



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**EVALUACION EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE LA
VARIACION DE LA LUZ SOBRE LA PRODUCTIVIDAD
FITOPLANCTONICA DE UN CULTIVO MIXTO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

MA. NEFTALI ROJAS VALENCIA

MEXICO, D. F.

1992



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis se desarrolló en el área de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM, bajo la dirección del M. en I. Jorge L. de Victorica Almeida.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

ALEJANDRO ROJAS SANCHEZ
NEFTALI VALENCIA DE ROJAS

¡Con amor y eterna gratitud!

Por que aceptaron el reto de educarme
y han sabido enfrentar con fuerza constante
las dificultades de la vida, que con su ejemplo
me motivan para seguir adelante.

¡¡Con respeto!!

Por su noble entrega e ingenio para lograr
finalmente que todos sus hijos terminaran una carrera.

A MIS HERMANOS

ALEJANDRO, FCO. JAVIER, ALICIA, RAFAEL Y J. REFUGIO

Con admiración

Por su incansable afán de superación,
porque a pesar de todas las adversidades
con esfuerzo propio y realización constante,
han logrado todo lo que se han propuesto,
por ser cada uno de ellos un buen ejemplo para mí.

A FRANCISCO GALLARDO G.

*Por ser una gran persona,
mi mejor confidente,
por conocerme y aceptarme como soy,
por su paciencia y cariño*

AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer patente mi agradecimiento a las siguientes personas:

A la Q.F.B. Matilde Galván G. por sus valiosos, consejos y observaciones de utilidad en la estructuración de esta tesis.

A los miembros del Jurado Dictaminador

M. en I. Jorge L. de Victorica A.

M. en C. Javier Alcocer D.

Biól. Alfonso Lugo V.

Biól. Angel Durand D.

Biól. Graciela Molina

Por sus observaciones y atinadas sugerencias para la realización de este trabajo.

A la Srta. Yolanda Rivera S. por su ayuda en el trabajo de mecanografía realizado.

I N D I C E

	Pág
RESUMEN	IX
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	3
3. OBJETIVOS	7
4. MATERIALES Y METODOS	8
4.1 <i>Obtención del cultivo base</i>	8
4.1.1 <i>Caracterización de la muestra</i>	8
4.2 <i>Caracterización del cultivo mixto</i>	9
4.3 <i>Bioensayos</i>	10
4.3.1 <i>Proceso de esterilización</i>	10
4.3.2 <i>Preparación de los inóculos</i>	10
4.3.3 <i>Acondicionamiento de una cámara de incubación</i>	11
4.3.4 <i>Diseño experimental</i>	11
4.3.5 <i>Procedimiento para los bioensayos</i>	13
4.3.6 <i>Determinaciones analíticas</i>	14
4.4 <i>Cálculos de parámetros poblacionales</i>	14
5. ECUACION DE CRECIMIENTO	16
6. RESULTADOS Y DISCUSION	20
6.1 <i>Efecto de la intensidad luminosa sobre el crecimiento fitoplanctónico del cultivo mixto</i>	21
6.2 <i>Efecto de la intensidad luminosa sobre la variación de la clorofila "a"</i>	26
6.3 <i>Efecto de la intensidad luminosa sobre el oxígeno disuelto (OD)</i>	28
6.4 <i>Efecto de la intensidad luminosa sobre el carbón orgánico total (COT)</i>	30
6.5 <i>Efecto de la intensidad luminosa sobre la relación carbón:clorofila "a"</i>	30
6.6 <i>Asimilación de nutrimentos</i>	35

	Pág
6.7 <i>Variación de la tasa máxima de crecimiento por efecto de la luz, de acuerdo con la ecuación de Steele</i>	37
6.8 <i>Evaluación de las variables de respuesta medidas: ventajas y desventajas</i>	43
6.8.1 Número de organismos	43
6.8.2 <i>Clorofila "a"</i>	43
6.8.3 Oxígeno disuelto	44
6.8.4 Carbón orgánico total	44
7. CONCLUSIONES	46
8. RECOMENDACIONES	48
9. BIBLIOGRAFIA	49
ANEXO I RESULTADOS DE LAS EVALUACIONES ANALITICAS Y GENEROS ALGALES DETERMINADOS TANTO EN EL MEDIO NATURAL COMO EN EL MEDIO DE CULTIVO MIXTO.	55
ANEXO II DIAGRAMAS DE FLUJO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL Y SECUENCIA DE CALCULOS PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA LUZ SOBRE LA TASA DE CRECIMIENTO.	61
ANEXO III HOJAS DE RESULTADOS CORRESPONDIENTES AL EFECTO DE LA DE LA INTENSIDAD LUMINOSA SOBRE LA TASA DE CRECIMIENTO, Y CALCULOS DE LA PRODUCCION PRIMARIA.	64

INDICE DE FIGURAS

	Pág
1. Cámara de incubación usada para la experimentación.	12
2. Efecto de la intensidad de la luz sobre el crecimiento de un cultivo mixto de algas.	22
3. Efecto de la intensidad luminosa sobre la tasa de crecimiento de un cultivo mixto de algas.	24
4. Relación entre la tasa de crecimiento y el tiempo de duplicación algal.	25
5. Comportamiento de la productividad fitoplanctónica en términos de <i>clorofila "a"</i> , para cada una de las intensidades de luz usadas en la experimentación.	27
6. Efecto de la intensidad luminosa sobre la producción de oxígeno fotosintético.	29
7. Efecto de la intensidad de la luz sobre la asimilación de carbón.	31
8. Relación entre el carbón fijado y la <i>clorofila "a"</i> producida para cada una de las intensidades de luz usadas en la experimentación.	33
9. Relación entre la <i>clorofila "a"</i> producida y el carbón fijado con respecto a la intensidad de la luz.	34
10. Asimilación de Nitrógeno y Fósforo en relación a la intensidad de la luz.	36
11. Comportamiento de las tasas máximas de crecimiento experimental y las que cita la literatura para cultivos mixtos, de acuerdo con la ecuación de Steele.	38

12. Producción horaria de <i>clorofila "a"</i> en relación a la intensidad de la luz.	40
13. Producción horaria de oxígeno disuelto en relación a la intensidad de la luz.	41
14. Producción horaria de carbón en relación a la intensidad de la luz.	42

INDICE DE CUADROS

	Pág
1. Variables y condiciones experimentales seleccionadas para los bioensayos.	11
2. Influencia de las intensidades luminosas sobre la tasa de crecimiento del cultivo mixto.	26
3. Relación <i>carbón:clorofila "a"</i> con respecto a la intensidad luminosa.	32
4. Relación <i>clorofila "a":carbón</i> con respecto a la intensidad luminosa.	32
5. Relaciones entre las intensidades luminosas y la asimilación de nutrimentos.	35
6. Resultados de μ máx. obtenidas en el laboratorio y comparados con los resultados que genera la ecuación de Steele.	37
7. Comparación de resultados analíticos del agua colectada en el lago de Chapultepec y del medio de cultivo.	56
8. Comparación de los géneros algales determinados del lago viejo de Chapultepec y del cultivo algal.	56
9. Algas comunes en aguas con problemas de eutroficación	57
10. Algas verdes comunes de los lagos del Valle de México	58
11. Algas determinadas en aguas de diversas localidades del país.	60

RESUMEN

El uso de modelos matemáticos constituye una técnica eficiente, tanto para simular los procesos biológicos que determinan la calidad del agua en los sistemas acuáticos, como para analizar la efectividad de las diversas alternativas para disminuir y/o controlar su contaminación; sin embargo, las predicciones del comportamiento de tales sistemas, basadas en simulaciones matemáticas, pueden alejarse mucho de la realidad, particularmente si no se usan las constantes cinéticas y coeficientes apropiados para los procesos biológicos que se hacen intervenir en el modelo.

En este trabajo, se presentan el procedimiento experimental, las técnicas analíticas y los resultados que permitieron estimar la tasa máxima de crecimiento e intensidades de saturación y compensación de la luz para un cultivo de fitoplancton mixto, obtenidos a 25°C y en ausencia de factores limitantes, exepctuando la intensidad de la luz, la cual se varió en el ámbito de 500 a 10,000 lux. Los resultados indican que de las intensidades de luz experimentadas, la correspondiente a 6,000 lux proporciona la tasa máxima de crecimiento (1.708/día), con un tiempo de duplicación de 9.74 hr. Con los resultados de esta corrida y los resultados analíticos de su contenido de carbón, *clorofila "a"* y producción de oxígeno disuelto, se obtubieron las relaciones de *Clo "a"/No. de organismos*, *Clo "a"/carbón* y *Clo "a"/OD*, con magnitudes de $1.5 \cdot 10^{-5}$ mg/l/No./ml, $2.298 \cdot 10^{-2}$ adimensional y $1.39 \cdot 10^{-1}$ adimensional,

respectivamente.

Tales relaciones, incluyendo la tasa máxima de crecimiento y la intensidad de saturación de la luz, se alimentaron a un programa de computadora, elaborado exprofeso para resolver la ecuación de **Steele**, primero para analizar el comportamiento de la tasa máxima de crecimiento fitoplanctónico bajo los efectos de las intensidades de luz experimentadas; y luego, para estimar la productividad primaria correspondiente.

Finalmente, del contraste de los resultados experimentales y los obtenidos con la ecuación de **Steele**, se concluye que tal ecuación es de utilidad práctica en estudios similares, siempre y cuando se le proporcione un valor adecuado para la intensidad de saturación de la luz.

Los resultados de este trabajo, sirven de base para alimentar modelos matemáticos, que pretendan simular la producción de oxígeno fotosintético, en términos de la variabilidad de la luz.

1. INTRODUCCION

Los lagos, las presas y los ríos constituyen un elemento primordial para el desarrollo de las actividades industriales, agrícolas, domésticas y recreativas del hombre. El uso de estos cuerpos de agua está íntimamente relacionado con su calidad, la cual es esencial en el establecimiento de los esquemas para su manejo y aprovechamiento.

Uno de los principales procesos biológicos básicos que inciden en la evolución de la calidad del agua, es el de la productividad fitoplanctónica, por ser una de las principales fuentes del oxígeno necesario para sustentar, tanto la vida de los organismos acuáticos, como para los diversos procesos bioquímicos y químicos que intervienen en la depuración de la calidad del agua.

La importancia que reviste la productividad fitoplanctónica, ha inducido a numerosos investigadores a realizar estudios y experimentos en torno a este campo, lo cual ha resultado en un amplio conocimiento del proceso fotosintético. Así, se ha establecido que el crecimiento y proliferación del fitoplancton, es el resultado de la conversión de nutrimentos inorgánicos en orgánicos a través de la fotosíntesis, utilizando para ello la luz solar.

En este sentido se han realizado gran número de investigaciones, dando

énfasis al estudio de la productividad primaria y su relación con la intensidad de la luz; sin embargo, no obstante el avance que hasta ahora se tiene en la formulación de modelos numéricos que relacionan la intensidad de la luz con la producción fitoplanctónica, su aplicación no puede ser general, dado que se ha visto que responden adecuadamente sólo para las condiciones impuestas en los sistemas para los cuales fueron formulados.

Lo anterior se debe, fundamentalmente, a que las relaciones desarrolladas para las regiones situadas en climas fríos o templados, no pueden aplicarse para aquellas localizadas en climas cálidos o tropicales, ya que entre otros factores, las condiciones climatológicas inciden sobre los parámetros cinéticos de la productividad fitoplanctónica.

También cabe señalar, que la mayoría de los trabajos realizados en torno a este campo, lo han sido utilizando cultivos específicos de fitoplancton, y por lo tanto, los resultados obtenidos discrepan sustancialmente de aquellos medidos directamente en el campo. Esta situación impide la aplicación de esos resultados bajo las condiciones normales que existen en la naturaleza.

La situación anterior obliga a realizar estudios en los que se consideren, en la medida de las posibilidades, las condiciones más cercanas a las que dicta la naturaleza, por lo que con base en esta premisa, en este trabajo se estudia y analiza el comportamiento de la productividad fitoplanctónica de un cultivo mixto, bajo los efectos de las variaciones de la intensidad de la luz.

2. ANTECEDENTES

Las primeras referencias acerca de estudios de los efectos de la radiación solar sobre la productividad fitoplanctónica datan de 1892 (Brown y Richardson, 1968).

En la década de los treinta, se destaca Smith (1936) como uno de los pioneros en estudiar la influencia de la luz sobre el crecimiento fitoplanctónico. Sus estudios de laboratorio permitieron establecer una relación lineal entre la productividad primaria y la luz a bajas intensidades, y en la medida que ésta se incrementa hasta un determinado valor de saturación, la productividad primaria alcanza su tasa máxima de crecimiento en forma exponencial.

De los trabajos realizados *in situ* destaca el de Rither y Menzel (1959), que establecen la relación fotosíntesis - intensidad de luz en poblaciones naturales de fitoplancton, durante un ciclo estacional, y observan que las poblaciones de fitoplancton marino que viven a mayor profundidad están adaptadas a intensidades luminosas débiles y valores de saturación bajos, y comparativamente con el fitoplacton de capas superiores presentan mayor eficiencia fotosintética. También observaron que la distribución de la luz y de los nutrimentos a lo largo del perfil vertical, determina la distribución primaria.

Posteriormente **Allister y Strickland (1961)** realizaron un experimento para determinar la respuesta de la productividad primaria a variaciones de la intensidad de luz, utilizando una incubadora iluminada con lámparas para imitar la luz del día, e idearon un atenuador de luz, para representar el proceso de degradación paulatina de energía, logrando de esta manera analizar la conducta espectral del agua. Se consideró que la distribución del fitoplancton depende de la energía luminica. Concluyeron que para hacer un análisis espectral de una serie de valores (temperatura, clorofila, corriente) obtenidos a lo largo de una línea, hay que estimar la contribución de cada frecuencia a la variación total.

Al año siguiente, ² **Steele y Baird (1962a)** publican los resultados de sus trabajos acerca de la evaluación del efecto que sobre la productividad primaria tienen las variaciones en la concentración de Nitratos y Fosfatos, analizando la asimilación por las algas; consideraron que usando la relación de los porcentajes de carbón:nitrógeno:fósforo, la asimilación puede convertirse en estimaciones de producción neta, y ésta, a su vez, obtenida como fotosíntesis directa a través de evaluaciones de la clorofila; obtuvieron una relación de carbón a clorofila de 23:1, pero consideraron que no era muy adecuada. En un segundo trabajo (1962b) evaluaron la clorofila y el carbón orgánico mediante la densidad óptica a diferentes intensidades de luz; con estas mediciones obtuvieron relaciones de carbón a clorofila de 28:1 por lo que consideraron a la densidad óptica como una medida relativa del contenido de carbón y clorofila, además de ser una técnica sencilla y rápida con la cual se puede estimar la concentración de microalgas.

En el tercer trabajo que publica ³ **Steele (1962)** desarrolla una ecuación teórica para determinar la relación luz - fotosíntesis, incluyendo el efecto de inhibición por parte de la intensidad lumínica; en dicha ecuación asume, por primera vez, la adaptación estacional del fitoplancton al cambio de luz y déficit de nutrimentos.

Años después, **Vollenweider (1965)** y **Patten (1968)** realizaron recopilaciones y análisis exhaustivos de bibliografía acerca de los modelos matemáticos en los que se considera la relación luz - fotosíntesis.

Fee (1968) contribuye al avance con un modelo matemático para estimar

la producción fotosintética integrando el tiempo y la profundidad; este modelo está provisto de varios tipos y grados de inhibición fotosintética por diferentes intensidades de luz eliminando, de este modo, todas las aproximaciones matemáticas hechas por autores previos. En ese mismo año, **Brown y Richardson** realizan medidas de crecimiento, pigmentación, fotosíntesis, respiración, morfología de la célula y estructura en 18 diferentes especies fitoplanctónicas en función de la intensidad de luz, y concluyen que estos procesos varían dependiendo de la intensidad de la luz y de cada especie.

Eppley (1972) analizando la relación crecimiento de fitoplancton - luz, observó las variaciones a diferentes profundidades y días, de lo cual integra la relación fotosíntesis - luz y obtiene curvas de saturación lumínica; por tanto concluye que la luz limita el crecimiento fitoplanctónico a lo largo de los ciclos diurnos. Un procedimiento similar es seguido por **Radfor (1975)**, basándose en la ecuación de **Steele**.

Jasby y Platt (1976) realizaron una investigación bibliográfica (similar a la de **Vollenweider y Patten**) sobre formulaciones matemáticas que estimaran la relación fotosíntesis - luz; probaron ocho diferentes ecuaciones que representan la curva fotosíntesis - luz y encontraron que algunas no producen datos satisfactorios de la curva, ya que no describen el ámbito de luz donde ocurre la fotoinhibición, como fué el caso de la ecuación de **Steele**; sin embargo, consideraron que dicha ecuación se ajusta más a la realidad que las otras, pero hasta el punto de saturación (I_s) de la curva; por eso es una de las ecuaciones más aceptadas coincidiendo esta opinión con la de **Chapra y Reckhow (1983)**.

Dentro de los trabajos más recientes se encuentra el de **Wofsy (1983)**, en el que establece una relación entre el crecimiento del fitoplancton, la profundidad y el mezclado de un cuerpo de agua, y deriva ecuaciones simples para aplicarlas a sistemas saturados de nutrimentos y que evolucionan a un estado estacionario.

En México son pocos los trabajos realizados, dentro de los cuales se puede señalar el trabajo de **De Victorica (1989)**, quien formula un modelo para simular el proceso de la productividad primaria en lagos y presas; el modelo está estructurado con base en la relación cinética de primer orden desarrollada por **Michaelis - Monod**, a la cual se le

incorporó un factor que considera el efecto de la variabilidad de la radiación solar sobre la producción de oxígeno fotosintético, usando la ecuación de Steele. El modelo, aunque es muy simple, es de utilidad por ser la base para la formulación de uno más completo, ya que se le puede incorporar los efectos de otras variables, tales como la temperatura, la concentración de nutrimentos y las tasas de depredación y sedimentación.

Una de las razones para la realización de este trabajo de tesis no solo es porque los trabajos realizados en México sobre este tema son escasos y sólo a nivel teórico (De Victorica, 1989); sino además, porque los resultados obtenidos en otros países corresponden a condiciones climatológicas diferentes a las que prevalecen en nuestro país. También, cabe señalar que la mayoría de tales estudios se han realizado usando cultivos puros de fitoplancton, y por ende, no pueden interpolarse sus resultados para el estudio en cultivos mixtos.

De aquí, que este trabajo está enfocado en particular, al estudio del efecto de la variación de la intensidad de la luz sobre un cultivo mixto de fitoplancton.

3. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es:

- Determinar cuantitativamente en condiciones controladas de laboratorio, el efecto que la variación de la luz ejerce sobre la productividad fitoplanctónica de un cultivo mixto.

Los objetivos particulares son:

- Evaluar el crecimiento de una comunidad fitoplanctónica característica de un cuerpo de agua eutrofizado, sujeta a variaciones de intensidad lumínica y bajo condiciones en las cuales la temperatura y los nutrimentos no sean factores limitantes.
- Determinar la intensidad de luz a la cual el crecimiento es óptimo (intensidad de saturación I_s).
- Determinar la intensidad de la luz a la cual la producción neta del cultivo mixto es igual a cero.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 *Obtención del cultivo base*

Se partió de una muestra de fitoplancton mixto característico de cuerpos de agua eutrofizados (con dominancia de clorofitas y cianofitas, **Alcocer, 1988**) que se recolectó en la primera sección del Bosque de Chapultepec en el lago viejo, lejos de la influencia de la descarga del agua residual. La muestra (5 litros) se tomó con una botella Van-Dorn de 2.5 l de capacidad a 30 cm de profundidad; el material así recolectado se trasladó al laboratorio para su caracterización y mantenimiento.

4.1.1 Caracterización de la muestra

En el laboratorio se realizaron determinaciones analíticas para conocer las características de la muestra de agua traída del lago, se evaluaron *clorofila "a"* determinadas por la técnica espectrofotométrica de **Azov (1982)**, número de organismos por recuento celular directo, según las técnicas mencionadas por **Stein (1979)**, oxígeno disuelto por el método electrométrico (YSI), carbón orgánico mediante un analizador de carbón (Beckman modelo 915 B), Nitratos por el método de la brucina, Ortofosfatos usando el método colorimétrico del cloruro estañoso, el Nitrógeno Orgánico por el método de Micro-Kjeldahl y el Fósforo Total

por digestión y luego colorimétricamente con cloruro estañoso (técnicas especificadas en el inciso 4.3.6).

Se identificó a nivel genérico la composición de la comunidad algal de la muestra de agua traída del lago Viejo de Chapultepec, mediante la ayuda de claves taxonómicas de Gabor (1966), Prescott (1972), Prescott (1973) y Ortega (1984), con la finalidad de reconocer a los organismos que componían la comunidad fitoplanctónica.

En la muestra se pasó por una malla de 100 μm para zooplancton, después por una malla de 80 μm para fitoplancton y por último a través de un filtro de membrana (Millipore) de 0.45 μm ; las algas retenidas en éste se transfirieron a un acuario de 20 litros de capacidad, al cual se le adicionó el medio de cultivo para algas de agua dulce especificado en los métodos normalizados (APHA *et al.*, 1985).

El cultivo patrón ("Stock") se mantuvo bajo condiciones óptimas para el desarrollo (Baca y Arnett, 1976, APHA *et al.*, 1985): 4302 lux, 25°C, 4.2 mg N/l 0.186 mg P/l. Después de inocular el cultivo "Stock", se llevó el registro de crecimiento para identificar la etapa de mayor crecimiento de las algas (fase de crecimiento exponencial) lo cual indica el momento apropiado para cosecharlas. Al cabo de tres semanas, la población alcanzó la fase de crecimiento exponencial, a partir de ese momento el cultivo sirvió como fuente de material biológico para las pruebas de experimentación que se desarrollaron posteriormente.

4.2 Caracterización del cultivo mixto

Las determinaciones analíticas que se realizaron para evaluar el cultivo mixto fueron: las mismas que se mencionan en el inciso 4.1.1.

Se identificaron las algas que componían la comunidad fitoplanctónica del cultivo mixto (utilizando para ello las claves taxonómicas que se mencionan en el inciso 4.1.1) con el objeto de observar si hubo algún cambio en la composición de la comunidad algal con respecto al medio natural.

4.3 Bioensayos

4.3.1 Proceso de esterilización

Se utilizaron 32 botellas de DBO esterilizadas en autoclave a 121°C, 15 lb/pulg², durante 15 min, al igual que el medio de cultivo, para reducir la interferencia por el crecimiento bacteriano en los bioensayos. El medio esterilizado permaneció en reposo 24 horas para que adquiriera la temperatura del cuarto de cultivo, y sobre todo para que lograra el equilibrio de los gases eliminados debido al proceso de esterilización.

4.3.2 Preparación de los inóculos

Dado que para las pruebas experimentales era necesario cumplir con requisitos tales como el de mantener una concentración de biomasa, no tan grande como para provocar problemas de sobrepoblación, ni tan pequeña que rebasara el límite de detección de las técnicas analíticas usadas para la cuantificación de los parámetros considerados, y que además no provocara una disminución de nutrientes al grado que éstos fueran limitantes durante el tiempo de experimentación, se realizaron las siguientes pruebas exploratorias de concentración: se tomaron volúmenes de 10, 20, 30, 40 y 50 ml de cultivo base y se centrifugaron a 1500 rpm durante 20 min.; se decantaron los sobrenadantes y se resuspendieron los sedimentos en una solución salina isotónica, procediendo a centrifugar de nuevo; de esta manera se obtuvo, para cada porción, un concentrado de algas exentas de nutrientes (Palmer, 1962, APHA *et al*, 1985). Cada uno de estos concentrados se adicionó a medio de cultivo algal, preparado con sobresaturación de nutrientes (APHA *et al*, 1985), y cada porción se homogenizó y sometió a recuento microscópico.

Los resultados indicaron que el concentrado de 50 ml producía, en promedio, una concentración de 1.3×10^4 células/ml, y cumplía con los requisitos arriba mencionados, por lo cual éste fue el volumen que se seleccionó para las experimentaciones. El procedimiento descrito se aplicó siempre que se requería el concentrado.

4.3.3 Acondicionamiento de una cámara de incubación

Se utilizó una incubadora Marca Freas PS Modelo 815 que fue equipada con cámara de calentamiento y cámara de enfriamiento (Fig 1).

En la cámara de calentamiento se instalaron doce focos de luz de día (Allister y Strickland, 1961, Reynoso et al; 1980 y Ilangovi, 1991 com. per.) de 100 watts cada uno, que generaban 10,500 lux. Para controlar la intensidad luminosa se utilizó un regulador de luz giratorio Modelo RG-4, de 2000 watts, y para controlar la temperatura se instaló un extractor.

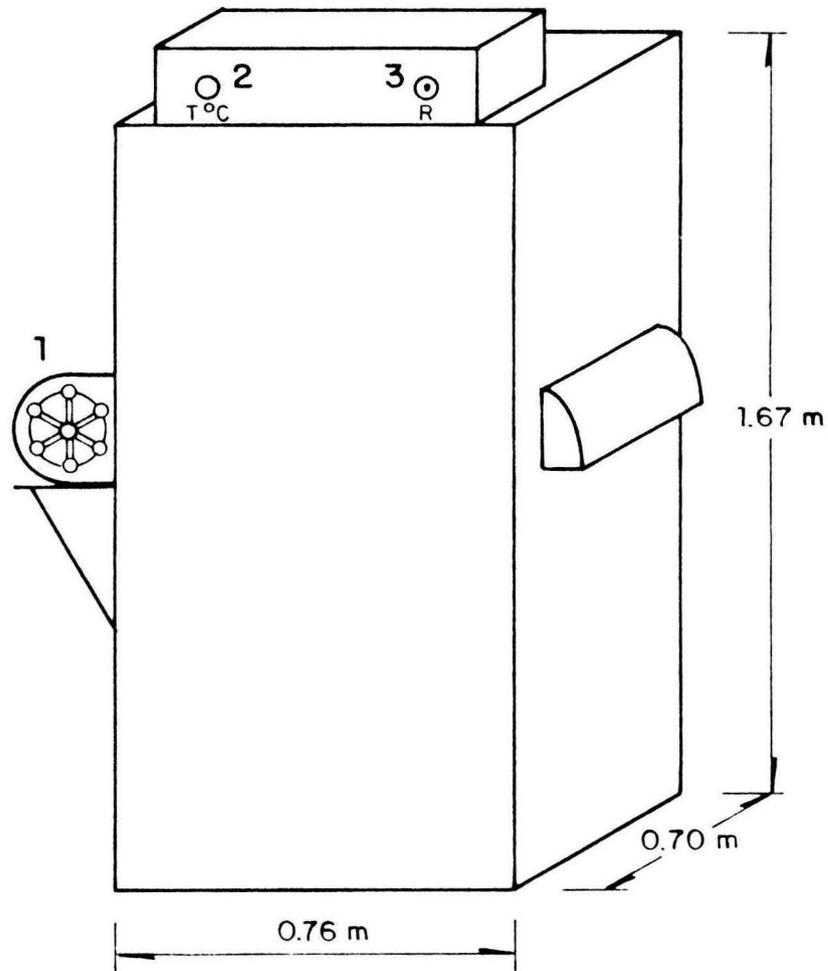
La cámara de enfriamiento permitió mantener el cultivo a una temperatura de 25°C, mediante un enfriador, y en movimiento continuo con un agitador recíprocante de 115 V, 60 ciclos CA. La intensidad luminosa fue controlada también, dependiendo de la intensidad luminosa (lux) requerida para la experimentación y se midió con un fotómetro Marca Li - Cor.

4.3.4 Diseño experimental

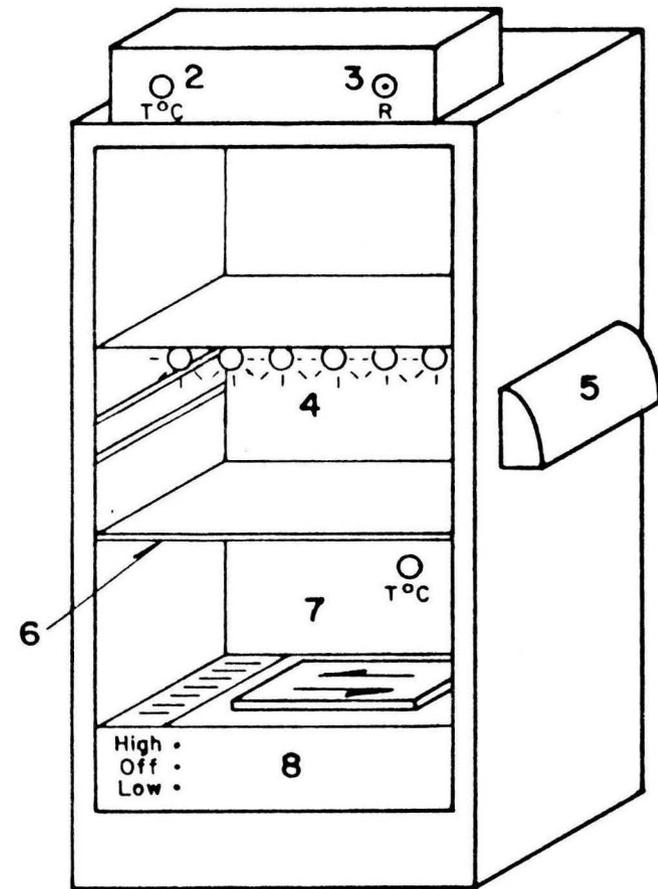
En el Cuadro 1 se enlistan los parámetros y condiciones experimentales planteados para los bioensayos.

CUADRO 1. VARIABLES Y CONDICIONES EXPERIMENTALES SELECCIONADAS PARA LOS BIOENSAYOS

VARIABLES DE CONTROL	
Tiempo total de incubación	5 días
Temperatura de incubación	25 °C
Nutrientes	concentración no limitante
Fotoperiodo	12 h x 12 h
Intensidad luminosa (lux)	10,000, 8,000, 6,000, 4,000, 3,000, 2,000 y 500 lux
VARIABLES DE RESPUESTA	
Periodicidad: 0, 6, 12 y 24 hrs.	Periodicidad: 0, 3 y 5 días
Número de organismos/ml <i>Clorofila "a"</i> Carbón orgánico total Oxígeno disuelto	Nitrógeno orgánico Nitratos Fósforo total Ortofosfatos



- 1 Ventilador centrífugo
- 2 Control de temperatura
- 3 Reóstato



- 4 Cámara de iluminación (0.66x0.51x0.50) m³
- 5 Salida de aire caliente
- 6 Aislamiento Térmico
- 7 Cámara de incubación (0.66x0.55x0.50) m³
- 8 Agitador recíprocante (0.625x0.35x0.275) m³

Fig 1 Cámara de incubación usada para la experimentación

La intensidad luminosa de 10,000 lux se seleccionó porque se considera la intensidad de saturación promedio a la que se alcanza "V máx" (que es la tasa máxima de crecimiento algal) en cultivos (Margalef, 1983 y Hall, 1983). La intensidad de 2000 lux se considera como la mínima para el crecimiento de las algas (Steele, 1962) y se incluyó la intensidad de 500 lux para encontrar el punto de compensación de las algas. De esta manera, las intensidades luminosas seleccionadas se encontraron por encima y por debajo del punto óptimo de 4320 lux considerado en la bibliografía (APHA et al., 1985).

Como se indica en el Cuadro 1, se mantuvo constante la temperatura y los nutrimentos, en ámbitos que no fueran limitantes para el crecimiento del cultivo. Se seleccionó un fotoperiodo de 12 x 12 (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), y los intervalos de toma de muestra para determinación de las curvas de crecimiento a cada intensidad luminosa, fueron de 0, 6, 12 y 24 horas durante un lapso de 5 días, en que se considera que el cultivo alcanza la fase estacionaria (Kromkamp, Konopka y Mur 1988; Chávez, 1989). Los parámetros de referencia fueron *clorofila "a"*, carbón orgánico total, No. de organismos y oxígeno disuelto, y para verificar que los nutrimentos no fueran limitantes, se determinaron las concentraciones de ortofosfatos, fósforo total, nitratos y nitrógeno orgánico, al tiempo cero, a los tres y cinco días, para cada una de las intensidades de luz probadas, dando atención a la concentración de ortofosfatos, vigilando que esta nunca fuera menor a la concentración media de saturación de Michaelis (0.005 mg P/l), nivel por debajo del cual el crecimiento fitoplanctónico se ve limitado (Darley, 1987, Thomann y Mueller, 1987) y a la concentración de nitratos la cual se vigilo que no fuera menor de 0.02 mg N/l (Thomann y Mueller, 1987, Martino, 1989).

Las metodologías que se emplearon para estos análisis se especifican en el inciso 4.3.6.

4.3.5 Procedimiento para los bioensayos

El inóculo se preparó como se indicó en el inciso 4.3.2 y se adicionaron 200 ml a cada una de 16 botellas de DBO (para determinación de clorofilas, COT, número de organismos y nutrimentos) y 300 ml a las otras 16 (para determinación de OD). Estos experimentos se llevaron a cabo en sistemas de cultivo estático (Batch).

Se determinaron los parámetros correspondientes al tiempo cero, y el resto de las botellas se incubaron a 25°C a la intensidad luminosa correspondiente. Al cumplirse el tiempo de incubación de 6, 12 y 24 horas de cada uno de los cinco días totales de incubación, se retiraron dos botellas cada vez, para efectuar los análisis de los parámetros mencionados. Todo el procedimiento se repitió cada vez que se varió la intensidad luminosa.

4.3.6 Determinaciones analíticas

El oxígeno disuelto se determinó con un oxímetro polarográfico YSI Modelo 54 ARC y 54 ABP, con escalas de 0-10 y de 0-20 mg/l.

El número de organismos se determinó por recuento directo en una celda Sedgewick-Rafter (Stein, 1979). Los organismos se contaron utilizando un micrómetro ocular de Whipple. El aumento total fue de 100 X (ocular de 10 X y objetivo de 10 X); las muestras se fijaron con solución de lugol acidificada para evitar posibles daños a especies algales cuya constitución fuera delicada (APHA *et al.*, 1985).

La determinación de *clorofila "a"* se realizó por triplicado, mediante una extracción con metanol absoluto y se utilizó un espectrofotómetro digital UV/VIS Lambda 3B, según la técnica de Azov (1982).

Los cambios en la biomasa fueron evaluados de 5 repeticiones por muestra, mediante la determinación del Carbón Orgánico Total en un analizador de COT Marca Beckman Modelo 915 B. Este método proporcionó una medida del crecimiento neto durante el tiempo de la experimentación.

Las determinaciones de Nitratos se realizaron por el método de la brucina, los Ortofosfatos usando el método colorimétrico del cloruro estañoso, el Nitrógeno Orgánico por el método de Micro - Kjeldahl y el Fósforo Total por digestión y luego colorimétricamente con cloruro estañoso (todos los métodos se incluyen en APHA *et al.*, 1985).

4.4 Cálculo de parámetros poblacionales

Los datos sobre densidad de las algas en tiempos sucesivos se utilizaron para obtener las características de crecimiento del cultivo,

aplicando la ecuación (2) del capítulo 5, y el tiempo de duplicación se determinó mediante la ecuación (3) del mismo capítulo. Estas mediciones proporcionaron información general sobre el comportamiento de la biomasa y el valor de la intensidad de saturación, el cual fue usado en la ecuación de **Steele** para cuantificar la dependencia de la fotosíntesis por la luz (ecuación 4, capítulo 5).

También, mediante el uso de un programa de computadora en lenguaje BASIC, desarrollado por De Victorica (trabajo inédito, 1992) se estimó el efecto de la intensidad luminosa sobre la tasa de crecimiento de acuerdo con la ecuación de **Steele**, y se calculó la productividad primaria usando factores de conversión obtenidos de las mediciones experimentales del cultivo mixto.

El diagrama de flujo correspondiente a este programa se incluye en el Anexo II, y las hojas de cálculos en el Anexo III.

5. ECUACION DE CRECIMIENTO

Un principio básico en ecología, es el que se refiere al crecimiento de las poblaciones. Este principio establece que en un ambiente favorable, sin limitantes, el número de individuos de una especie se incrementará exponencialmente.

La expresión matemática que representa a la definición anterior, es

$$\frac{dN}{dt} = \mu \cdot N \quad (1)$$

En la ecuación anterior, N es el número de organismos, μ la tasa de crecimiento y t , el tiempo. (Wetzel, 1981; Odum, 1983; Margalef, 1983; De Victorica, 1989).

Integrando la ecuación (1) entre los límites N_0 para $t = t_0$ y N_t para $t = t$, se obtiene

$$N_t = N_0 e^{\mu \cdot t} \quad (2)$$

En la ecuación (2), N_t es el número de organismos después que ha transcurrido el tiempo $t = t$, y N_0 es el número de organismos al tiempo inicial t_0 . (Odum, 1983; Margalef, 1983 y De Victorica, 1989).

La forma logarítmica de la ecuación (2) para el tiempo, permite calcular el tiempo de duplicación celular (t_d) para cualquier tasa de crecimiento.

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (3)$$

Cabe señalar que la ecuación (2) sólo se cumple para condiciones en las que el ambiente no presenta limitantes; sin embargo, para el caso del crecimiento fitoplanctónico, tal condición está lejos de la realidad, ya que en la naturaleza siempre hay limitantes, por ejemplo, la disponibilidad de nutrimentos y luz.

Ahora bien, en un ambiente acuático en el que la disponibilidad de nutrimentos no es una limitante, el crecimiento fitoplanctónico dependerá de la luz.

La formulación más aceptada para cuantificar la dependencia de las algas por la luz, es la ecuación de **Steele** (Chapra y Reckhow, 1983)

$$F(I) = \frac{I_0}{I_s} e^{(1 - \frac{I_0}{I_s})} \quad (4)$$

En la ecuación anterior, $F(I)$ es el factor que modifica a la tasa máxima de crecimiento por efectos de la intensidad de la luz; I_0 es la intensidad de la luz que llega a la superficie del agua; e I_s , es la intensidad de la luz a la que la tasa de crecimiento es máxima. Dado que el efecto de la intensidad de la luz sobre el fitoplancton se manifiesta en un incremento o decremento en la magnitud de su tasa de crecimiento, el factor $F(I)$ puede incorporarse a la ecuación (2) y así obtener otra en la que se consideren los efectos de la intensidad de la luz.

$$N_t = N_0 e^{(\mu_m \cdot F(I) \cdot t)} \quad (5)$$

En esta ecuación, la tasa de crecimiento μ , es la máxima (μ_m); y $F(I)$, se define por la ecuación (4).

Debido a que el comportamiento de la actividad fotosintética bajo condiciones en que $I_0 > I_s$ no está bien definido, y a que existe un nivel de I en el que prácticamente ya no hay crecimiento, se establecen

los siguientes límites para la ecuación (4)

$$F(I) = 1 \quad \text{para } I > I_s$$

$$F(I) = 0 \quad \text{para } I = I_c$$

Donde I_c es el punto en el cual la intensidad de la luz recibida es igual a la intensidad de compensación, que es el límite en el cual termina la zona fótica (Anderson, 1969) y en donde el proceso de producción iguala al de respiración; y por lo tanto, es el punto en el que la producción neta es igual a cero.

De la ecuación (5) puede derivarse otra que permite estimar el tiempo de duplicación celular afectado por $F(I)$

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu_m \cdot F(I)} \quad (6)$$

Por otro lado, en los cuerpos de agua naturales la intensidad de la luz disminuye exponencialmente con la profundidad, dependiendo de las características ópticas del agua, como la turbiedad, el color y su contenido de sólidos particulados y disueltos. Esta reducción de la intensidad de la luz con la profundidad se describe adecuadamente con la ecuación exponencial de Lambert-Beer (Wetzel, 1981; Chapra y Reckhow, 1983 y De Victorica, 1989), la cual en su forma diferencial es

$$\frac{dI}{dz} = -KI \quad (7)$$

Integrando la ecuación (7) entre los límites I_0 para $t = t_0$ e I_z para $t = t$, se obtiene

$$I_z = I_0 e^{-K \cdot z} \quad (8)$$

En la ecuación (8), I_z es la intensidad de la luz a la profundidad z , I_0 es la correspondiente a la superficie del agua, y K es el coeficiente de atenuación de la luz en el agua.

Combinando la ecuación de Steele y la de Lambert-Beer (De Victorica, 1989) se obtiene una ecuación para determinar la reducción de la tasa de crecimiento en función de la atenuación de la luz dada por la

profundidad

$$F(I)_z = \frac{I_0 e^{(-k \cdot z)}}{I_s} e^{(1 - \frac{I_0}{I_s})} \quad (9)$$

Finalmente, sustituyendo $F(I)$ por $F(I)_z$ en las ecuaciones (5) y (6) se obtiene

$$Nt_z = N_{0z} \exp (\mu_m \cdot F(I)_z \cdot t) \quad (10)$$

$$t_{d_z} = \frac{\ln 2}{\mu_m \cdot F(I)_z} \quad (11)$$

La ecuación (10) permite conocer el crecimiento fitoplanctónico a cualquier profundidad en términos de la intensidad de la luz que recibe, mientras que la ecuación (11), su tiempo de duplicación.

Estas ecuaciones son fundamentales para la estructuración de los modelos dinámicos de crecimiento fitoplanctónico. (Patterson, 1968; Jasby y Platt, 1976; Chapra y Reckhow, 1983; De Victorica, 1989 y Martino, 1989).

6. RESULTADOS Y DISCUSION

Debido a que los bioensayos algales se han convertido en una prueba muy valiosa en la estimación de la calidad del agua, especialmente en relación con la eutroficación, y a que todos los lagos de México y del mundo tienden a la eutroficación por el gran aporte de nutrimentos, se escogió el lago viejo de Chapultepec para realizar cultivos algales en el laboratorio, ya que dicho lago representa un comportamiento similar a un lago eutrófico y las especies que se encuentran en él se pueden encontrar en otros lagos, que tienen las mismas condiciones. (Samano, 1934; Samano, 1944; Palmer, 1962; Ortega, 1984; Sánchez, 1986 y Martino, 1989; Ver cuadros 9, 10, 11 y Anexo I).

En el Cuadro 7 Anexo I se muestran las características iniciales de la muestra de agua extraída del lago y de las correspondientes a 3 semanas después de inoculadas en el medio de cultivo, como era de esperarse hubo un incremento tanto en número de organismos y consecuentemente de clorofila "a" ya que las condiciones de laboratorio, obviamente fueron más favorables que aquellos del medio natural.

Por otro lado, en el medio de cultivo se observaron cambios en la composición algal con respecto al medio natural, y como puede observarse en el Cuadro 8 del Anexo I, el género *Microcystis* sp. en el medio natural era más abundante seguido por los géneros *Scenedesmus* sp, *Anabaena* sp. y *Oscillatoria* sp., en cambio, en el medio 3 semanas

después, *Microcystis* sp. fue desplazada por *Scenedesmus* sp., desarrollándose los géneros *Oocystis* sp. y *Pedicestrum* sp. y en menor cantidad *Anabaena* sp. y *Oscillatoria* sp.

Tal comportamiento se comprende si se considera que el género *Microcystis* sp. se desarrolla mejor en presencia de Nitrógeno amoniacal (Wetzel, 1981 y Alcocer, 1988) aspecto que prevalece en condiciones naturales del lago, dado que la experimentación se llevó en un ambiente cerrado y en ausencia de Nitrógeno amoniacal en el medio de cultivo el mencionado género algal no progresó y si el género *Scenedesmus* sp. que se vió favorecido por tales condiciones cambiantes y ha sido considerado cosmopólita (Rhee 1973 y Margalef, 1983). Este comportamiento está acorde con el postulado por Darley (1987), quién establece que las especies que crecen bien en cultivo no siempre son las mismas especies que son más abundantes o "importantes" en los sistemas naturales.

6.1 Efecto de la intensidad luminosa sobre el crecimiento fitoplanctónico del cultivo mixto

En la Figura 2 se muestran los resultados de la influencia de las siete intensidades luminosas utilizadas, sobre el crecimiento fitoplanctónico del cultivo mixto. En esta figura se observa la respuesta promedio del cultivo mixto a las diferentes intensidades luminosas ensayadas, y que a la intensidad de 6,000 lux, se obtuvo el mayor número de organismos.

Entre las 60 y 80 horas del experimento, fué notoria una tendencia estacionaria del crecimiento celular en las intensidades de 10,000, 8,000 y 6,000 lux, y entre las 78 y 108 horas se observó la misma tendencia en las intensidades restantes. El tramo horizontal del grupo de curvas representa las condiciones de saturación de la luz, excepto para la intensidad de 500 lux, en la cual no se observó mayor crecimiento desde el inicio de su inoculación; esto se debió a que la producción bruta igualó a la respiración, de modo que no pudo quedar producción neta y se llegó a lo que se llama punto de compensación de las algas (Anderson, 1969; Hall, 1983; Darley, 1987). La máxima densidad celular en la intensidad de 6,000 lux, fue de 1.36×10^5 cél/ml a las 72 horas.

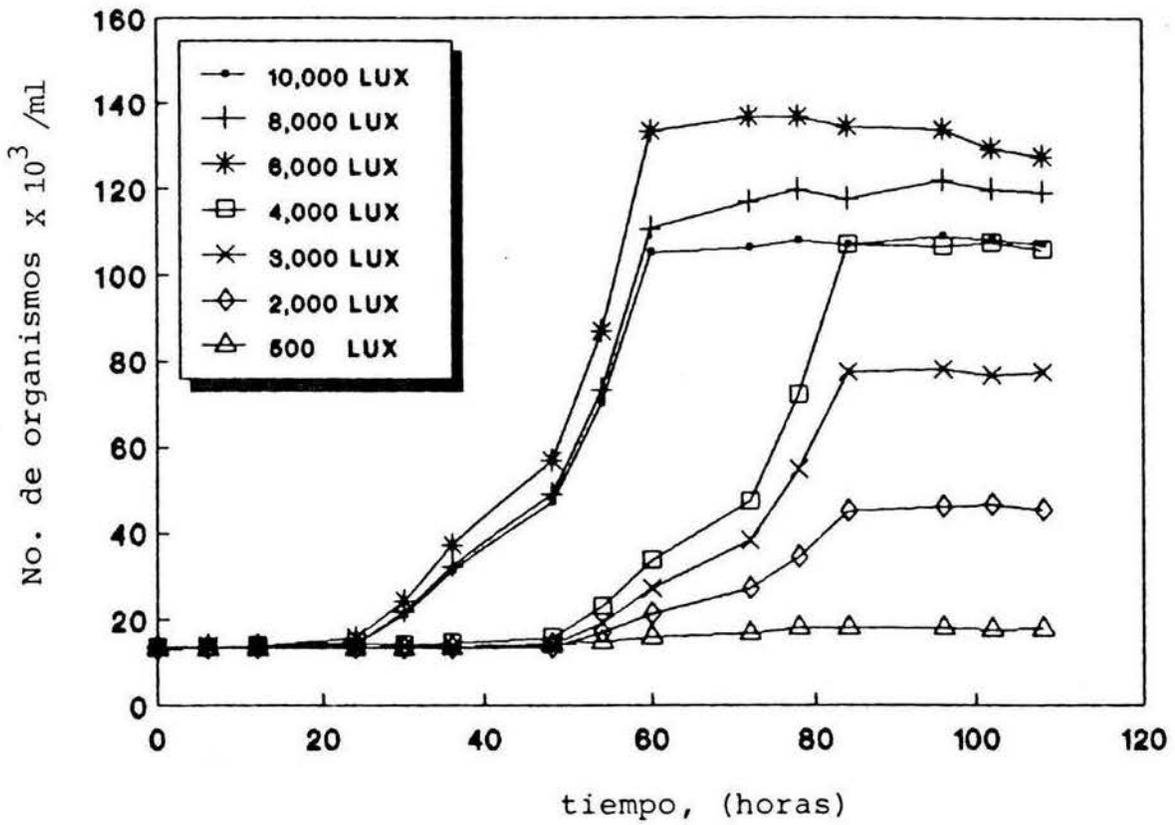


Fig 2. Efecto de la intensidad de la luz sobre el crecimiento de un cultivo mixto de algas.

La respuesta de la tasa de crecimiento a las variaciones de la intensidad luminosa se muestra en la **Figura 3**. En ella se observa que la región de intensidad de luz límite se localiza alrededor de los 500 lux, más abajo de la cual ya no se observa ningún crecimiento. Esto se pudo comprobar haciendo una extrapolación con ayuda de el programa de computadora y la ec. de **Steele (ec. 4)**. Cabe mencionar que en la literatura consultada se menciona que la intensidad luminosa a la cual la producción primaria iguala a la respiración, suele quedar entre los 100 y 400 lux (**Wetzel, 1981; Hall, 1983; Margalef, 1983**). También puede observarse que a medida que se incrementa la intensidad luminosa, la tasa de crecimiento aumenta hasta un nivel en el que, más allá de esa intensidad, la cual fue de 6,000 lux (nivel conocido como intensidad de saturación), el efecto de la luz es negativo y la tasa de crecimiento paulatinamente empieza a decrecer, como sucedió en las intensidades de 8,000 y 10,000 lux, en las que se observa una fase de decaimiento.

En la **Figura 4** se muestra la relación entre las tasas de crecimiento y el tiempo de duplicación (t_d) correspondiente al cultivo mixto usado en la experimentación. En la figura se puede observar que el tiempo de duplicación es inversamente proporcional a la tasa de crecimiento y la intensidad de la luz; por ejemplo, para una tasa de crecimiento de 1.708 d^{-1} , el tiempo de duplicación es del orden de 9.7 horas para una intensidad luminosa de 6,000 lux; en cambio, para una tasa de crecimiento de 0.354 d^{-1} , la cual corresponde a una intensidad luminosa de 500 lux, el tiempo de duplicación es del orden de 46 horas. El mismo comportamiento se observó bajo las diferentes condiciones usadas en la experimentación (como se muestra en el **Cuadro 2**).

CUADRO 2. INFLUENCIA DE LAS INTENSIDADES LUMINOSAS SOBRE LA TASA DE CRECIMIENTO DEL CULTIVO MIXTO.

INTENSIDAD LUMINOSA (lux)	μ máx d^{-1}	t_d (horas)
6,000	1.708	9.7392
4,000	1.587	10.4808
3,000	1.408	11.8128
2,000	1.107	15.0264
500	0.354	46.992

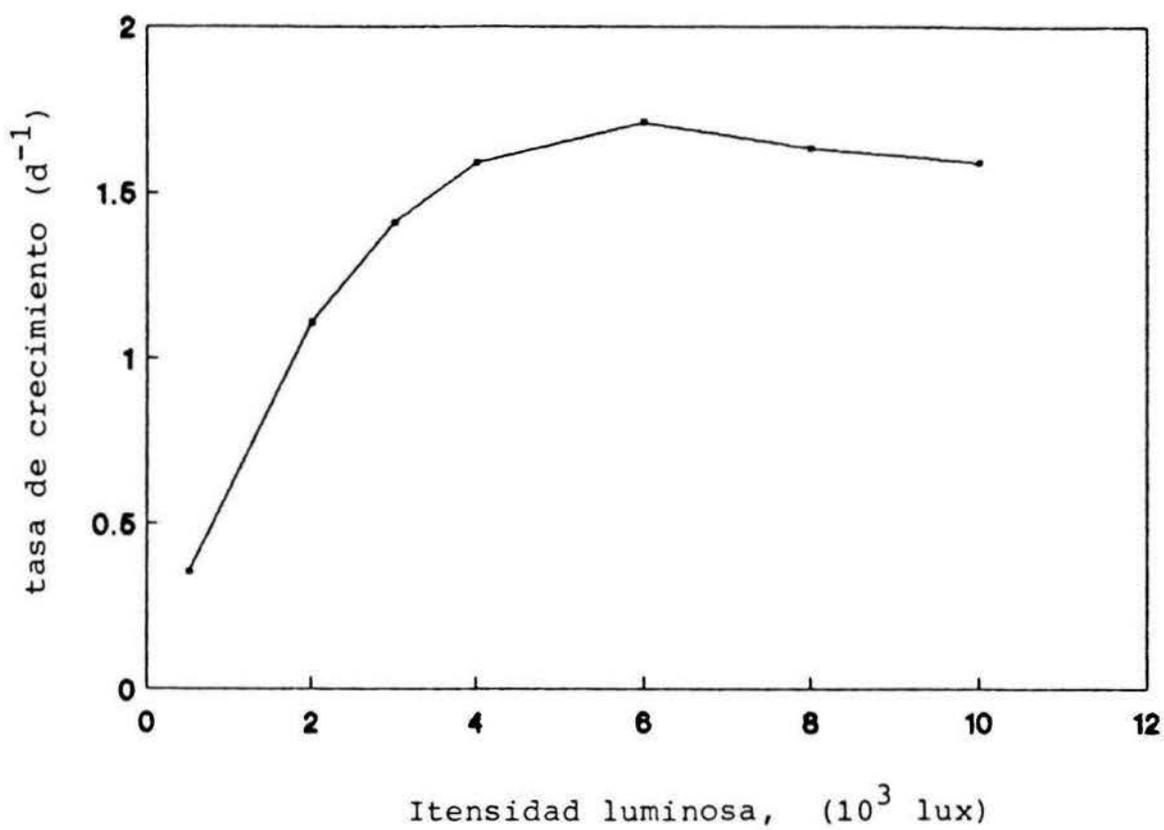


Fig 3. Efecto de la intensidad luminosa sobre la tasa de crecimiento de un cultivo mixto de algas.

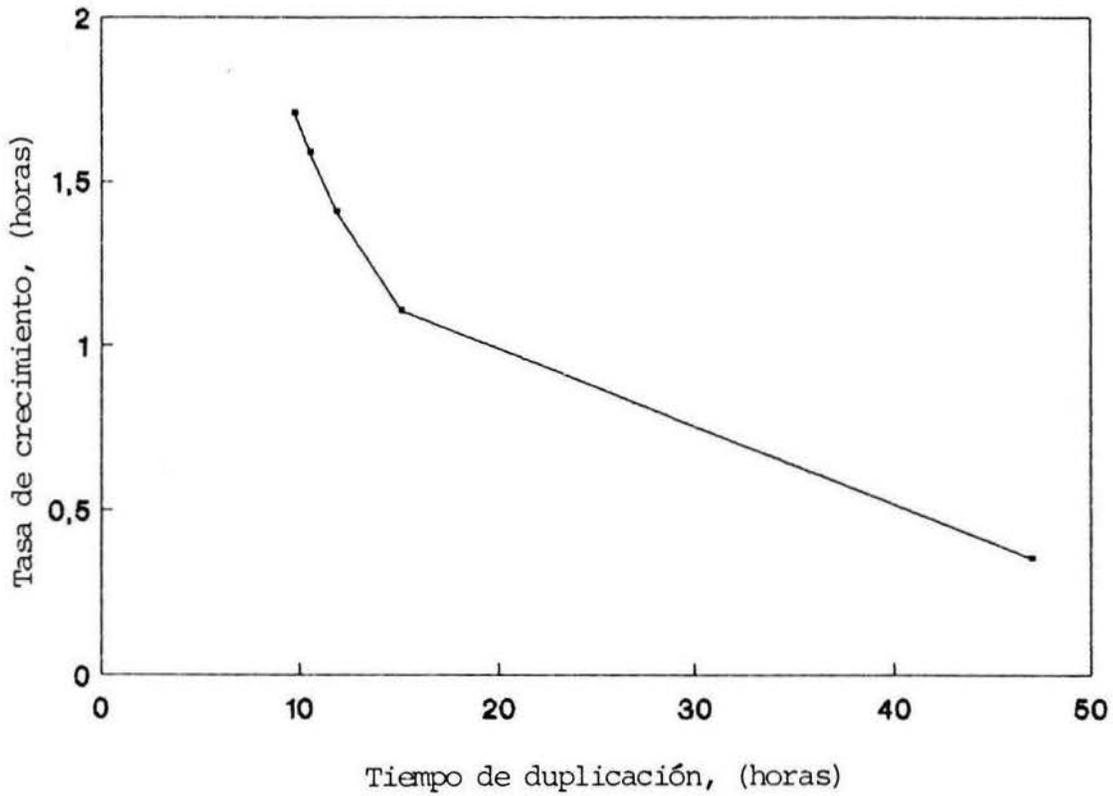


Fig 4. Relación entre la tasa de crecimiento y el tiempo de duplicación algal.

Para calcular la tasa máxima de crecimiento se aplicó la ecuación (2) y para calcular el tiempo de duplicación, la ecuación (3).

6.2 Efecto de la intensidad luminosa sobre la variación de la clorofila "a".

De acuerdo con lo reportado en la literatura, la inhibición de la producción de clorofilas se empieza a manifestar desde los 8,000 hasta intensidades mayores a los 20,000 lux, según la especie, y la inhibición es más intensa a temperaturas elevadas, elevada concentración de O_2 y bajas concentraciones de elementos nutritivos; el efecto depende, naturalmente, de si las algas están adaptadas a la luz más o menos intensa (Margalef, 1969, Larcher, 1977, Margalef, 1983).

Los cultivos de algas mantenidos en luz débil del laboratorio, se adaptan a menudo a la sombra, pero cuando el suministro de luz se incrementa con objeto de obtener un buen rendimiento, la eficiencia baja (Odum, 1983); esto ocurre generalmente cuando se sobrepasa del punto de saturación de la luz, como se comprueba con los datos de la **Figura 5**. En ésta se puede observar, cómo las células adaptadas a la luz de mucha intensidad tienen concentraciones de clorofila "a" menores (10,000 y 8,000 lux) que las adaptadas a la luz de poca intensidad (500 lux), pero también que existen valores intermedios o muy similares en las concentraciones de clorofila de las algas crecidas a poca intensidad, como es el caso de 2,000, 3,000, 4,000 y 6,000 lux, en que se observa buen incremento en la concentración de clorofilas; esto se debe, seguramente, a que estas intensidades no inhiben el desarrollo de las clorofilas, y a que el cultivo se mantuvo a temperatura y concentración de nutrimentos adecuados, bajo un ciclo de luz-oscuridad. (Odum, 1983 y Hall, 1983).

6.3 Efecto de la intensidad luminosa sobre el oxígeno disuelto (OD)

La fotosíntesis comienza con la absorción de la luz por medio de la clorofila de los cloroplastos; las moléculas de agua sirven como donadores de electrones para reducir a las moléculas oxidadas o "excitadas" de clorofila, y así liberar oxígeno molecular (Larcher, 1977; Hall, 1983).

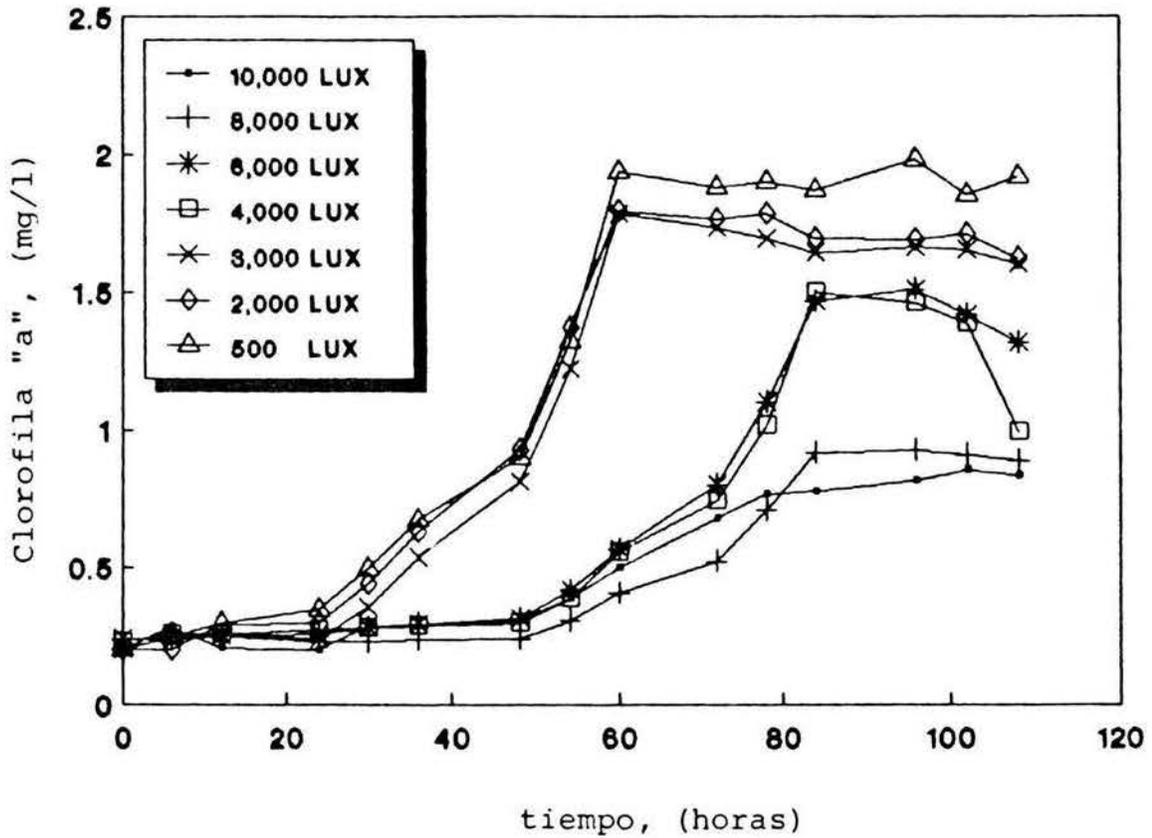


Fig 5. Comportamiento de la productividad fitoplanctónica, en términos de clorofila "a", para cada una de las intensidades de luz usadas en la experimentación.

Una molécula de clorofila de un alga que recibe iluminación débil, absorbe un cuanto de luz en unos pocos minutos. A esta velocidad una molécula de clorofila necesita casi una hora para captar los cuantos de luz necesarios para el desprendimiento de una molécula de oxígeno. Pero si el organismo recibe suficiente luz, las velocidades máximas de incorporación de CO_2 y desprendimiento de O_2 se alcanzan rápidamente (Hall, 1983).

Una forma de medir la producción fotosintética en un cultivo algal, es a través de la determinación del oxígeno disuelto en el medio líquido. En la **Figura 6** se muestran las variaciones de la producción fotosintética (medida como *OD*), con respecto de la intensidad luminosa; se observa que la mayor producción se obtiene a las mayores intensidades (especialmente a 6,000 lux), y es prácticamente nula a intensidades menores, como es el caso de los 500 lux, en que la tasa de respiración es igual a la tasa bruta de fotosíntesis, por lo que la célula detiene su crecimiento, esto es, la fotosíntesis neta es cero.

El punto de compensación (intensidad y profundidad) se expresa mejor sobre una base de 24 horas, debido a que en el día las células acumulan reservas de carbono para sostener la respiración durante la noche, a fin de equilibrar el periodo de 24 horas. Los datos de que se dispone, sugieren que la tasa de respiración en la oscuridad disminuye durante el crecimiento limitado por la luz (Hall, 1983; Darley, 1987), como se observa en la intensidad de 500 lux, **Figura 6**. Cuando la intensidad de la luz es demasiado baja no hay fotosíntesis de modo que sólo se da la respiración. Por eso se observa que después de lapsos de oscuridad se obtienen valores bajos de producción de oxígeno. Este comportamiento se debe a que durante ese lapso únicamente prevalece el término de decaimiento de oxígeno sobre el de la producción, dado que ya no hay energía disponible para la fotosíntesis; pero a medida que la luz se presenta, empieza a subir la concentración de *OD*, lo que implica que la planta requiere de un lapso corto para comenzar a producir oxígeno después de haber suspendido la fotosíntesis por falta de luz. (Larcher, 1977 y Hall, 1983).

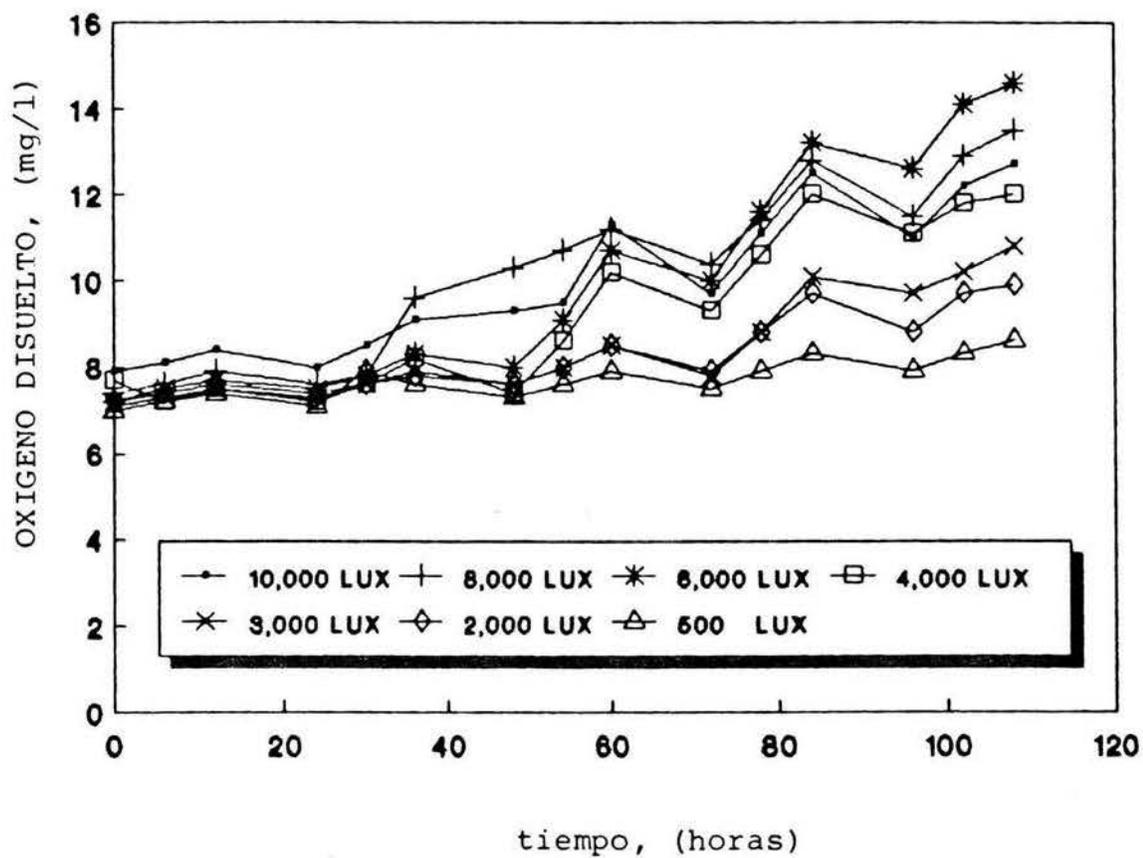


Fig 6. Efecto de la intensidad luminosa sobre la producción de oxígeno fotosintético.

6.4 Efecto de la intensidad luminosa sobre el carbón orgánico total (COT)

Una de las formas para expresar la biomasa fitoplanctónica es cuantificando la cantidad total de carbono fijado, y el resultado de tales mediciones se muestra en la Figura 7. En ella se observa un aumento continuo en la fijación de carbón, tanto durante el lapso de iluminación, como en el de oscuridad.

Tal comportamiento concuerda con la teoría de la carboxilación, la cual establece que la fijación de carbono puede efectuarse aún en ausencia de luz (Devlin, 1970; Larcher, 1977). En este aspecto, cabe señalar que la heterotrofia o quimio-organotrofia, supone que las algas experimentan un crecimiento y una división celular en condiciones de oscuridad; sin embargo, la heterotrofia carece de importancia cuantitativa en la mayoría de las aguas naturales, ya que se ha demostrado que se le puede llegar a atribuir un 20 % de la fijación total de carbón inorgánico durante el periodo de oscuridad, por lo que las productividades bruta y neta cuantificadas en términos de carbón son muy similares (Wetzel, 1981; Darley, 1987). Tal comportamiento también se observó durante la experimentación.

6.5 Efecto de la intensidad luminosa sobre la relación carbón:clorofila "a"

Los resultados experimentales para evaluar el efecto de la variación de la intensidad de la luz sobre la relación carbón:clorofila "a", se muestran en los Cuadros 3 y 4 y en las Figuras 8 y 9. En ellos puede observarse que en la medida en que la intensidad de la luz aumenta, la relación carbón:clorofila "a" se incrementa; y obviamente, la relación inversa disminuye, como se muestra en el Cuadro 4 y la Figura 9.

El comportamiento observado está acorde con lo enunciado en el inciso 6.2 y en el ámbito de incertidumbre de 4:1 a 150:1 reportado en la literatura (Steele, 1959; Steele y Baird, 1962a y 1962b; Riley, Stommel y Bumpus, 1979; Margalef, 1983).

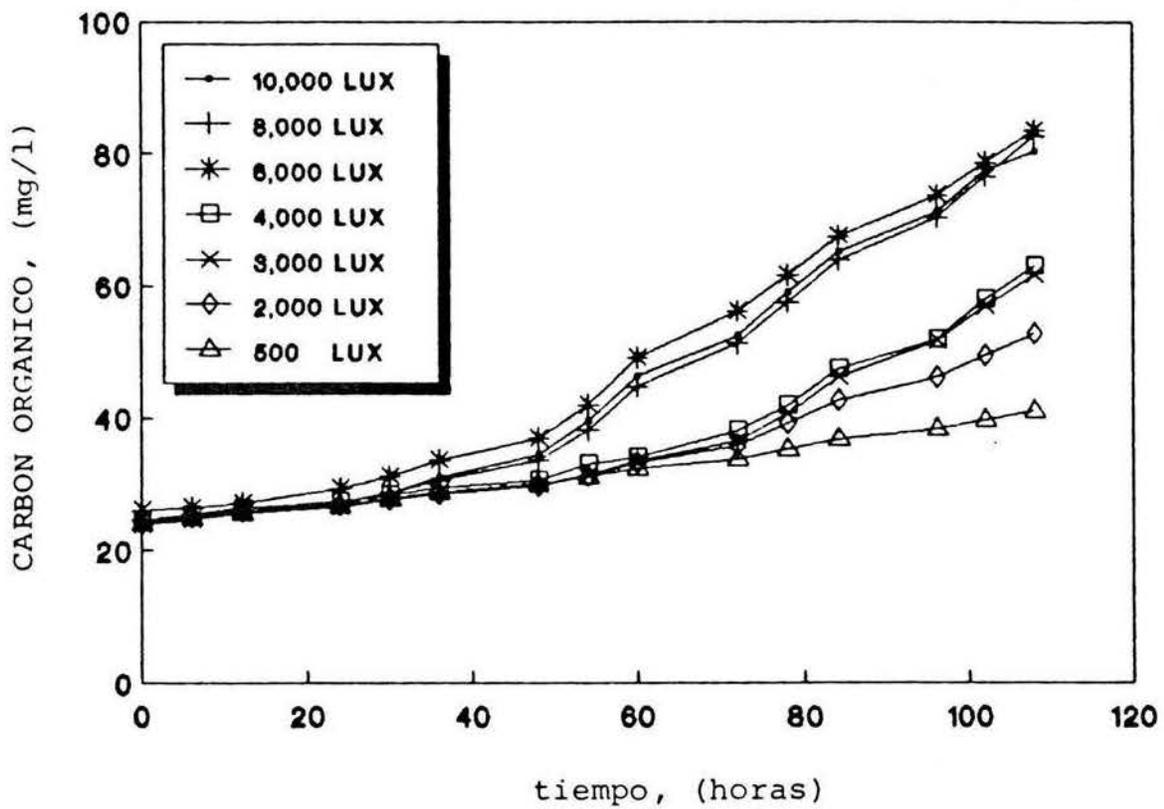


Fig 7. Efecto de la intensidad de la luz sobre la asi milación de carbón.

Riley et al. (1979) sugieren que tal comportamiento esta influenciado por la climatología de la región geográfica donde se ubican los cuerpos de agua, y establecen que para lagos tropicales la relación *carbón:clorofila "a"* es del orden de 140:1, mientras que para las regiones templadas la estipulan de 53:1. Por su lado, Margalef (1983) atribuye que tales variaciones se deben al envejecimiento del cultivo, y concluye que en el inicio la relación *carbón:clorofila* es del orden de 12 a 30, y que después de uno a dos meses el cultivo envejece, dándose relaciones de 20 a 120.

Para el caso del comportamiento observado en los resultados reportados en este trabajo, éste se debe al efecto de las diferentes intensidades de luz usadas en la experimentación, ya que las corridas se realizaron en condiciones de laboratorio controladas y con duraciones menores a un mes.

CUADRO 3. RELACION CARBON:CLOROFILA "a" CON RESPECTO A LA INTENSIDAD LUMINOSA

INTENSIDAD LUMINOSA (lux)	CARBON:CLOROFILA "a" mg/l
10,000	88.6
8,000	91.41
6,000	61.51
4,000	33.87
3,000	29.83
2,000	26.69
500	20.09

CUADRO 4. RELACION CLOROFILA "a"/CARBON CON RESPECTO A LA INTENSIDAD LUMINOSA

INTENSIDAD LUMINOSA (lux)	CLOROFILA "a":CARBON mg/l
10,000	0.0112
8,000	0.0109
6,000	0.0162
4,000	0.0295
3,000	0.0335
2,000	0.0374
500	0.0497

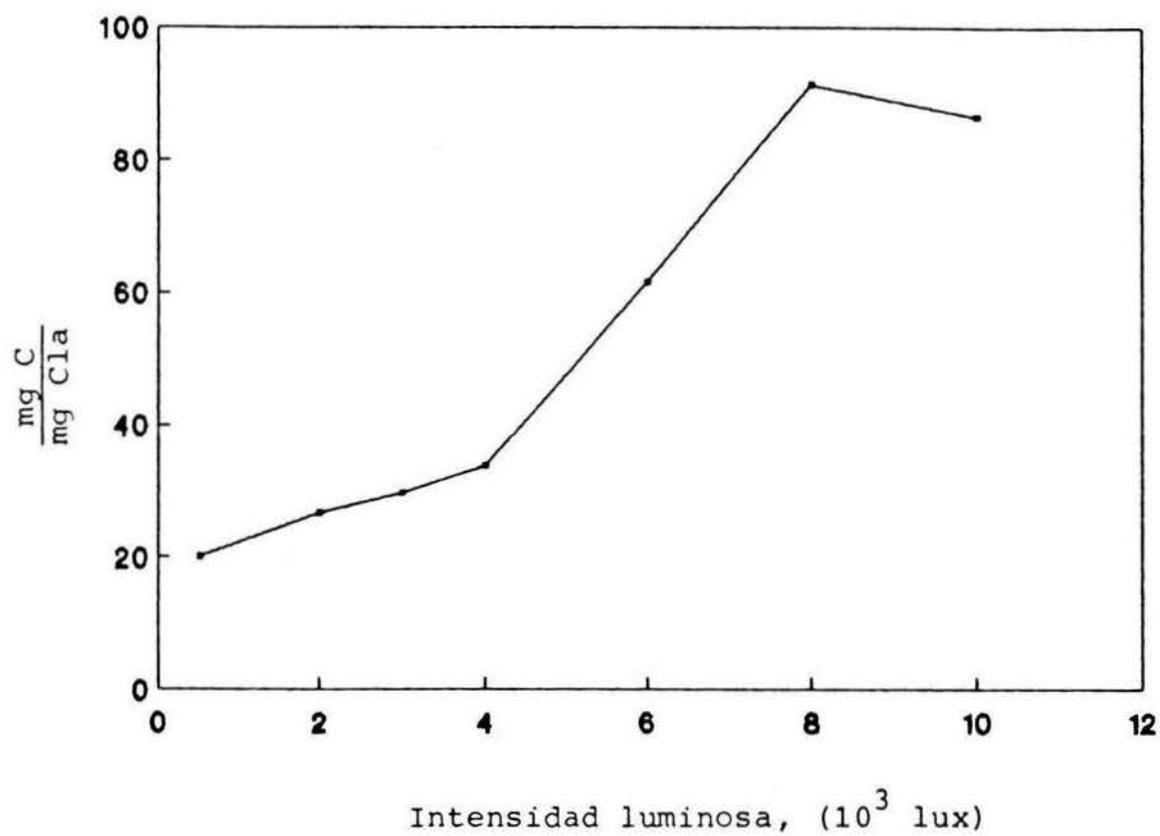


Fig 8. Relación entre el carbón fijado y la clorofila "a" producida, para cada una de las intensidades de luz usadas en la experimentación.

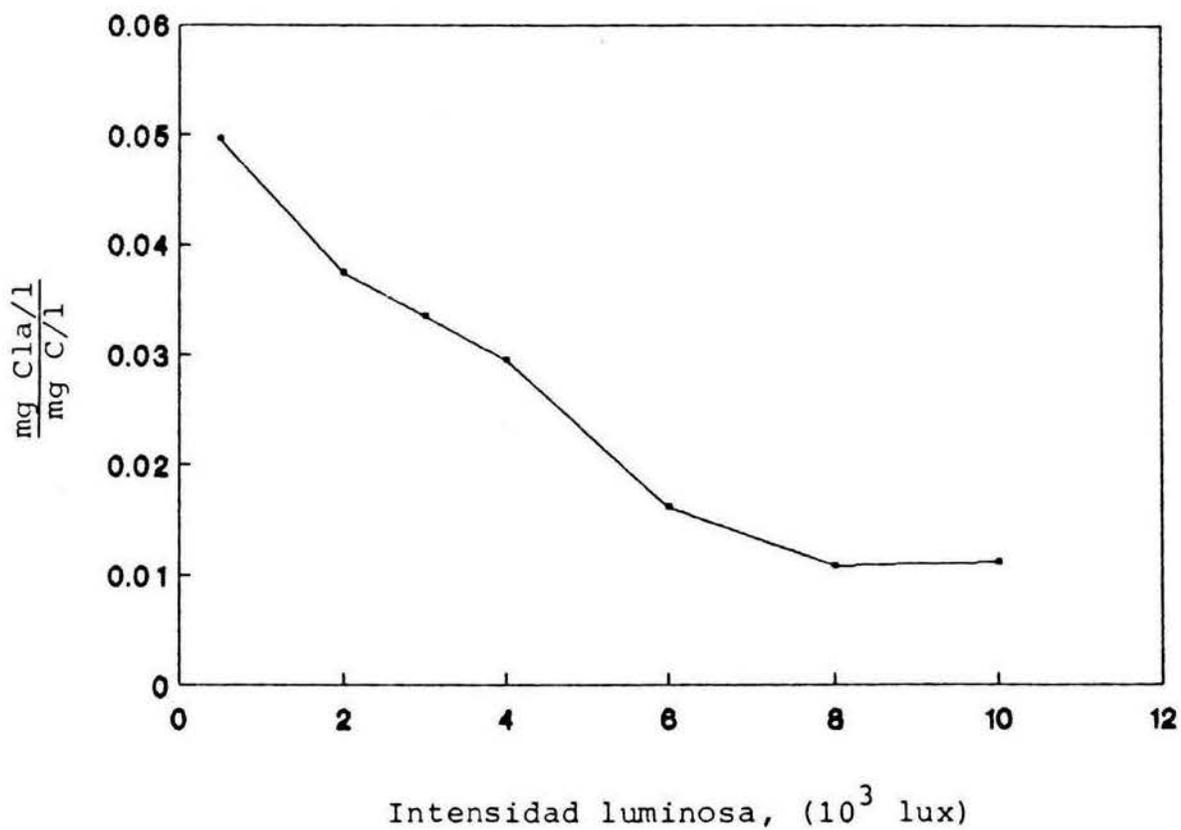


Fig 9. Relación entre la clorofila "a" producida y el carbón fijado con respecto de la intensidad de la luz.

6.6 Asimilación de nutrientes

Unicamente se evaluaron el Nitrógeno y el Fósforo por que son los elementos que más frecuentemente limitan el crecimiento y constituyen un importante nutriente de las algas de aguas dulces; fundamentalmente el fósforo es el regulador principal del mantenimiento de una productividad alta, ya que los compuestos que contienen fósforo desempeñan un papel muy importante en casi todas las fases del metabolismo, en particular en la transformación energética asociada con las reacciones de fosforilación en la fotosíntesis.

Como podrá verse en la **Figura 10** y el **Cuadro 5**, en la intensidad de 500 lux casi no hubo crecimiento, y por consiguiente el consumo de fósforo fue mínimo, ya que se cuantificó un residual de 0.102 mg/l, cantidad muy similar a la inicialmente contenida en el medio de cultivo. En lo que concierne al control de la concentración de fósforo, se verificó que éste nunca fue menor a la concentración de saturación, ya que en las condiciones en que se obtuvo el máximo crecimiento, la concentración final de este elemento fué de 0.009 mg/l.

En lo que respecta al nitrógeno, también para la intensidad de 500 lux casi no hubo asimilación; en cambio, aún para el caso en que hubo más consumo (6,000 lux) el nitrógeno no fué limitante, ya que al final de la prueba se cuantificó una concentración de 1 mg/l, magnitud muy superior a la concentración de saturación media de 0.02 mg/l, que marca la literatura consultada (**Thomann, 1987; Martino, 1989**).

CUADRO 5. RELACIONES ENTRE LAS INTENSIDADES LUMINOSAS Y LA ASIMILACION DE NUTRIMENTOS.

I (Lux)	μ máx.	N-org	P-org	Nitratos	Ortosfosfatos
10,000	1.59	2.5821	0.1351	1.513	0.015
8,000	1.63	2.6281	0.1218	1.3719	0.031
6,000	1.708	3.0531	0.168	1.168	0.009
4,000	1.587	2.222	0.109	1.9921	0.032
3,000	1.408	2.0969	0.078	2.0377	0.051
2,000	1.107	1.4296	0.0282	2.9193	0.083
500	0.354	0.6035	0.019	3.5621	0.102

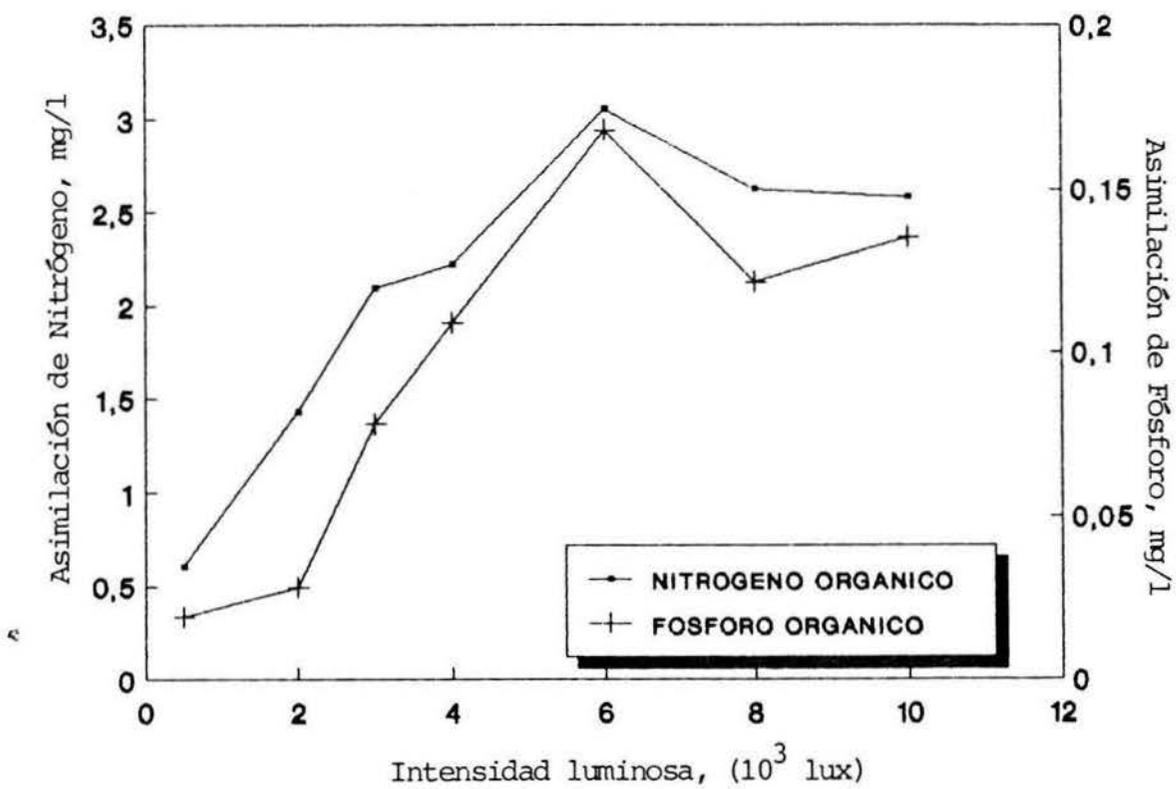


Fig 10. Asimilación de Nitrógeno y Fósforo en relación con la intensidad de la luz.

6.7 Variación de la tasa máxima de crecimiento por efecto de la luz, de acuerdo con la ecuación de Steele

Con el propósito de verificar la validez de la ecuación de Steele para cuantificar el efecto de la intensidad de la luz sobre la tasa de crecimiento, se calcularon, a partir de la tasa de crecimiento máxima obtenida en el laboratorio (1.708 d^{-1}), las correspondientes a las diversas intensidades de luz usadas en la experimentación.

En el Cuadro 6 se muestran las magnitudes de las tasas de crecimiento en relación con la intensidad luminosa, tanto las obtenidas experimentalmente como las calculadas con la ecuación de Steele (ec. 4) mediante un programa de computadora. En dicho cuadro puede observarse la gran similitud que existe entre ambos resultados; este aspecto verifica tanto la validez de la ecuación de Steele como la confiabilidad de los resultados experimentales.

CUADRO 6. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE μ máx COMPARADOS CON LOS QUE GENERA LA ECUACION DE STEELE

INTENSIDAD (Lux)	TASA DE CRECIMIENTO, d^{-1}	
	Exp.	Ec. Steele
6,000	1.708	1.708
4,000	1.58	1.59
3,000	1.408	1.41
2,000	1.107	1.109
500	0.354	0.355

Lo anterior permitió, con la ecuación de Steele y con el auxilio del programa de computadora, analizar el comportamiento de diversas tasas de crecimiento que reporta la literatura como máximas para cultivos mixtos: 3.6 d^{-1} (Salisbury, et al., 1978) y 1.47 d^{-1} (Grenney y Kraszewski, 1981). En el Anexo III se presenta el cuadro de resultados correspondiente y en la Figura 11, el gráfico de los mismos, en el que se observa que los valores obtenidos con la experimentación están dentro del ámbito que marca la literatura.

Dado que para la construcción de las figuras 12, 13 y 14, se utilizó la ecuación de crecimiento, fue necesario introducir factores de conversión para expresar los resultados en términos de Cl "a", carbón y

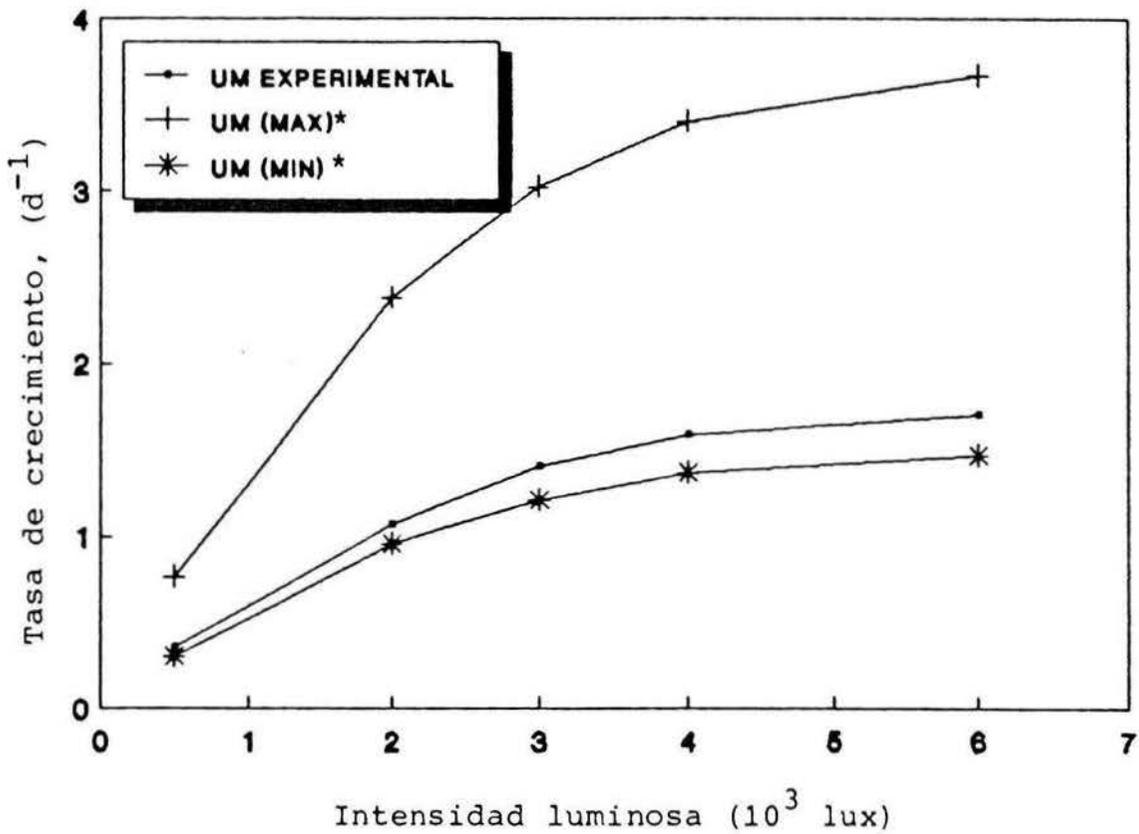


Fig 11. Comportamiento de las tasas máximas de crecimiento experimental y las que cita la literatura para cultivos mixtos, de acuerdo con la ecuación de Steele.

* Ambito que cita la literatura

UM: Tasa máxima de crecimiento

OD. Tales factores se obtuvieron sometiendo los datos experimentales correspondientes a un análisis de regresión exponencial,, dando como resultado los siguientes factores de conversión: $Cl "a"/No. org. = 1.5 \times 10^{-5}$, $Cl "a"/C = 0.0229$ y $Cl "a"/OD = 0.139$, con coeficientes de correlación de 0.98, 0.94 y 0.97, respectivamente. (Las hojas de cálculo se encuentran en el **Anexo III**).

Cabe señalar que la magnitud de los factores $Cl "a"/C$ y $Cl "a"/OD$ obtenidos, están dentro del ámbito que cita **Steele y Baird (1962a)**, (0.01 - 0.04) para el primero, y de 0.133 que cita la **EPA (1985)**, para el segundo. No se encontró información alguna para la relación $Cl "a"/No. org.$

En la **Figura 12** se muestran los resultados calculados con el programa de computadora, de la producción horaria de la *clorofila "a"* con respecto del tiempo (horas) y en relación con la intensidad de la luz, como se podrá ver la concentración de clorofila es variable dependiendo del tiempo y de la intensidad luminosa (**Hall, 1983**).

Conviene hacer notar que existe una discrepancia entre los resultados mostrados en esta figura y los de la **figura 5**. Tal discrepancia se debe a que la **figura 12** se construyó usando la ecuación de **Steele** alimentada con datos experimentales, la cual no reconoce el hecho de que en la naturaleza, como ya se explicó en el inciso 6.2, las algas tienden a producir más clorofila cuando están sometidas a bajas intensidades de luz, para mantener su ritmo metabólico.

En la **Figura 13** se muestran los resultados de simular la producción fotosintética horaria en cada intensidad luminosa; en ésta se observa que la máxima cantidad de oxígeno al final del fotoperiodo se concentra en las intensidades más altas, como se puede ver en el caso de 6,000 lux también se observa el efecto de la baja intensidad luminosa, a 500 lux, la cual no es suficientemente intensa para contrarrestar el efecto del factor de decaimiento sobre la producción, dado que ya no hay energía disponible para la fotosíntesis.

Finalmente, en la **Figura 14** se observan los resultados de la asimilación horaria de carbono para cada intensidad luminosa. Se aprecia un comportamiento similar al observado en la figura anterior ya que la mayor asimilación de carbono se obtiene en la intensidad más

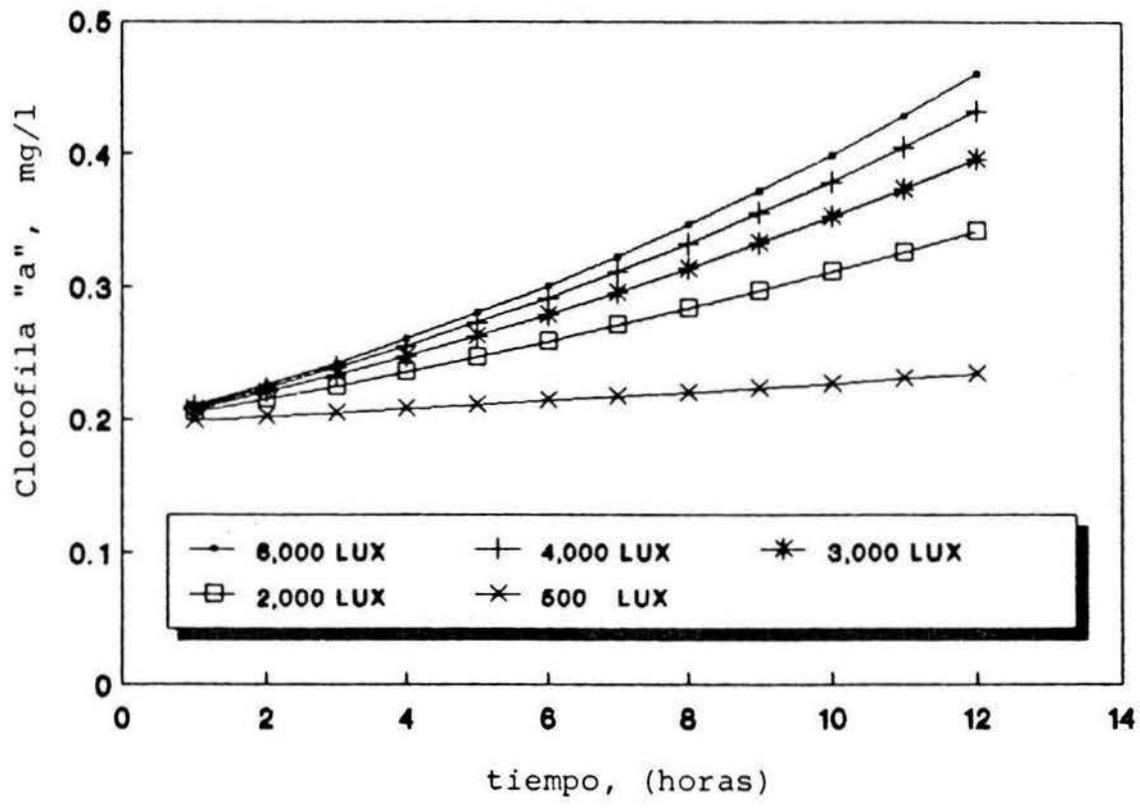


Fig 12. Producción horaria de clorofila "a" en relación con la intensidad de la luz.

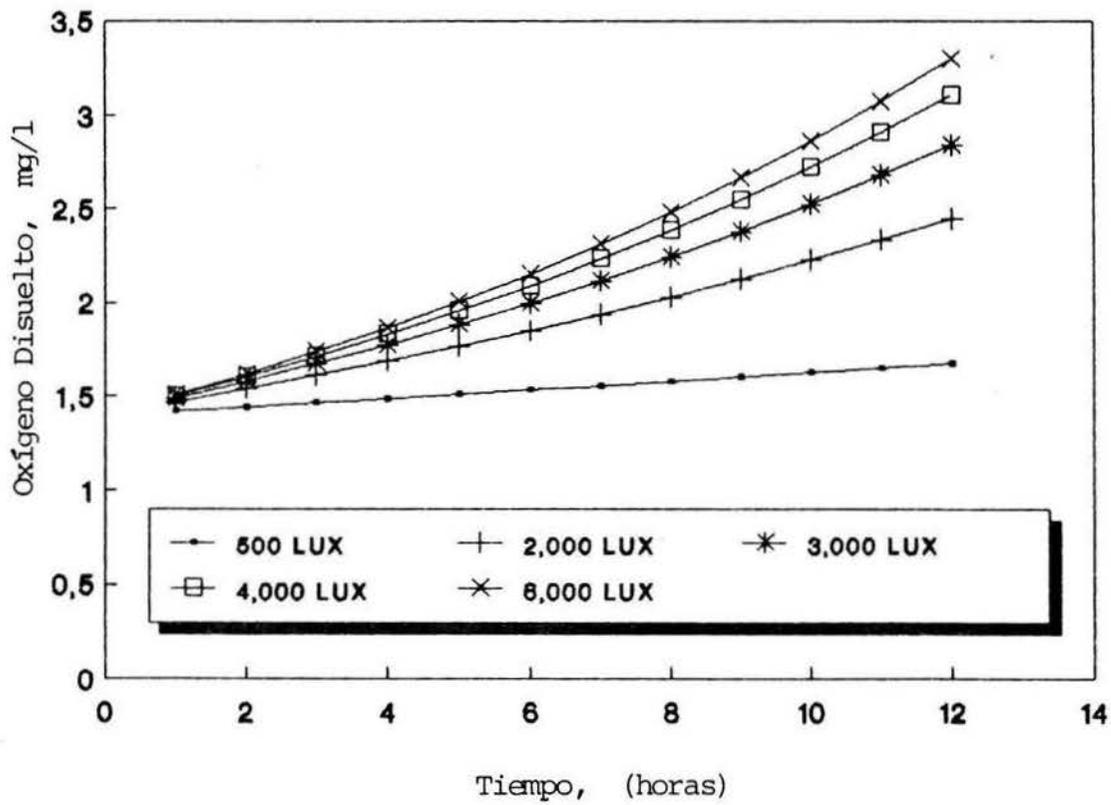


Fig 13. Producción horaria de oxígeno disuelto en relación con la intensidad de la luz.

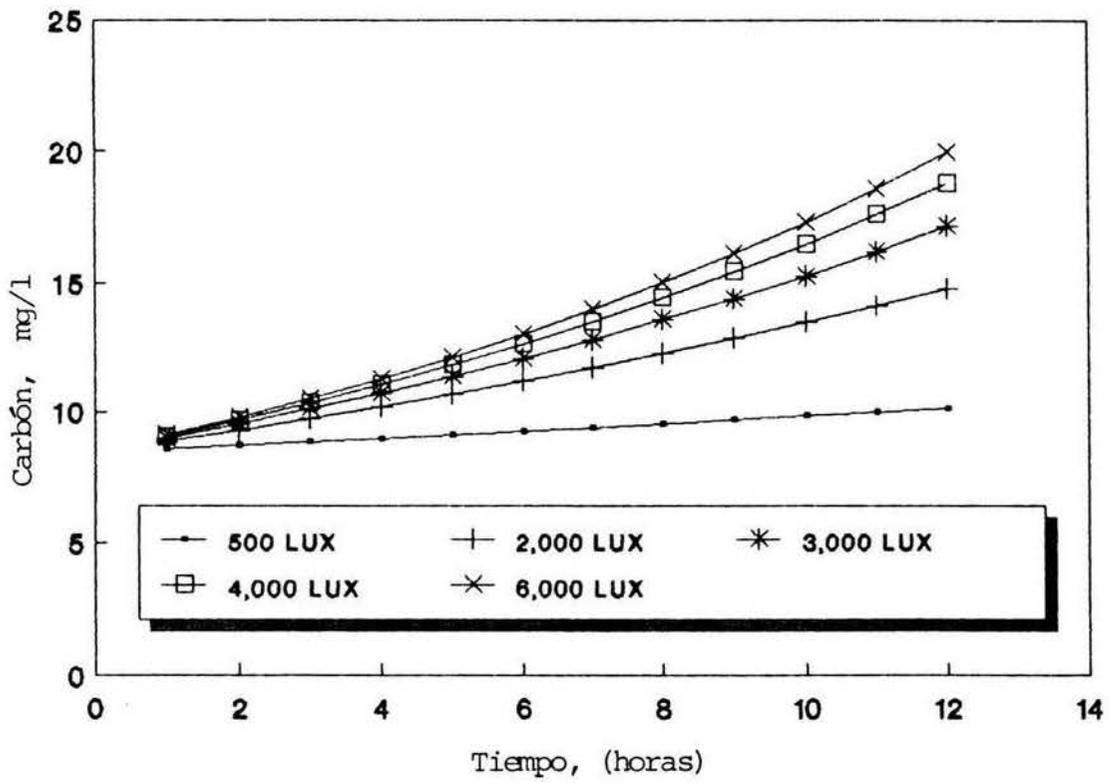


Fig 14. Producción horaria de carbón en relación con la intensidad de la luz.

alta (6,000 lux), y a las intensidades luminosas bajas hay menor asimilación de carbono como se puede apreciar en la intensidad de 500 lux.

6.8 Evaluación de las variables de respuesta medidas: ventajas y desventajas

6.8.1. Número de organismos

En los trabajos con cultivos, el número de células se utiliza como base para reportar datos, ya que es un parámetro importante relativamente fácil de medir. Los datos que se obtienen del número de células a través de observaciones al microscopio son útiles para determinar la estructura de la comunidad y para hacer estudios comparativos temporales y espaciales, pero son menos útiles como medida de biomasa de las algas (Darley, 1987). Debido a la variación extrema del volumen celular entre las especies de algas, resulta difícil convertir el número de células a biomasa sin conocer el volumen celular y el tamaño promedio de cada especie. De aquí que este parámetro no sea muy confiable como única medida de la biomasa algal.

6.8.2 Clorofila "a"

La concentración de clorofila "a" es un buen indicador químico de la biomasa fitoplanctónica en muestras naturales, aún cuando represente sólo alrededor del 1% del peso seco de la célula, y que tal proporción resulte muy variable, (Cullen, 1982, Darley, 1987, Espinosa, 1989, y Garzón, 1990). Dicho pigmento es uno de los parámetros más frecuentemente medidos en estudios de producción (Darley, 1987 y Garzón, 1990); estos autores señalan las siguientes aplicaciones de los datos sobre el contenido de clorofilas en las algas: 1) para estimar la biomasa y productividad algal; 2) para obtener información general sobre la composición de los principales grupos taxonómicos de las algas, así como sobre las condiciones fisiológicas de las comunidades algales; 3) para determinar el estado trófico de las aguas superficiales; 4) para determinar las tendencias a largo plazo en la calidad del agua; 5) para detectar efectos adversos de los contaminantes sobre el plancton, y 6) para determinar tasas de crecimiento máximas y rendimiento de pruebas potenciales de crecimiento algal.

Además la *clorofila "a"* tiene la cualidad de participar íntimamente en la fotosíntesis, una función ecológica muy importante efectuada por las algas, y que es, precisamente una de las variables sobre la cual la influencia de la intensidad luminosa se reflejó de manera inmediata.

Las dificultades principales que tiene la medición de la clorofila son las siguientes: 1) en la mayoría de las determinaciones de este pigmento se incluyen productos de degradación, lo cual da valores erróneos; 2) las proporciones de la clorofila respecto de otros componentes celulares están lejos de ser constantes, y 3) se mide la producción total de las algas presentes y no la de las especies individuales en cuestión. Este último punto en vez de ser una desventaja fue una ventaja para el objetivo de estudio de este trabajo.

A pesar de que este parámetro presenta ciertas desventajas, se utiliza a menudo dado que es más accesible de medir que otros más precisos pero más costosos o complicados.

6.8.3 Oxígeno Disuelto

Desde 1927, la medición de los cambios de oxígeno observados en los ecosistemas naturales, se han utilizado ampliamente como medida de la producción primaria, ya que la consecuencia inmediata más importante de la síntesis fitoplanctónica, desde el punto de vista de la calidad del agua, es la producción de oxígeno (Darley, 1987; De Victorica, 1989).

Cuando se utilice este parámetro para fines de investigación en el laboratorio, debe tenerse en cuenta que se pueden presentar algunos problemas en las mediciones de otros parámetros si se utilizan los mismos recipientes para la determinación del oxígeno, ya que para este fin es necesario utilizar recipientes perfectamente sellados, que implican confinar la muestra de agua por tiempos largos. La ausencia de un espacio dentro del recipiente y que éste no se agita, evita la suspensión de las algas, por lo tanto se concentran en el fondo y esto puede afectar su fisiología; al afectarse su fisiología también se afectan las respuestas al ambiente medidas con otros parámetros.

6.8.4 Carbón orgánico total

Otra forma de expresar la biomasa fitoplanctónica, es mediante su

contenido de carbón, y una de las técnicas más precisas y rápidas para determinarlo, es mediante el analizador de carbón orgánico total (COT), con el cual a pesar de que la inversión inicial del equipo es grande, se evitan los riesgos inherentes al manejo de elementos radiactivos, como es el caso del ^{14}C usado en otras técnicas.

Debido a que se contó con un analizador de COT, fué factible, en este trabajo, aplicar esta técnica para determinar las tasas de crecimiento fitoplanctónico, haciendo un seguimiento del contenido de carbono en la biomasa, con respecto del tiempo.

7. CONCLUSIONES

Del análisis y evaluación de los resultados presentados en el presente trabajo se desprenden las siguientes conclusiones:

- El crecimiento de la comunidad fitoplanctónica estudiada, bajo condiciones de temperatura y nutrimentos no limitantes, mostró estar influenciada directamente por las variaciones de la intensidad lumínica.
- Dado que la tasa máxima de crecimiento se obtuvo a la intensidad de 6,000 lux, ésta constituye la intensidad de saturación I_s para el cultivo fitoplanctónico mixto.
- Dado que a 500 lux se encontró que la producción neta fué igual a cero, este nivel de intensidad corresponde al de compensación.
- La metodología que se siguió para la realización de este trabajo, puede tomarse como modelo para evaluar la influencia de diversos factores sobre el comportamiento de las comunidades fitoplanctónicas en estado natural, ya que se pueden controlar aquéllos que pudieran ser limitantes en algún momento, y así obtener respuestas más precisas que reflejan con fidelidad las características y el comportamiento de las comunidades de un

cuerpo de agua, aspectos que pueden tomarse como indicadores de la calidad o estado trófico del agua.

- La ecuación de **Steele** resulta ser muy valiosa ya que en poco tiempo permite entender la manera en que el crecimiento de la comunidad algal es afectado por la intensidad de la luz.
- La ecuación de **Lambert-Beer** describe la reducción de la intensidad de la luz con la profundidad. Combinando ésta con la de **Steele**, se obtiene una ecuación que permite conocer el crecimiento fitoplanctónico a cualquier profundidad en términos de la intensidad de la luz que recibe; por tanto tales ecuaciones son fundamentales para la estructuración de los modelos dinámicos de crecimiento fitoplanctónico.
- La determinación del *COT* es el método que resultó más preciso para evaluar la biomasa; sin embargo este método es costoso debido al equipo que se necesita. Cabe señalar que no es conveniente basar una evaluación de este tipo en la medición de una sólo variable, ya que, de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, las variables responden de diferente manera ante un factor limitante, y aunque algunas técnicas son más precisas que otras, la información que proporcionan no necesariamente es la misma, por lo que es necesario el estudio integral de los diferentes parámetros que afectan el crecimiento de una comunidad algal mixta.

8. RECOMENDACIONES

- Aunque en la naturaleza las comunidades algales son heterogéneas y de gran importancia, en nuestro país han sido poco estudiadas en ese contexto, y dado el papel que tales comunidades desempeñan en la evolución de la calidad de los cuerpos de agua superficiales, se hace necesario realizar estudios en los que se conserven, en lo más posible, las características naturales de los cuerpos de agua.
- Dado que el cultivo fitoplanctónico utilizado para el desarrollo de este trabajo, es representativo de las comunidades algales que con más frecuencia se encuentran en los cuerpos de agua superficiales de nuestro país, sujetos a descargas de aguas residuales, los resultados obtenidos son confiables, por lo que pueden aplicarse en futuros estudios.
- Es importante y necesario incrementar la comunicación entre los diferentes grupos de investigación en el campo de cultivos de algas, con el objeto de evitar la repetición de estudios, lograr mayores avances en este campo y hacer más eficiente el aprovechamiento de los recursos materiales y humanos con que cuenta nuestro país.

9. BIBLIOGRAFIA

- ALCO CER, D.J. (1988) Caracterización hidrobiológica de los lagos de Chapultepec, México, Tesis Profesional para obtener el título de Maestro en Ciencias del Mar, UNAM, México, D.F., 88 pp.
- ALLISTER, C. D. and J. D. H. Strickland (1961). Light attenuators for use in phytoplankton photosynthesis studies. *Limnol. Oceanogr.* 6:226-228.
- ADERSON, G. C. (1969). Subsurface chlorophyll maximum in the northeast Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 14:386-391.
- APHA, AWWA and WPCF (1985). Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th edition. American Public Health Association, Inc. (Ed). Nueva York. pp. 125, 406, 752 y 959.
- AZOV, Y. (1982). Effect of pH on inorganic carbon uptake in algal cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 43(3):1300-1306.
- BACA, G. R. and C. R. Arnett (1976). A limnological model for eutrophic lakes and impoundments water (Ecology) EPA - 76. US. Enviromental Protection Agency. Washington, D.C. pp. 768 - 772.

- BROWN, T. E. and F. C. Richardson (1968). The effect of growth environment on the physiology of algae. Light intensity. Research Laboratory, Yellow Springs, Ohio. *J. Phycol.* pp. 4, 38 y 54.
- CULLEN, J. (1982). The deep chlorophyll maximum: Comparing vertical profiles of chlorophyll a. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39:791-803.
- CHAPRA, S. and K. Reckhow (1983). Engineering approaches for lake managment, Vol. 2. Butterworth Publishers. Boston, London. pp. 16-25
- CHAVEZ, S. F. (1989). Establecimiento de las mejores condiciones para el cultivo de las algas microscópicas *Isochrysis aff. galbana*, *Parke* y *Tetraselmis chuii* utilizadas como alimento en maricultura. Tesis profesional para obtener el título de Biólogo. ENEP-IZTACALA UNAM. México, D. F. 90 pp.
- DARLEY, M. (1987). Biología de las algas. Enfoque fisiológico. Ed. Limusa. México. 236. pp.
- DE VICTORICA, A. J. (1989). Simulación numérica de la productividad primaria en embalses. Informe para el Instituto de Ingeniería, UNAM. Proyecto 9359. México. 33 pp.
- DEVLIN, M.R. (1970). Fisiología vegetal. Ed. Omega. Barcelona. pp. 245-292.
- EPA (1985) Rates, constants, and Kinetics Formulation in Surface water quality modeling, Second Edition, Alhens 6A. pp 279-318.
- EPPLEY, W. R. (1972). Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fishery Bulletin* 70(4):1063-1083.
- ESPINOSA, C.T.L. (1984). Biomasa fitoplanctónica y afloramiento del Caribe Mexicano y la porción oriental del banco de Campeche. Tesis profesional para obtener el título de Biólogo. ENEP-IZTACALA, UNAM. México, D.F. 121 pp.

- FEE, E. J. (1968). Numerical model for the estimation of photosynthetic production, integrated over time and depth in natural waters. Center for Great Lakes Studies, University of Wisconsin-Milwaukee, pp. 906-911.
- GABOR, U. (1966). Die *Scenedesmus*-arten ungarns Akadémiai Kiadó Budapests Hungary. 173 pp.
- GARZON, Z.M. (1990). Caracterización saprotrófica de los lagos Cráter de la región de los Llanos Puebla. Tesis profesional para obtener el título de Biólogo. ENEP-IZTACALA, UNAM. México, D.F. 90 pp.
- GRENNEY, W. J. and A. K. Kraszewski (1981). Description and application of the stream simulation and assessment model: versión IV (SSAM IV). Instream Flow Information Paper. U.S. Fish and Wildlife Service, Fort Collins, Colorado. Cooperative Instream Flow Service Group. pp. 14-31.
- HALL, O. D. (1983). FOTOSÍNTESIS. 3a. edición. Ed. Omega, S. A. Barcelona. 90. pp.
- JASBY, D. A. and T. Platt (1976). Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 4:504-547.
- KROMKAMP, J., A. Konopka. and R. L. Mur (1988). Buoyancy regulation in light-limited continuous cultures of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Plankton Research* 10(2): 171-183.
- LARCHER, W. (1977). Ecofisiología vegetal. Ed. Omega. Barcelona. 297 pp.
- MARGALEF, R. (1969). Comunidades planctónicas en lagunas litorales. En: Ayala-Castañares, A. y B. F. