultados de unas experiencias realizadas con cubetas

de vidrio. En una de las cubetas se sembró únicamente *Scenedesmus quadricauda*; en la otra, una mezcla de *S. quadricauda* y *Stichococcus sp.*; se establecieron gradientes de nitrato. El tipo de distribución resultante puede ser muy diferente si la concentración de nitrato utilizada en el depósito es tan elevada que produce efectos inhibitorios, como se comprobó en uno de los experimentos.

TABLA 3. — Experimento: S.q./C/4-71. Cubeta como la de la figura 1c. Siembra: 17-IV-71. Suspensión de *Scenedesmus quadricauda*. Fuente de nutriente: En un extremo WM sin nitrato; en el otro WM con 500  $\mu\text{g-at/l}$   $\text{N-NO}_3^-$ . Fecha de muestreo: 9-VII-71.

Distancia al reservorio (cm)	(Células/cm <sup>2</sup> ) $\times 10^{-6}$	Clorofila $\mu\text{g/cm}^2$	$D_{430}/D_{665}$	Clor./cel. $\mu\text{g}/10^6$ cel.
0,5	0,63	2,37	5,63	0,44
1,5	0,44	2,27	5,00	0,51
2,5	0,43	2,87	5,08	0,66
3,5	0,55	3,78	4,73	0,68
4,5	0,54	7,81	3,25	1,45
5,5	0,82	8,06	3,28	0,98
6,5	1,32	—	—	—
7,0	—	13,61	3,55	1,05
7,5	1,28	—	—	—
8,5	0,75	13,10	2,85	1,74
9,5	0,95	17,95	2,63	1,89
10,5	1,44	27,40	2,43	1,90
11,5	1,57	34,02	2,29	2,16
12,5	2,13	49,77	2,27	2,33

del número de células de las diversas especies se debe a la interacción del aporte de nitrato con los efectos de la competencia; el resultado es complejo, como puede observarse; al principio, todas las especies presentan la típica distribución exponencial decreciente a partir de la zona de enriquecimiento; más tarde, se imponen los efectos de la competencia, a causa de la disminución relativa del aporte de nitrato y del agotamiento de otros nutrientes y del espacio disponible, aunque continúa el aspecto exponencial de las distribuciones, decrecientes hacia la zona opuesta al nutriente en el caso de la especie dominante, *Stichococcus sp.*, crecientes en el caso de la segunda en abundancia, *Scenedesmus quadricauda*. Las dos series, A y B, muestreadas el 25 de febrero, corresponden a placas diferentes; aunque los números absolutos en cada serie son bastante distintos, las proporciones relativas de las diversas especies son, en conjunto, comparables.

#### Cultivos con gradientes opuestos

En el experimento descrito en la tabla 3 se introdujo en uno de los extremos de la cubeta medio de cultivo con 50  $\mu\text{g-at}$  de  $\text{N-NO}_3^-$ , y, en el otro, medio de cultivo carente de nitrato; se observó al principio la aparición de la distribución acostumbrada, con un color verde más intenso en las proximidades del nitrato; apareció un «pattern» complejo, con fajas de composición pigmentaria muy distinta en el centro del recipiente; más adelante, fue incrementándose el color verde en la zona opuesta a la de aporte de nitrato, hasta que la distribución acabó invirtiéndose completamente; los resultados del muestreo final pueden verse en la figura 6. La frontera entre la zona verdosa y la amarillenta, al ir avanzando el nitrato desde un lado, fue progresando regularmente hacia el otro. La variación global que se presentó puede explicarse como debida a que, al irse agotando todos los demás nutrientes en la zona de aporte de nitrato, se limitó el crecimiento algal y el consumo de nitrato en este lado, con lo que aumentó la difusión de nitrato hacia el extremo opuesto. Las franjas netamente diferenciadas que aparecieron en el centro del cultivo pare-

TABLA 4. — Experimento: S.q.-S./B/2-70. Cubeta como la de la figura 1b. Siembra: 11-II-70. Suspensión con  $46 \times 10^3$  cel/ml de *Scenedesmus quadricauda* (Sce) y *Stichococcus sp.* (Sti) en la proporción 1:0,4. Reservorios de nutriente: En un extremo, WM con 10 mg-at/l de N-nitrato, sin fosfato, y en el otro, WM con 5 mg-at/l de P-fosfato, sin nitrato. Fecha de muestreo: 31-III-70.

Distancia al reservorio (cm)	(Células/cm <sup>2</sup> ) $\times 10^{-6}$		Clorofila $\mu\text{g/cm}^2$	$D_{430}/D_{665}$	Clor./cel. $\mu\text{g}/10^6$ cel.
	Sce	Sti			
0,25	—	—	0,90	2,4	—
0,75	0,23	5,92	0,83	2,5	0,14
1,25	0,16	4,00	2,05	2,8	0,49
1,75	0,26	6,00	3,65	2,8	0,61
2,25	0,25	7,42	6,84	2,4	0,89
2,75	0,03	7,89	17,78	2,1	2,25
3,25	0,25	10,68	29,18	2,0	2,73
3,75	0,62	13,04	29,22	2,1	2,14
4,25	0,11	5,33	7,95	1,8	1,49

Las figuras 3 a 5 corresponden a un experimento (tabla 2) en que se sembraron simultáneamente varios recipientes de cultivo de los que se tomaron muestras pasados ciertos intervalos de tiempo. La distribución

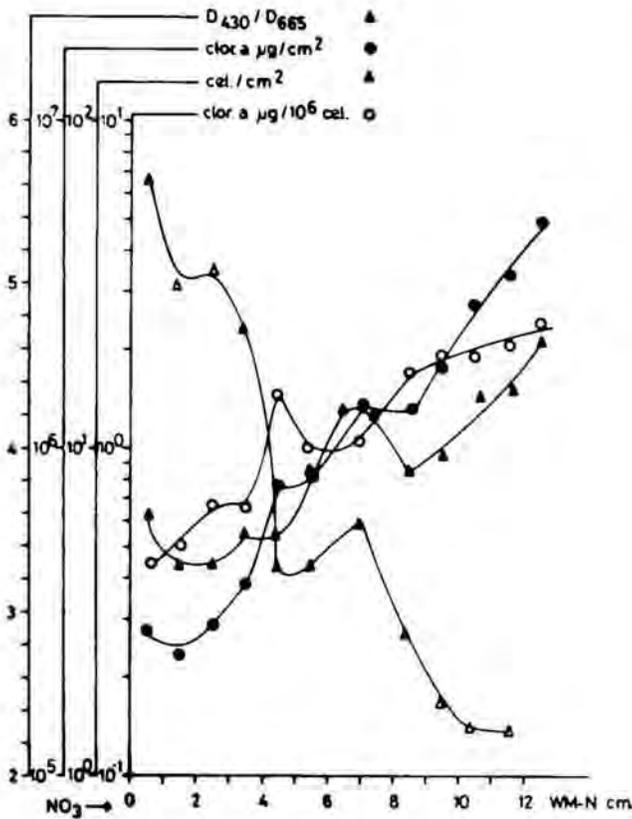


FIG. 6. — Distribución de diversos parámetros al final del experimento de la tabla 3. Cel/cm<sup>2</sup>=número de células de *Scenedesmus quadricauda* por cm<sup>2</sup>; Clor a=clorofila a, µg/cm<sup>2</sup>; Clor a µg/10<sup>6</sup> cel.=µg de clorofila a por millón de células. NO<sub>3</sub> indica el extremo con la fuente de nitrato; WM-N el extremo con medio de cultivo sin nitrato. — *Distribution of several parameters at the end of the experiment summarized in table 3. Cel/cm<sup>2</sup>=number of Scenedesmus quadricauda cells per cm<sup>2</sup>; Clor a=chlorophyll a, µg/cm<sup>2</sup>; Clor a µg/10<sup>6</sup> cel.=µg of chlorophyll a per one million cells. NO<sub>3</sub> indicates the side neighboring the nitrate source; WM-N the side neighboring culture medium without nitrate.*

cen deberse a fenómenos de interacción entre el crecimiento algal y el aporte y agotamiento de los diversos nutrientes.

