

# Crecimiento Poblacional de Tres Microalgas en Diferentes Medios de Cultivo

*Population growth of three microalgae  
in different culture media*

Guadalupe Figueroa\* y Graciela De Lara-Isassi\*\*

---

## RESUMEN

En este trabajo se estudió la respuesta de tres especies de microalgas pertenecientes a la División Chlorophyta a tres diferentes medios de cultivo con el objeto de determinar el desarrollo diferencial de las mismas de acuerdo a la composición química de cada medio. Se utilizaron cepas puras de *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Chlamydomonas debaryana* Goroschankin y *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komárková-Legnerová y como medios de cultivo Bristol, Knop y Waris, este último específico para clorofitas. Las series experimentales se llevaron a cabo por triplicado en matraces de 250 ml con 90 ml del medio y 10 ml del cultivo algal seleccionado. Se realizaron observaciones cualitativas y cuantitativas para obtener las curvas de crecimiento poblacional. *Chlamydomonas debaryana* presentó el mayor incremento poblacional en el medio Bristol; *Chlorella vulgaris* en el medio Knop y *Monoraphidium griffithii* en el medio Waris. Por los resultados obtenidos, se puede concluir que existe un desarrollo diferencial de las especies estudiadas para cada uno de los medios de cultivo utilizados, debido a la especificidad de sus requerimientos nutricionales.

**Palabras clave:** microalgas, cultivo.

---

## ABSTRACT

In this research work it was studied the answer of three species of microalgae from the Chlorophyte Division growing in three different culture media, in order to determinate if a differential growth exists related to the chemical composition of the media. To realize the study it was chosen pure strains of *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Chlamydomonas debaryana* Goroschankin and *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komárková-Legnerová and the culture media: Bristol, Knop and Waris, the last one specific for Chlorophytes. The experimental tests were done by triplicates using 250 ml flasks with 90 ml of media plus 10 ml of the algal culture. Qualitative and quantitative observations were done every other day in order to determine the population growth curve. The highest population increase for *Chlamydomonas debaryana* was founded in the Bristol medium; *Chlorella vulgaris* grew better in the Knop medium and *Monoraphidium griffithii* in Waris medium. About the results obtained we can concluded that it exists a selectivity of the species to the culture media due to their nutritional requirements.

**Key words:** microalgae, culture.

---

## Introducción

Los estudios ficológicos en nuestro país son escasos y están en su mayoría enfocados a resolver problemas taxonómicos y de distribución de especies, requiriendo muchas veces de un respaldo experimental. Una de las técnicas mas comunes para desarrollar

\*Departamento El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Apartado Postal 23-181. México, D. F. 04960.

\*\*Laboratorio de Ficología Aplicada. Departamento de Hidrobiología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Apartado Postal 55-535. México, D.F., 09340.

trabajos experimentales en Ficología, es a través de cultivos.

La importancia de cultivar a las algas radica en la posibilidad de obtener historias vitales, evidenciar aspectos relacionados con su morfología o estudiar curvas de crecimiento, además de implementar el desarrollo de cultivos masivos con fines tecnológicos y de alimentación, entre otros.

A través del trabajo de laboratorio y de la revisión bibliográfica se ha podido observar que en la actualidad existen una gran cantidad de medios de cultivo para algas: Chu 10, Knop, Molisch, Pringsheim y Beijerinck, entre otros (Fogg, 1975; Nichols, 1973; Pringsheim, 1972 y Chu, 1942); sin embargo, su utilización no garantiza por sí misma el éxito de un estudio *in vitro* debido a los requerimientos particulares de cada especie, aspecto que, aunque parece básico, no se toma en cuenta en la mayoría de los casos.

Por lo anterior, se plantea que antes de iniciar el trabajo experimental en cualquiera de los aspectos mencionados, es necesario probar y seleccionar medios de cultivo definidos que permitan el desarrollo y crecimiento adecuado de los organismos a utilizar.

Algunos de los medios de cultivo han sido considerados como generales por diversos autores (Pringsheim, 1972; Nichols, 1973 y Starr, 1978) porque contienen los nutrimentos necesarios para favorecer el desarrollo de una gran cantidad de especies algales; entre estos medios se pueden mencionar el Bristol (Bold-Basal), Knop, Chu 10, MBL y Bosniak. Existen también medios específicos (Starr, 1978 y Pringsheim, 1972), tales como el Waris, Beijerinck, Cg 10 y Zarouk, entre otros, que solo favorecen el crecimiento de determinados grupos. Por este motivo, se plantea que el cultivo artificial de especies algales requiere de la combinación de ciertos factores fisicoquímicos particulares tales como: nutrimentos y fotoperiodos específicos (Ramos-Cárdenas y De Lara-Isassi, 1985), para lograr condiciones lo más cercano posible a las óptimas, y con ello garantizar la estabilidad y el desarrollo adecuado de las poblaciones en cultivo.

### Material y métodos

Este estudio se llevó a cabo con tres cepas unialgales pertenecientes a la División Chlorophyta: *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Chlamydomonas debaryana* Goroschankin y *Monoraphidium griffithii* (Berkeley)

Komárková-Legnerová. Los medios utilizados fueron: Bristol, Knop y Waris (Tabla 1). Tanto el medio Bristol (Nichols, 1973) como el Knop (Pringsheim, 1972), han sido recomendados como medios de cultivo generales y el medio Waris (Starr, 1978) como un medio específico para clorofitas.

Los medios se prepararon a partir de soluciones patrón, de las que se tomaron las alícuotas correspondientes y se agregaron a agua destilada previamente esterilizada.

Las series experimentales se efectuaron por triplicado en matraces de 250 ml con 90 ml de medio y 10 ml de inóculo (cepa pura) y fueron mantenidos en una cámara de cultivos a temperatura constante de  $19^{\circ}\text{C} \pm 1$  y ciclos de luz/oscuridad de 12/12 hs.

La evaluación de los cultivos se hizo cada tercer día, en forma cualitativa por observación directa y bajo el microscopio para detectar variaciones morfológicas y en forma cuantitativa, por medio de conteos directos en una cámara de Neubauer (Guillard, 1973), para evaluar el crecimiento poblacional en número de células por mililitro.

Se calcularon la tasa de crecimiento poblacional ( $k'$ ) y la velocidad específica de crecimiento de cada cultivo ( $G$ ) de acuerdo con Guillard (1973):

1) La tasa de crecimiento poblacional, en la fase exponencial ( $k'$ ) se calculó en logaritmo base 10:

$$Nt = N_0 e^{kt}$$

donde

$$k' = \frac{\log_{10} N - \log_{10} N_0}{t - t_0}$$

Donde:  $Nt$  = Número de organismos en un tiempo determinado

$N_0$  = Número inicial de organismos

$k'$  = Tasa de crecimiento poblacional (utilizando logaritmos base 10)

$t$  = Tiempo transcurrido

$t_0$  = Tiempo inicial igual a cero

2) La velocidad específica de crecimiento ( $G$ ) que es el tiempo en que tarda el cultivo en aumentar al doble el número de organismos.

$$G = \frac{0.301}{k'}$$

## Resultados

Se obtuvo un crecimiento poblacional diferencial de las especies a los tres medios de cultivo empleados (Figuras 1 a 3) y (Tablas 1 a 3); para *Chlorella vulgaris*, la tasa de crecimiento más alta se observó en los cultivos con el medio Knop ( $k' = 0.040$ ) y la más baja con el medio Waris ( $k' = 0.027$ ). La velocidad específica fue más alta en el medio Waris ( $G = 11.15$ ) y más baja en el medio Knop ( $G = 7.53$ ).

Para *Chlamydomonas debaryana*, la tasa de crecimiento más alta se obtuvo en la población cultivada en el medio Bristol ( $k' = 0.060$ ) y la más baja en el medio Knop ( $k' = 0.054$ ). La velocidad específica más alta se encontró en el cultivo con el medio Knop ( $G = 5.57$ ) y la más baja en el medio Bristol ( $G = 5.02$ ). *Monoraphidium griffithii* presentó la tasa de crecimiento más elevada en el medio Waris ( $k' = 0.042$ ), mientras que el cultivo en el medio Knop presentó la tasa de crecimiento más baja ( $k' = 0.033$ ). El valor de la velocidad específica más alto lo presentó la población cultivada en Knop ( $G = 9.17$ ) y el más bajo, el cultivo en el medio Waris ( $G = 7.17$ ). Desde el punto de vista cualitativo, se pudo observar que las especies *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas debaryana* presentaron un color verde intenso y mayor talla en el medio de cultivo Bristol y *Monoraphidium griffithii* se observó en mejores condiciones en el medio Waris.

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo

Compuesto	Bristol g/l	Knop g/l	Waris g/l
NaNO <sub>3</sub>	0.25	-	-
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.075	0.01	0.02
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.075	0.2	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.175	-	-
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	-	0.001	-
KNO <sub>3</sub>	-	1.0	0.1
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	0.1	-
CaSO <sub>4</sub>	-	-	0.05
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	-	-	0.02
EDTA	-	-	1.3
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	-	-	1.25
en KOH	-	-	13.5 ml/l
*E. traza	10 ml/l	-	-

\*Elementos traza (mg/l)

CaCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	26.5
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	5.0
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.3
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.02
CuSO <sub>4</sub>	0.01
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.04
Na EDTA·2H <sub>2</sub> O	6.90

Tabla 2. Tasa de crecimiento ( $k'$ ) y velocidad específica ( $G$ )

	Bristol	Knop	Waris
<i>Chlorella vulgaris</i>	$k' = 0.032$ $G = 9.40$	$k' = 0.040$ $G = 7.53$	$k' = 0.027$ $G = 11.15$
<i>Chlamydomonas debaryana</i>	$k' = 0.060$ $G = 5.02$	$k' = 0.054$ $G = 5.57$	$k' = 0.057$ $G = 5.28$
<i>Monoraphidium griffithii</i>	$k' = 0.038$ $G = 7.92$	$k' = 0.033$ $G = 9.17$	$k' = 0.042$ $G = 7.17$

Tabla 3. Número inicial (I)\* y final (F)\* de organismos

	Bristol	Knop	Waris
<i>Chlorella vulgaris</i>	I= 200 F= 1450	I= 200 F= 2 400	I= 200 F= 2 400
<i>Chlamydomonas debaryana</i>	I= 42 F= 1825	I= 42 F= 1250	I= 42 F= 1425
<i>Monoraphidium griffithii</i>	I= 25 F= 275	I= 25 F= 200	I= 25 F= 350

\* No. de organismos x 10<sup>4</sup>/ml

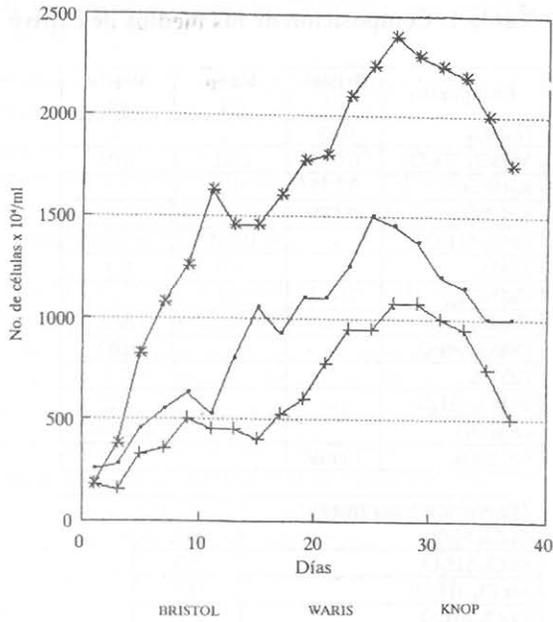


Figura 1. Crecimiento poblacional de *Chlorella vulgaris* Beijerinck

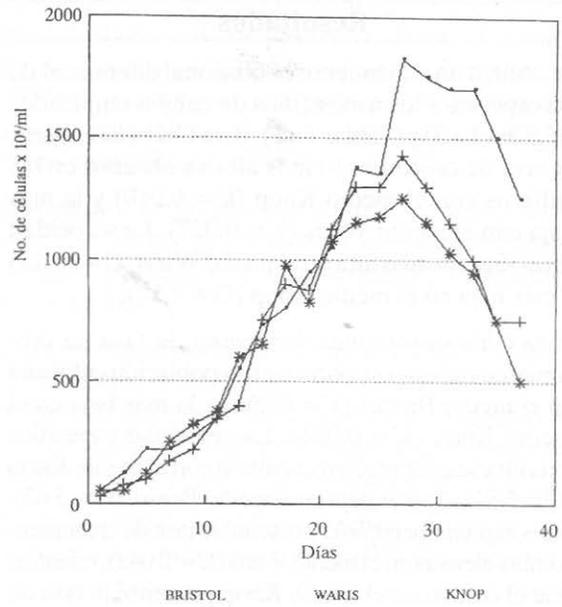


Figura 2. Crecimiento poblacional de *Chlamydomonas debaryana* Goroschankin

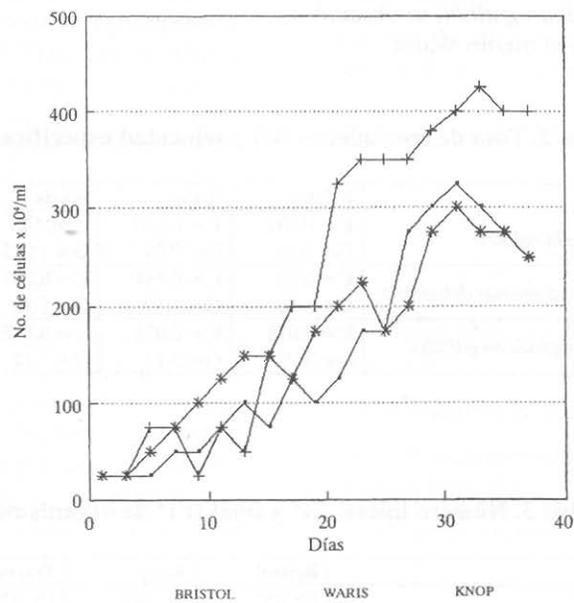


Figura 3. Crecimiento poblacional de *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komárková-Legnerová

### Discusión

Al haber trabajado con un medio específico para clorofitas y dos medios recomendados como generales se esperaba que las tres algas crecieran mejor en el medio específico. Por los resultados obtenidos se puede observar que existe desarrollo diferencial de las especies a los distintos medios de cultivo utilizados, ya que cada una de éstas obtuvo un mayor incremento poblacional ( $k'$ ) en un medio diferente: *Chlorella vulgaris* obtuvo un mayor incremento poblacional en el medio Knop, este medio contiene la concentración de magnesio más elevada, en forma de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0.1 gr/l), el cual es un elemento esencial para su crecimiento (Richmond, 1986 y Kessler, 1985) y puede ocasionar limitaciones en el desarrollo de las algas en condiciones de laboratorio (Pringsheim, 1972), a pesar de ser una alga que no tiene grandes requerimientos nutricionales (Palacios-Mayorga, 1977; Syrett, 1962; Chodat, 1909 y Beijerinck, 1890; entre otros) y se adapta fácilmente a condiciones extremas (Fogg, 1975 y Pringsheim, 1972), por lo que se cree que este compuesto fue el que favoreció un mejor desarrollo en dicho medio. En apoyo a lo anterior, se observó que el menor incremento poblacional de esta especie se presentó en el medio Waris, que corresponde al medio empleado con concentraciones más bajas de magnesio.

El valor más alto en el número poblacional de *Chlamydomonas debaryana* se obtuvo en el medio Bristol, el cual se consideró como el más completo por contener una mayor variedad de nutrimentos, pero baja concentración de los mismos, por lo que podría facilitar su mantenimiento en condiciones de laboratorio. Por otra parte, el valor más bajo se observó en el medio Knop que contenía la más alta concentración de nitratos en forma de  $KNO_3$  (1.0 gr/l) y de Ca ( $NaNO_3$ )<sub>2</sub> (0.1 gr/l) a lo que Pringsheim (1972) argumenta como una fuente de nitrógeno no adecuada para ésta especie, cuya preferencia se enfoca al amonio.

*Monoraphidium griffithii* obtuvo su mayor incremento poblacional en el medio Waris, medio recomendado como específico para clorofitas (Starr, 1978), el cual contiene una menor variedad de nutrimentos, sin embargo, contiene amonio disponible, que es una fuente de nitrógeno más fácil de asimilar para las algas sobre todo en pH bajos (Fogg, 1975), como en este caso, que fue de seis a diferencia de los otros dos medios que fue de siete, siendo un factor importante para el mejor desarrollo de ésta especie.

En relación a las observaciones cualitativas, se pudo ver que las especies de mayor abundancia presentaban menor biomasa y viceversa tal es el caso de *Monoraphidium griffithii* que presentó una gran biomasa, en comparación con las otras especies estudiadas, pese a la poca cantidad de individuos por lo que se considera un dato útil a considerar en la evaluación de los resultados.

Como se mencionó anteriormente, el comportamiento en el crecimiento poblacional de las especies estudiadas fue diferente entre sí, a pesar de pertenecer a la División Chlorophyta, presentando una respuesta diferente a cada uno de los medios de cultivo utilizados, por lo que se pudo constatar que existe una serie de requerimientos nutricionales particulares a cada especie.

Por lo anterior se plantea que antes de iniciar un trabajo experimental que requiera el cultivo de algas es necesario conocer los requerimientos nutricionales de las especies seleccionadas para proponer el medio de cultivo que permita su adecuado desarrollo.

### Literatura citada

- Beijerinck, M. W., 1890.** Kulturversuche mit zoochlorellen Lichenogonidien und anderen niederen Algen. *Bot. Ztg.* 48: 725.
- Chodat, R., 1909.** *Etude critique et expérimentale sur le polymorphisme des algues.* Geneve. 325 p.
- Chu, S. P., 1942.** The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. I. Methods and culture media. *Journal of Ecology*, 30: 284-325.
- Fogg, G. E., 1975.** *Algal cultures and Phytoplankton Ecology.* The University of Wisconsin Press. 175 p.
- Guillard, R., 1973.** Methods for microflagellates and nannoplankton In: Stein, J. R. (Ed.), *Handbook of Phycological Methods.* Cambridge University Press, pp. 69-86.
- Kessler, E., 1985.** An extremely cadmium-sensitive strain of *Chlorella*, *Experientia*, 41: 1-16.
- Nichols, N. W., 1973.** Growth media-freshwater In: Stein, J. R. (Ed.), *Handbook of Phycological Methods* Cambridge University Press, pp. 7-24.
- Palacios-Mayorga, S., 1977.** Estimación del crecimiento de *Chlorella vulgaris* en cuatro tipos de suelos

bajo condiciones de laboratorio. *Revue Latino-Americana de Microbiololy*, 19 (2): 95-111.

**Pringsheim, E. G., 1972.** *Pure cultures of algae. Their preparation and maintenance.* University Press, Cambridge, New York. 119 p.

**Ramos-Cardenas A. and G. De Lara-Isassi., 1985.** The effect of nutrients in the development of algal populations (*Scenedesmus* spp.) *Arch. Hydrobiologic Beih.* 20: 63-69.

**Richmond, A., 1986.** Cell response to environmental factor *In: Richmond (Ed.). Handbook of Microalgal Mass Culture.* Boca Raton, Florida, pp. 69-99.

**Starr, R. C., 1978.** The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. *Journal of Phycology.* 14: 47-100.

**Syrett, P. J., 1962.** Nitrogen Assimilation. *In: Lewin R. A. (Ed.). Physiology and Biochemistry of algae.* Academic Press New York, pp. 171-178.