En varios experimentos, de los que aquí se menciona sólo uno (tabla 4), se estableció un gradiente de nitrato desde un lado y de fosfato desde el opuesto. La evolución del cultivo es típica: aparece primero una banda de crecimiento más intenso, situada aproximadamente en el centro de la placa, que va desplazándose en días sucesivos hacia la zona de aporte de nitrato. La gráfica del logaritmo del número de células por unidad de superficie en el sentido de los gradientes opuestos es asimétrica (fig. 7). A partir del máximo, más próximo al nitrato, decrece linealmente hacia ambos lados, con pendiente menor hacia la zona de aporte de fosfato. Cuando se utilizaron dos

especies, *Scenedesmus quadricauda* y *Stichococcus*, sp., pudo observarse siempre un predominio final de *Stichococcus* sp. La relación entre las concentraciones de nitrato y fosfato (µg-at de N o P/l) de las respectivas fuentes de aporte era 2, mientras que la relación N/P (átomos) es aproximadamente de 14 para los organismos (véase, por ejemplo, MARGALEF, 1974), lo que hace suponer que se presentó una escasez relativa de nitrato en la zona de crecimiento, por lo que ésta tuvo que irse desplazando hacia la zona de enriquecimiento en nitrato.

#### *Variaciones cualitativas y cuantitativas de los pigmentos fotosintéticos*

La cantidad de clorofila a por unidad de superficie presenta una distribución similar a la del número total de células (figs. 6, 7), con valores decrecientes a partir de la zona de aporte de nutriente.

La comparación detallada entre la forma de variación de la clorofila y la del número de células presenta aspectos complejos; la cantidad de clorofila por célula presenta variaciones muy amplias, como se ve en las tablas y en las gráficas. Parte de estas variaciones es debida a problemas del método de muestreo; como ya se ha dicho anteriormente, los recuentos de células son muy poco precisos; no obstante, pueden señalarse ciertas características generales. En los experimentos en que predomina claramente una sola especie en el momento del muestreo, se encuentra que la cantidad de clorofila por célula tiende a ser mayor cerca del lugar de suministro de nutriente, donde los valores absoluto de la concentración de clorofila y de células son mayores (fig. 6); podemos suponer que las células pertenecientes a esta zona son también las que se hallan en crecimiento más activo.

Los valores de la relación clor. a/cél. hallados para *Scenedesmus quadricauda* en las experiencias en medio sólido descritas en este trabajo se sitúan dentro de los límites (0,15 a 6,2 µg de clor. a/10<sup>6</sup> cél.) hallados por BLASCO (1971) para cultivos en medio líquido de esta misma especie. Estas cifras cubren la mayor parte del rango de variación de la cantidad de clorofila por célula en el conjunto de las algas unicelulares.

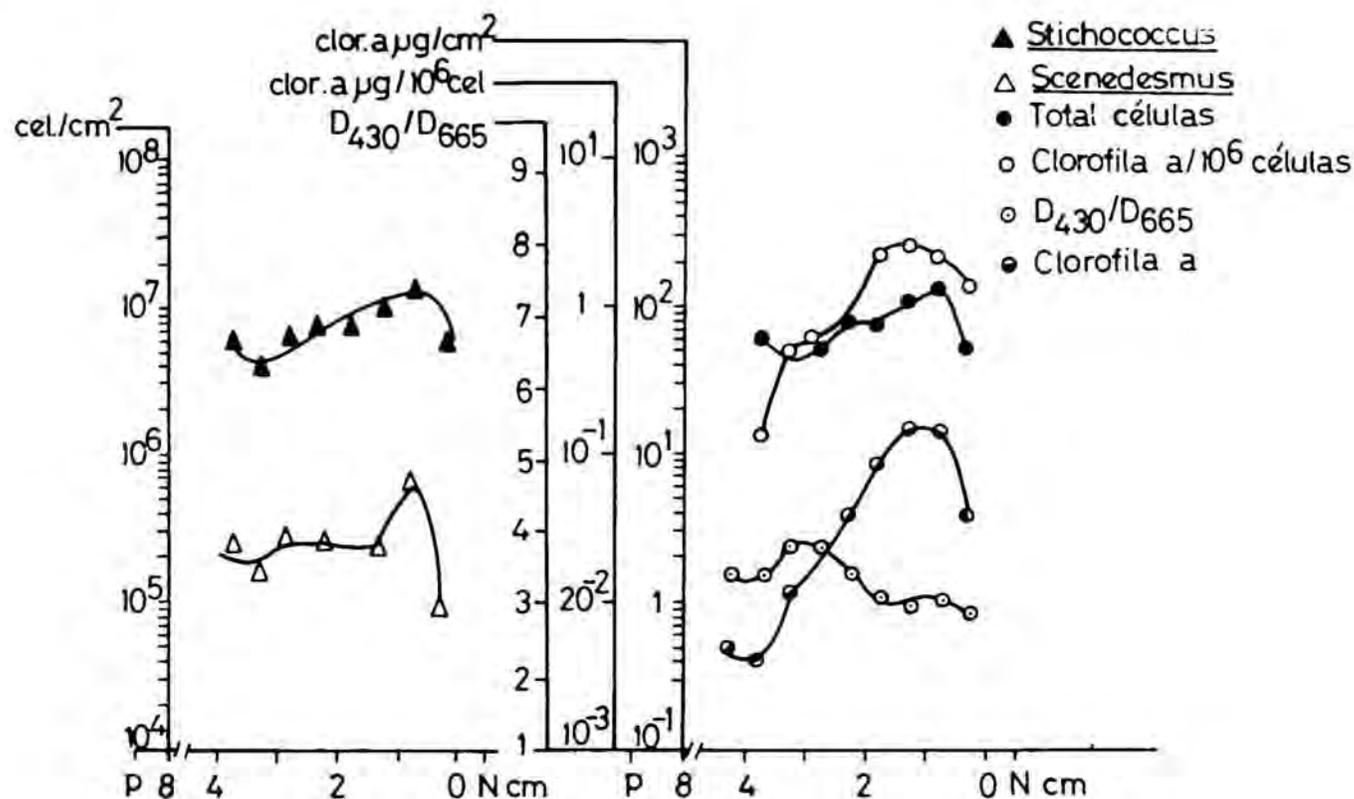


FIG. 7.—Distribución de las variables estudiadas en el muestreo final del experimento de la tabla 4. N indica el extremo de aporte de nitrato y P el de aporte de fosfato. — *Distribution of the variables at the end of the experiment summarized in table 4. N indicates the side of nitrate enrichment, and P the side of phosphate enrichment.*

En el experimento de la tabla 2, en que la población comprendía especies de tamaños muy distintos, la cantidad de clorofila por célula presenta una distribución poco clara, aunque cuando se consideran las sucesivas muestras se aprecia también que la concentración absoluta de clorofila y la relación *clor. a/cél.* son muy elevadas al principio, mientras que disminuyen mucho en fases posteriores, en que prácticamente se anula la tasa de crecimiento.

Los cambios cuantitativos en la concentración de pigmentos están asociados a variaciones cualitativas, que pueden manifestarse, por ejemplo, en las fluctuaciones del cociente  $D_{430}/D_{665}$  (MARGALEF, 1960, 1974), entre las densidades ópticas a 430 y 665 nm, respectivamente. La relación  $D_{430}/D_{665}$  puede proporcionar una información útil y fácil de obtener sobre el estado fisiológico de las células; de un modo general, como puede verse en las figuras, su valor aumenta en las zonas con deficiencias nutritivas y presenta en conjunto variaciones opuestas a las de la concentración de clorofila.

Las regularidades discutidas en los párrafos anteriores son típicas de las poblaciones de fitoplancton en el laboratorio y en la naturaleza; la relación clorofila *a*/biomasa disminuye y el cociente  $D_{430}/D_{665}$  aumenta a lo largo del desarrollo de una población o a lo largo de una sucesión (MARGALEF, 1974).

## DISCUSIÓN

### *Variaciones en la composición específica de los cultivos*

Aunque los experimentos realizados son muy simplificados, pueden verse en ellos aspectos generales de las relaciones entre estructura y flujo de energía; un elevado flujo de energía lleva a una selección de las especies de tasa de reproducción más elevada y a una simplificación de la comunidad; en el experimento de la tabla 2, en que se sembraron varias especies, se ven claramente estas relaciones; la diversidad, es decir, la variedad en la composición es-

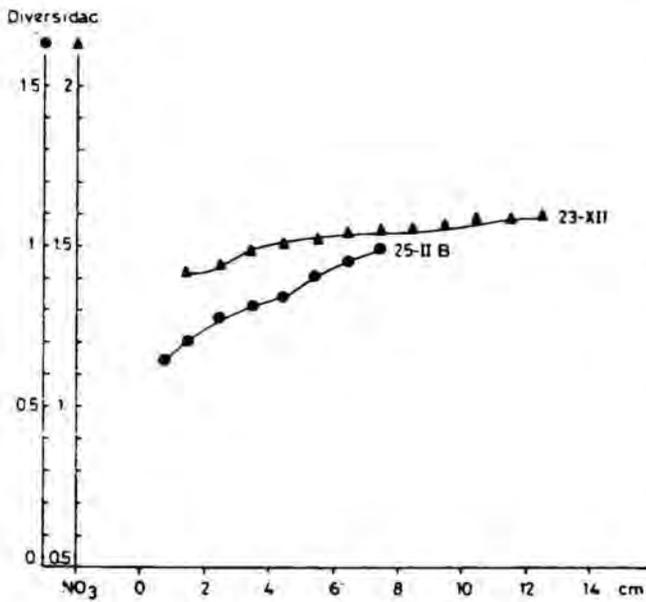


FIG. 8. — Espectros de diversidad (véase texto) correspondientes a los muestreos de los días 23-XII y 25-II (B) en el experimento de la tabla 2. Se han utilizado distintas posiciones de la escala de diversidad (ordenadas), con el fin de facilitar la comparación de las curvas. — Diversity profiles (see text) corresponding to the sampling dates 23-XII (A) and 25-II (B) of the experiment described in table 2. Two positions of the ordinate scale have been used to facilitate the comparison of the graphs.

pecífica (respecto al concepto de diversidad, véase MARGALEF, 1974) es artificialmente alta al principio debido a las proporciones de las diversas especies mezcladas en el inóculo; al establecerse el aporte de nutriente, la diversidad disminuye, para aumentar luego al disminuir la tasa de crecimiento; son interesantes también las variaciones en el espectro de diversidad obtenido combinando las proporciones de las diferentes especies en muestras sucesivas (fig. 8). El espectro pasa de un tipo rectangular (MARGALEF, 1974) al principio, a uno más diagonal al final.

Otro aspecto que merece ser comentado es el hecho de que, en los experimentos con varias especies, las curvas de abundancia de cada una de ellas a lo largo del gradiente considerado varían de modo gradual; según PIELOU (1974), éste es el resultado que cabría esperar, de acuerdo con el modelo de competencia de Volterra-Lotka, si en las zonas de transición las especies coexisten en equilibrio estable.

En los experimentos realizados en medio sólido no se pueden sacar muchas conclusiones respecto a la obtención de un estado

de equilibrio; la evolución de los cultivos es muy lenta después de las fases iniciales, y factores como la escasez de otros nutrientes, además del que ocasiona el gradiente principal, pueden introducir efectos no controlados. Lo que sí es interesante destacar es la importancia que puede tener un gradiente de concentración en un nutriente limitante, para el establecimiento de distribuciones relativamente complejas en las especies componentes de una población mixta.

#### Relaciones entre las variantes en el tiempo de algunos parámetros globales

El experimento de la tabla 2 se presta a hacer algunas consideraciones sobre las relaciones entre la variabilidad temporal de algunos de los parámetros. Como una medida global de estructura se ha tomado la diversidad (bits/célula) calculada por el índi-

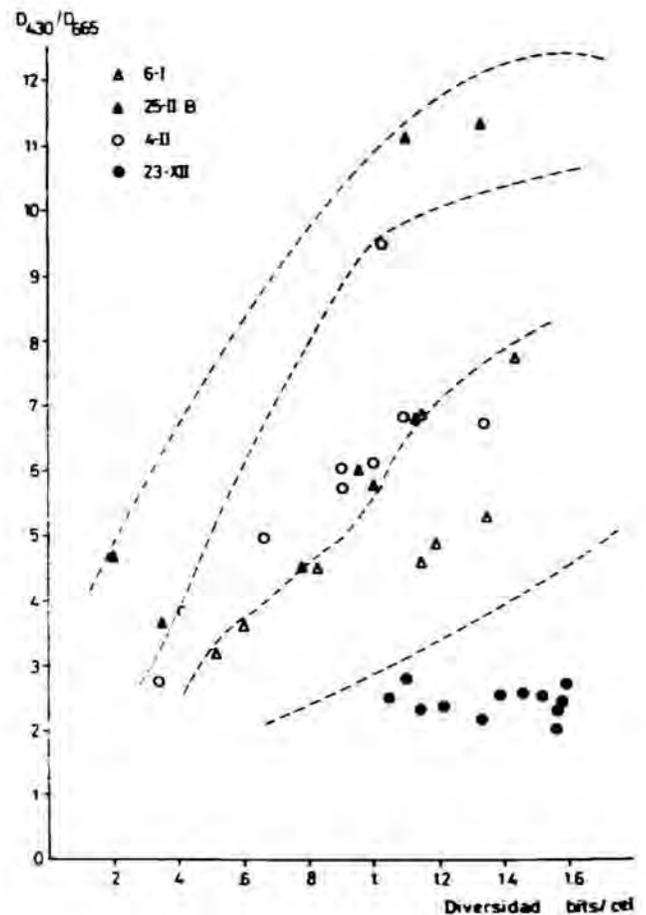


FIG. 9. — Diagrama de dispersión de los valores de diversidad y del cociente  $D_{30}/D_{65}$  en los sucesivos muestreos llevados a cabo en el experimento de la tabla 2. — Point scatter diagram of the values of diversity and relation  $D_{30}/D_{65}$  corresponding to the successive samplings carried out in the experiment of table 2.

ce de Shannon. El cociente productividad/biomasa sería el parámetro más adecuado para expresar la funcionalidad del sistema, pero, en este caso, no se dispone de los datos de productividad; por ello, se ha tomado la relación  $D_{430}/D_{665}$  como indicadora del estado fisiológico de la comunidad. El diagrama de dispersión de ambos parámetros para las muestras disponibles se presenta en la figura 9. Se aprecia claramente que entre el muestreo del 23-XII y el del 26-I aumenta mucho el rango de valores de los dos parámetros; a lo largo de los sucesivos muestreos varía poco el rango de valores de la diversidad, mientras que sigue aumentando la dispersión del cociente  $D_{430}/D_{665}$ . En la tabla 5 se resumen algunas propiedades estadísticas de los parámetros considerados, calculadas para las sucesivas tomas de muestras. Si se considera individualmente cada transecto (a excepción del correspondiente al 23-XII), se observa, como podía esperarse, una correlación positiva entre  $D_{430}/D_{665}$  y diversidad; sin embargo, como se ve en la figura 10, las variaciones en el tiempo de las medias de estos parámetros ofrecen aspectos muy distintos. La derivada de la media de  $D_{430}/D_{665}$  respecto al tiempo,  $d(D_{430}/D_{665})/dt$ , es positiva y prácticamente constante a lo largo de todo el período considerado;  $d(\text{div.})/dt$ , debido a las condiciones iniciales del experimentos, es ne-

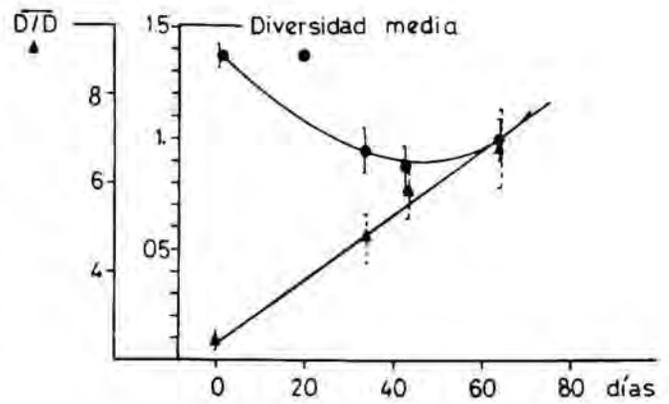


FIG. 10. — Variación de los valores medios de diversidad y del cociente  $D_{430}/D_{665}$  en los sucesivos muestreos del experimento de la tabla 2. — Variation of the mean values of diversity and relation  $D_{430}/D_{665}$  in the successive samplings carried out in the experiment of table 2.

gativa primero, pasa por un mínimo y se hace positiva después. Desde luego, el ejemplo considerado es muy incompleto, pero consideraciones de este tipo pueden ser interesantes para indicar caminos de análisis que podrían emplearse en el estudio de datos más adecuados.

*Interpretación matemática de las distribuciones obtenidas*

Para profundizar en la interpretación de los resultados se plantea el problema de hallar la distribución de la concentración de nutriente a lo largo del gradiente. CALDWELL *et al.* (1973) calcularon mediante métodos numéricos el gradiente promedio de concentración que se obtenía en sus placas. Obtuvieron la ecuación:

$$C = 0,17(C_0)e^{-0,57X} + C'$$

donde  $C_0$  es la concentración en el reservorio,  $C'$  es la concentración en el baño y  $X$  es la distancia desde el reservorio.

Este resultado teórico fue comprobado tomando muestras de placas en las que se había establecido un gradiente de acetato marcado con  $^{14}C$ ; se verificó también que gradientes de otras sustancias (fosfato o acetato) introducidas en dirección perpendicular no afectaban los resultados. Sin embargo, esta ecuación no puede utilizarse en la interpretación de los datos experimentales, ya que el crecimiento de los organismos en la

TABLA 5. — Parámetros estadísticos de los valores de diversidad y del cociente  $D_{430}/D_{665}$  en el experimento de la tabla 2.

Fecha:	25-XII	26-I	4-II	25-II (B)
<i><math>D_{430}/D_{665}</math> (D/D)</i>				
Media	2,43	4,76	5,81	6,78
Desviación típica	0,22	1,64	1,91	2,76
<i>Diversidad</i>				
Media	1,37	0,94	0,86	0,98
Desviación típica	0,20	0,40	0,32	0,30
<i>Coefficiente de correlación entre Diversidad y D/D</i>				
	-0,12	0,85	0,79	0,70
<i>Coefficiente de regresión (p)</i>				
Diversidad = $p(D/D) + C$		0,21	0,13	0,08

capa de agar-agar condiciona la distribución del nutriente. Por ello, en el presente trabajo se decidió hacer un modelo, lo más sencillo posible, que permitiera estudiar las interacciones entre difusión del nutriente limitante y el crecimiento de los microorganismos. Como las variaciones que interesaba estudiar eran las que aparecían en la dirección del gradiente, se consideró en el modelo un recipiente de cultivo ideal de 10 cm de longitud, dividido en 100 compartimentos cuadrangulares dispuestos en serie; lo que representa, a efectos del cálculo, una anchura de malla de 1 mm.

Para representar la variación de la concentración de nutriente debida a la difusión se emplea la ley de Fick:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d^2S}{dX^2}, \quad [1]$$

donde  $S$  es la concentración de nutriente y  $X$  ( $0 \leq X \leq L$ ,  $L = 10$  cm) la dimensión espacial en la dirección del gradiente.

La ecuación utilizada para calcular el crecimiento de la especie algal  $i$  es:

$$\frac{dF_i}{dt} = F_i r_i Q, \quad [2]$$

$$\text{donde } Q = \min \left\{ \frac{S}{S + Km_i}, \frac{K_i - F_i}{K_i} \right\}$$

$F_i$  es la biomasa de la especie  $i$  (medida, por ejemplo, en células por  $\text{mm}^2$ ),  $r_i$  es la tasa máxima de crecimiento instantáneo,  $Km_i$  una constante que indica el grado de afinidad por el nutriente y  $K_i$  la biomasa de saturación de la especie  $i$ .

La expresión  $S/(S + Km)$  es una de las más utilizadas en los modelos de cinética del crecimiento del fitoplancton; está basada en la ecuación de Michaelis-Menten, que se aplica a ciertas reacciones enzimáticas; FOGG (1965) y DUGDALE (1967), entre otros, la han aplicado en el campo de la fisiología del fitoplancton. En el presente trabajo se ha escogido, simplemente, porque es fácil de calcular y permite simular convenientemente el tipo de dependencia que suele hallarse entre la concentración de un nutriente limitante y la velocidad de crecimiento de un microorganismo; para concentraciones bajas de nutriente, las variaciones de esta velocidad son aproximadamente pro-

porcionales a las de la concentración del nutriente; para concentraciones altas, la velocidad de crecimiento se aproxima asintóticamente a la máxima,  $r$ .

El término  $\frac{K_i - F_i}{K_i}$ , utilizado en las ecuaciones de tipo logístico, expresa un efecto frenador del crecimiento dependiente de la densidad de población; la ocurrencia de un efecto de este tipo es verosímil, debido a las limitaciones impuestas por el espacio disponible en los recipientes de cultivo.

De acuerdo con [2], la tasa de crecimiento de cada especie viene limitada bien por la concentración de nutriente, bien por la densidad de población, según cual de las expresiones,  $\frac{S}{S + Km_i}$  o  $\frac{K_i - F_i}{K_i}$ , sea mínima.

En este modelo, la competencia entre especies puede expresarse, por ejemplo, mediante términos como los utilizados en las ecuaciones de Volterra-Lotka. En este caso, en lugar de  $F_i$ , densidad de población de la especie  $i$ , se empleó  $F_i^*$ :

$$F_i^* = \sum_{j=1}^N a_{ij} F_j,$$

$N$  = número de especies,  $a_{ij}$  = coeficiente de competencia de la especie  $j$  sobre la especie  $i$ ;  $a_{ii} = 1$ .

La variación total en la concentración de nutriente limitante será, pues:

$$\frac{dS}{dt} = -D \frac{d^2S}{dX^2} - C_2 \frac{dF}{dt}, \quad [3]$$

donde  $F = \sum F_i$ . Las condiciones de frontera aceptadas en el estudio son:

$$\frac{dS}{dX} = 0, \text{ para } X = L, \text{ donde } L \text{ es la longitud total del recipiente.}$$

$$\frac{dS}{dX} = 0, \text{ para } X = 0.$$

El primer compartimento representa el reservorio de nutriente y se acepta que:

$$S(1) = S_0,$$

donde  $S_0$  es una constante que representa la concentración de la solución de nutriente introducida en el reservorio. Para eva-

luar el error cometido al suponer  $S(1)$  constante, se hicieron algunas simulaciones en que se aceptó que el nutriente difundido desde el reservorio no era reemplazado; como ocurría aproximadamente en el caso real, se consideró el depósito de nutriente como constituido por un equivalente de 10 compartimentos no agitados. Los resultados obtenidos fueron cualitativamente similares, aunque, como era de esperar, la concentración de nutriente descendía más de prisa si no había sustitución; los experimentos correspondían a una situación intermedia, con adición de nutriente a intervalos de varios días.

Evidentemente, se cumple también que  $F(1) = 0$ , es decir, no hay algas en el primer compartimento o reservorio.

Para  $t = 0$ , se tiene  $F_i(k) = F_{i0}(k)$ ,  $1 \leq k \leq N$ , donde  $N$  es el número de compartimentos y  $F_{i0}(k)$  es la densidad inicial de la población algal sembrada en el recipiente.

Aparte de los valores iniciales de las variables, hay que introducir en el modelo valores numéricos de los parámetros siguientes:

$r$  (días<sup>-1</sup>), tasa máxima de crecimiento instantáneo.

$C_1$  coeficiente de difusión del nutriente limitante (mm<sup>2</sup>/día).

$C_2$  (nanog/célula), cantidad de nutriente contenido en cada célula. Se ha considerado como constante, para simplificar.

$C_3$  (nanog/mm<sup>3</sup>), coeficiente de afinidad por el nutriente ( $Km$ ).

Las expresiones [2] y [3] se pusieron en forma de diferencias finitas para posibilitar su resolución numérica por medio del ordenador; se empleó para la integración el método de Euler. La unidad de tiempo empleada en los parámetros en que éste interviene es el día; después de algunos ensayos previos se emplearon, según los casos, intervalos de integración de 0,01 o de 0,003 días.

El programa se escribió en Fortran IV básico; se previó la posibilidad de considerar hasta cuatro especies diferentes, con sus correspondientes parámetros de crecimiento y de afinidad por el nutriente limitante.

Se pasó el programa con diversas combinaciones de valores de los parámetros; las variaciones en éstas no modifican esencial-

mente los tipos de distribución obtenidos, aunque producen una serie de cambios cuantitativos en los resultados; un análisis detallado de éstos sobrepasa los límites del presente trabajo. Como ejemplo, se muestran en la figura 11 tres fases de una de las simulaciones. Puede observarse que la distribución del logaritmo de la concentración de microorganismos, a partir de una corta distancia del punto de aporte de nutriente, aparece como una línea aproximadamente recta, cuya pendiente negativa varía según los parámetros  $r$  y  $Km$  de las especies consideradas en la simulación.

Como se ve en la figura 11, al principio, el crecimiento de los microorganismos, con la consiguiente utilización de nutriente, va limitando cada vez más el transporte de éste. Más tarde, el frenado del crecimiento hace que el consumo de nutriente disminuya y vuelva a aumentar su concentración en el recipiente de cultivo. En este proceso aparecen fluctuaciones en la tasa de variación de la concentración de nutriente.

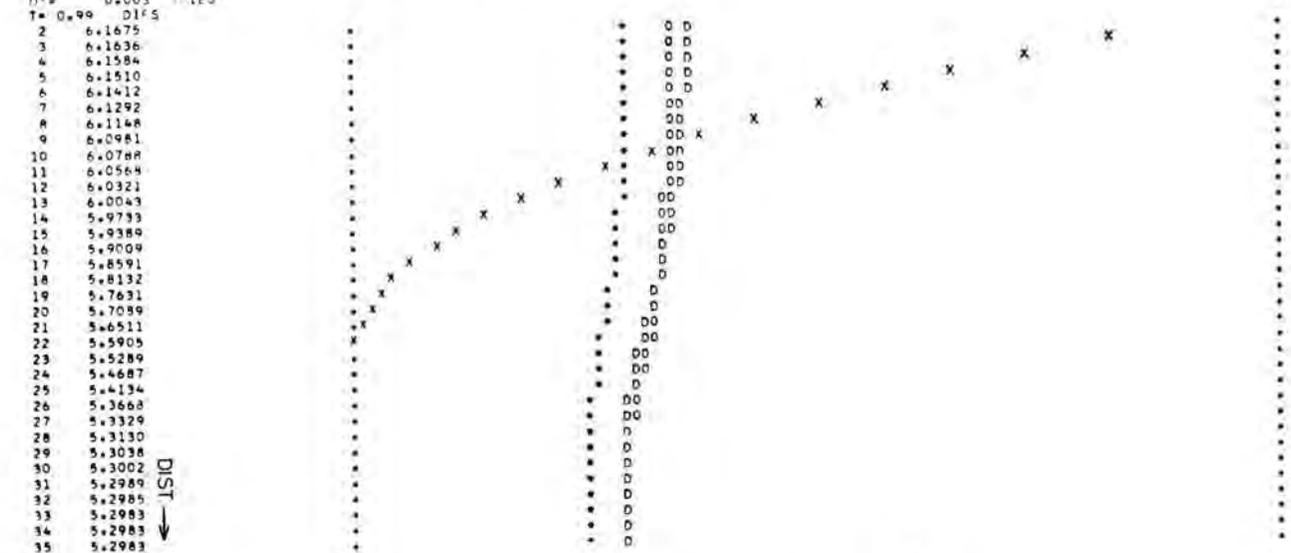
En líneas generales, las distribuciones halladas en las simulaciones son similares a las obtenidas en los experimentos, aunque existen una serie de puntos, como el de la naturaleza de las interacciones entre especies, cuyo estudio requiere una revisión a fondo. El sencillo modelo de simulación expuesto en los párrafos anteriores se halla en una fase preliminar y, por el momento, intenta solamente esclarecer algunas de las características más generales de las distribuciones obtenidas en los experimentos de laboratorio.

#### *Comparación de los resultados obtenidos en el laboratorio con datos de campo*

Puede ser interesante comentar las posibles relaciones, salvando cambios de escala, de los experimentos realizados con fenómenos que ocurran en condiciones naturales.

Las condiciones de regularidad en el modo de variación de los factores ambientales (suministro de nutriente, etc.) a lo largo de la duración de los experimentos de laboratorio, hace que se tenga que ir a buscar un posible paralelo en sistemas naturales que puedan considerarse, desde una escala adecuada de observación, en estado estacionario.

UNITATS: MILIMETRES, NANOGRAMS, DIES  
 CONC. DE SATURACIÓ (X)  
 0.10F 05 0.12F 08  
 COFF. COMPETENCIA X SORRE I. FILES= 1.A11(X)K=LXKT  
 0.10F 01 0.10F 00  
 0.00F 00 0.10F 01  
 LIM INF I SUP CONC NUTRIENT (X), 10. DFL LN CONC ALGUES (+)  
 0.00E 00 0.14F 01 0.00E 00 0.20E 02  
 LIM INF I SUP DEL LN DF LES ESPECIES 0.0.0B+C  
 0.00F 00 0.15E 02 0.00E 00 0.15E 02  
 CONC NUTR INIC= 1.400 COEF DIF= 0.60E 02 NUTR/CFL= 0.66E-03  
 VMAX I CONST MICHAELIS ALGUES  
 0.75E 00 0.80E-03 0.10F 01 0.84E-02  
 CONC INIC ALGUES  
 0.10F 03 0.10F 03  
 DIF= 0.003 DIES



T= 0.99 DIES  
 2 6.1675  
 3 6.1636  
 4 6.1584  
 5 6.1510  
 6 6.1412  
 7 6.1292  
 8 6.1148  
 9 6.0981  
 10 6.0788  
 11 6.0564  
 12 6.0321  
 13 6.0043  
 14 5.9733  
 15 5.9389  
 16 5.9009  
 17 5.8591  
 18 5.8132  
 19 5.7631  
 20 5.7089  
 21 5.6511  
 22 5.5905  
 23 5.5289  
 24 5.4687  
 25 5.4134  
 26 5.3668  
 27 5.3329  
 28 5.3130  
 29 5.3038  
 30 5.3002  
 31 5.2989  
 32 5.2985  
 33 5.2983  
 34 5.2983  
 35 5.2983

T= 4.99 DIES  
 2 9.6757  
 3 9.6711  
 4 9.6645  
 5 9.6331  
 6 9.3905  
 7 9.0565  
 8 8.7515  
 9 8.4854  
 10 8.2614  
 11 8.0687  
 12 7.8998  
 13 7.7475  
 14 7.6061  
 15 7.4714  
 16 7.3399  
 17 7.2091  
 18 7.0768  
 19 6.9413  
 20 6.8009  
 21 6.6542  
 22 6.4989  
 23 6.3349  
 24 6.1639  
 25 5.9881  
 26 5.8120  
 27 5.6440  
 28 5.4990  
 29 5.3957  
 30 5.3389  
 31 5.3137  
 32 5.3039  
 33 5.3003  
 34 5.2990  
 35 5.2985

T= 9.98 DIES  
 2 11.7206  
 3 11.7205  
 4 11.5825  
 5 10.7030  
 6 9.8572  
 7 9.2289  
 8 8.7917  
 9 8.4945  
 10 8.2629  
 11 8.0690  
 12 7.8999  
 13 7.7476  
 14 7.6061  
 15 7.4714  
 16 7.3399  
 17 7.2091  
 18 7.0768  
 19 6.9413  
 20 6.8009  
 21 6.6542  
 22 6.4989  
 23 6.3349  
 24 6.1639  
 25 5.9881  
 26 5.8120  
 27 5.6440  
 28 5.4990  
 29 5.3957  
 30 5.3389  
 31 5.3137  
 32 5.3039  
 33 5.3003  
 34 5.2990  
 35 5.2985

COMPARTIMENTOS

LN (ALGAS POR COMPARTIMENTO)

DIST →

DIST →

DIST →

A gran escala, puede pensarse en zonas con afloramiento relativamente constante, como la del Perú, que ha sido muy estudiada últimamente por el grupo americano de C.U.E.A. (Coastal Upwelling Ecosystem Analysis) (WALSH y DUGDALE, 1971; WALSH *et al.*, 1971).

En un medio líquido, como el mar, la difusión turbulenta (*eddy diffusivity*) podría considerarse como de efectos análogos, a escala mucho mayor, a los de la difusión molecular. Conviene hacer notar que, precisamente, la definición del denominado coeficiente de difusión turbulenta ( $D_t$ ) fue adoptada, empíricamente, inspirándose en las ecuaciones empleadas en el estudio de la difusión molecular.

Se tiene (véase, por ejemplo, TENNEKES y LUMLEY, 1972; CSANADY, 1973):

$$\frac{\partial M}{\partial t} = D_m \frac{\partial^2 M}{\partial X^2} \quad [4]$$

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D_t \frac{\partial^2 S}{\partial X^2} \quad [5]$$

donde  $X$  indica la dimensión espacial y  $M$  y  $S$  las magnitudes cuya difusión, respectivamente molecular o turbulenta, se considera.  $D_m$  es el coeficiente de difusión molecular ( $L^2T^{-1}$ );  $D_t$  es el coeficiente de difusión turbulenta ( $L^2T^{-1}$ ).

$D_t$  no es una constante, varía según la escala espacial considerada; se han publicado muchos estudios sobre la formulación matemática de esta dependencia; en general

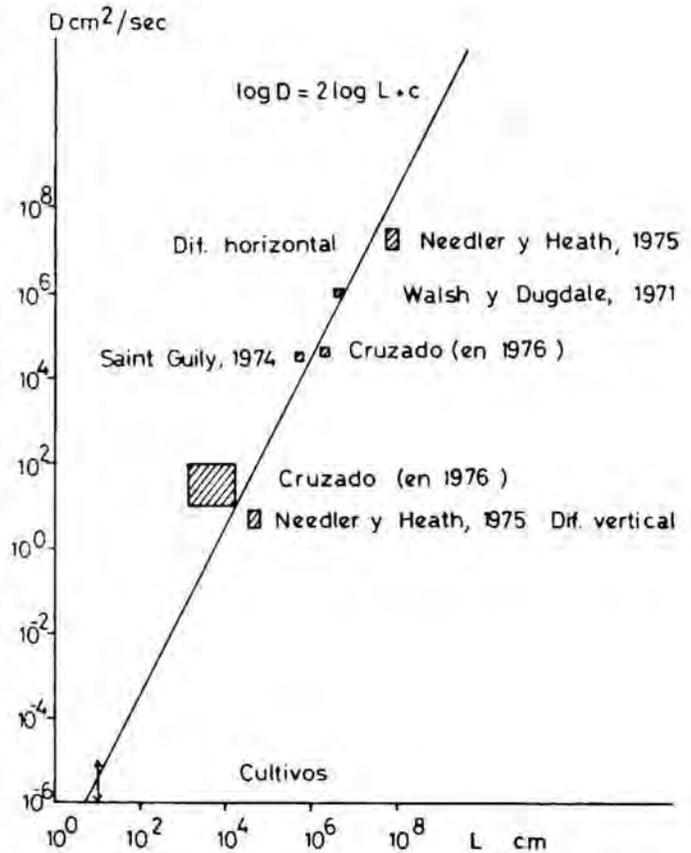


FIG. 12. — Relación entre coeficientes de difusión y escala espacial en el caso de los cultivos en medio sólido (difusión molecular) y de estimaciones obtenidas a partir de observaciones en el mar (difusión turbulenta).  $D$  indica el coeficiente de difusión y  $L$  la escala espacial. Los valores aceptados para  $D$  en el caso de los cultivos se han obtenido de datos hallados en la literatura para situaciones comparables (JACOBS, 1935; WESLEY, 1974). La línea de pendiente 2 se ha dibujado para referencia. — Relationship among diffusion coefficients and spatial scale for the cultures in solid medium (molecular diffusion) and for estimates obtained from observations at sea (eddy diffusivity).  $D$  indicates the diffusion coefficients and  $L$  the spatial scale. The values accepted for  $D$  in the culture experiments have been obtained from data given in the literature for similar conditions (JACOBS, 1935; WESLEY, 1974). The line of slope 2 has been drawn for reference.

FIG. 11. — Simulación en ordenador. Variación de la concentración de nutrientes ( $X$ ), del logaritmo neperiano del número total de células (\*) y del de cada una de las especies ( $O$ ) y ( $D$ ), en los compartimentos 1 al 35 para los tiempos 1, 5 y 10 (días). Especie  $O$ :  $r=0,75 \text{ día}^{-1}$ ;  $K_m=0,0008 \text{ nanog mm}^{-3}$ . Especie  $D$ :  $r=1 \text{ día}^{-1}$ ;  $K_m=0,0084 \text{ nanog mm}^{-3}$ .  $C_2=0,66 \times 10^{-3} \text{ nanog/célula}$ ;  $C_1=600 \text{ mm}^2 \text{ día}^{-1}$ .  $S_0=1,4 \text{ nanog mm}^{-3}$ .  $F_0=1000$  para ambas especies. Coeficientes de competencia:  $a_{11}=1$ ,  $a_{12}=0$ ,  $a_{21}=0$ ,  $a_{22}=1$ . Límites superior e inferior de la escala de concentración de nutriente (ordenadas):  $1,4-0,0 \text{ nanog mm}^{-3}$ . Id. del logaritmo neperiano de la concentración de células algales (células  $\text{mm}^{-2}$ ):  $15,0-0,0$  para las especies  $O$  y  $D$  y  $20,0-0,0$  para el total. Densidades máximas de población permitidas:  $0,1 \times 10^5 \text{ células mm}^{-2}$  para  $O$  y  $0,12 \times 10^6 \text{ células mm}^{-2}$  para  $D$ . La flecha con la notación "Dist" indica la dirección del gradiente de nutriente. — Computer simulation. Variation of the nutrient concentration ( $X$ ), of the natural logarithm of the total cell number (\*) and of the number of cells of species ( $O$ ) and ( $D$ ), in the compartments 1 to 35 for times 1, 5 and 10 (days). Species  $O$ :  $r=0.75 \text{ day}^{-1}$ ;  $K_m=0.0008 \text{ nanog mm}^{-3}$ . Species  $D$ :  $r=1 \text{ day}^{-1}$ ;  $K_m=0.0084 \text{ nanog mm}^{-3}$ .  $C_2=0.66 \times 10^{-3} \text{ nanog/cell}$ ;  $C_1=600 \text{ mm}^2 \text{ day}^{-1}$ .  $S_0=1.4 \text{ nanog mm}^{-3}$ .  $F_0=1000 \text{ cells mm}^{-2}$  for both species. Competition coefficients:  $a_{11}=1$ ,  $a_{12}=0$ ,  $a_{21}=0$ ,  $a_{22}=1$ . Superior and inferior limits of the scale of nutrient concentration:  $1.4-0.0 \text{ nanog mm}^{-3}$ . Id. of the natural logarithm of algal concentrations:  $15.0-0.0$  for species  $O$  and  $D$  and  $20.0-0.0$  for the total. Maximum population densities allowed:  $0.1 \times 10^5 \text{ cells mm}^{-2}$  for  $O$  and  $0.12 \times 10^6 \text{ cells mm}^{-2}$  for  $D$ . The arrow indicates the direction of the nutrient gradient.

se aceptan ecuaciones como:

$$D_t = 0,0103 l^{1,15} \text{ (OKUBO, 1974),}$$

donde  $D_t$  es el coeficiente de difusión turbulenta, en  $\text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$ , y  $l$  (cm) indica la escala del fenómeno.

Una cuestión interesante es la comparación de los valores de los coeficientes de difusión molecular y turbulenta con las respectivas escalas espaciales, en algunos casos concretos. La escala de tiempo asociada con [4] o con [5] es, aproximadamente:

$$T_m \approx \frac{L^2}{D_m} \quad \text{y} \quad T_t \approx \frac{L^2}{D_t},$$

respectivamente (TENNEKES y LUMLEY, 1972).

Si imponemos a las escalas de tiempo la condición  $T_m \approx T_t$ , tenemos:

$$\frac{L_m^2}{D_m} \approx \frac{L_t^2}{D_t} \quad \text{y} \quad \frac{L_m^2}{L_t^2} \approx \frac{D_m}{D_t} \quad [6]$$

La condición  $T_m \approx T_t$  puede justificarse

si se tiene en cuenta que, para que un proceso tenga una importancia análoga respecto al fitoplancton, por ejemplo, la escala de tiempo en que se realiza debe guardar una relación determinada con el tiempo de duplicación de los organismos considerados.

En la figura 12 se muestra el ajuste de la relación [6] al caso del recipiente del cultivo y al de varios ecosistemas naturales.

Con los comentarios anteriores sólo se quiere indicar, tal como se planteó en la introducción, que los experimentos de laboratorio realizados pueden ser útiles para reproducir, a escala reducida, mecanismos análogos a algunos de los que actúan en la naturaleza. Desde luego, se trata siempre de una semejanza grosera; en el mar es fundamental la relación entre persistencia y tamaño de una determinada estructura hidrográfica; por otra parte, frecuentemente, la difusión turbulenta desempeña un papel secundario respecto a la advección, y solamente cuando se amplía mucho más el espacio de observación pueden considerarse como estacionarios los gradientes globales existentes.

## SUMMARY

EXPERIMENTAL STUDIES ON ALGAL POPULATIONS GROWING ALONG CONTINUOUS NUTRIENT GRADIENTS. Populations of one or several species of planktonic freshwater algae were inoculated uniformly on culture media solidified with agar-agar and lacking nitrate or nitrate and phosphate. The cultures were exposed to continuous gradients of the limiting nutrients and sampled after an incubation time ranging from several weeks to a few

months. Cell numbers and amount of photosynthetic pigments per unit surface were determined. In general, the values of these parameters decreased from the nutrient source, according to a negative exponential pattern. A simple mathematical model is proposed for the interpretation of the results, and their ecological significance is discussed.

## BIBLIOGRAFÍA

- BLASCO, D. — 1971. *Acumulación de nitritos en determinados niveles marinos por acción del fitoplancton*. Tesis doctoral, Barcelona, 223 páginas.
- CALDWELL, E. D., & HIRSCH, P. — 1973. Growth of microorganisms in two-dimensional steady-state diffusion gradients. *Can. J. Microbiol.*, 19: 53-58.
- CALDWELL, E. D.; LAI, S. H., & TIEDJE, J. M. — 1973. A Two Dimensional Steady-State Diffusion Gradient for Ecological Studies. *Bull. Ecol. Res. Comm. (Stockholm)*, 17: 151-158.
- CANNEFAX, G. R. — 1962. A temperature-gradient bar and its applications to the study of temperature effects on the growth of Reiter's treponeme. *J. Bacteriol.*, 83: 708-710.
- CRUZADO, A. — 1976. *Afloramiento costero en el Atlántico Nororiental*. Tesis doctoral, Barcelona, 110 pp.
- CSANADY, G. T. — 1973. *Turbulent diffusion in the environment*. Geophysics and Astrophysics Monographs, vol. 3. D. Reidel Publishing Company. Dordrecht (Holanda), 248 pp.
- DUGDALE, R. C. — 1967. Nutrient limitation in

- the sea: dynamics, identification and significance. *Limnol. Oceanogr.*, 12 (4): 685-695.
- EDWARDS, P., & VAN BAALEN, Ch. — 1970. An Apparatus for the Culture of Benthic Marine Algae under Varying Regimes of Temperature and Light Intensity. *Botanica Marina*, 13: 42-43.
- FOGG, G. E. — 1965. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press. Madison and Milwaukee, 126 pp.
- GUILLARD, R. R. L. — 1968. *Media for Freshwater Algae*. Woods Hole Oceanographic Institution-Marine Biological Laboratory. Unpublished Manuscript, 3 pp.
- HALLDALL, P. — 1958. Pigment Formation and Growth in Blue Green Algae in Crossed Gradients of Light and Temperature. *Physiologia Plantarum*, 11: 401-420.
- HALLDALL, P., & FRENCH, C. S. — 1958. Algal growth in crossed gradients of light intensity and temperature. *Plant Physiology*, 4: 249-252.
- JACOBS, M. H. — 1967. *Diffusion Processes*. Springer Verlag, Berlin, 160 pp.
- LANDMAN, D. E.; BAUSUM, H. T.; MATNEY, T. S. — 1962. Temperature-gradient plates for growth of microorganisms. *J. Bacteriol.*, 83: 463-469.
- MARGALEF, R. — 1960. Valeur indicatrice de la composition des pigments du phytoplancton sur la productivité, la composition taxonomique et propriétés dynamiques des populations. *Rapp. Proc. Verb. CIESM.*, 15 (2): 277-281.
- 1963. Modelos simplificados del ambiente marino para el estudio de la sucesión y distribución del plancton y valor indicador de sus pigmentos. *Inv. Pesq.*, 23: 169-230.
- 1967. Laboratory analogues of estuarine plankton systems. En: Lauff, G. H. (ed.). *Estuaries, Publs. Am. Ass. Adv. Sci.*, 83: 515-521.
- 1972. Fitoplancton de la región de afloramiento del noroeste de África. *Res. Exp. Cient., B/O Cornide*, 1: 23-51.
- 1974. *Ecología*. Omega. Barcelona, 951 pp.
- MARGALEF, R., & RYTHER, J. H. — 1960. Pigment composition and productivity as related to succession in experimental populations of phytoplankton. *Biol. Bull.*, 479-501.
- NEEDLER, G. T., & HEATH, R. A. — 1975. Diffusion Coefficients Calculated from the Mediterranean Salinity Anomaly in the North Atlantic Ocean. *Journal of Physical Oceanography*, 5: 137-182.
- OKUBO, J. — 1974. Diffusion-induced instability in model ecosystems: Another possible explanation of patchiness. *Chesapeake Bay Institute. The Johns Hopkins University, Tech. Rep.*, 86, 17 pp.
- PIELOU, E. C. — 1974. Competition on an environmental gradient. En: S. Levin (ed.). *Mathematical problems in Biology*, pp. 184-203. Lecture Notes in Biomathematics, 2.
- RICHARDS, F. A., & THOMPSON, T. G. — 1952. The estimation and characterization of plankton populations by pigment analysis. II. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments. *J. Mar. Res.*, 11: 156-172.
- SAINT-GUILY, B. — 1974. Sur la perturbation thermique produite en mer par un rejet d'eau chaude. *Vie Milieu*, 24: 223-224.
- TENNEKES, H., & LUMLEY, J. L. — 1972. *A first course in turbulence*. The MIT Press. Cambridge, Mass., 300 pp.
- THOMAS, W. H.; SCOTTEN, H. L., & BRADSHAW, J. S. — 1963. Thermal Gradient Incubators for Small Aquatic Organisms. *Limnol. Oceanogr.*, 8: 357-360.
- WALSH, J. J., & DUGDALE, R. C. — 1971. A simulation model of the nitrogen flow in the Peruvian upwelling system. *Inv. Pesq.*, 35 (1): 309-330.
- WALSH, J. J.; KELLEY, J. C.; DUGDALE, R. C., & FROST, B. W. — 1971. Gross features of the Peruvian upwelling system with special reference to possible diel variation. *Inv. Pesq.*, 35 (1): 25-41.
- WESLEY, P. J. — 1974. *Ecophysics. The Application of Physics to Ecology*. Ch. C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, 340 pp.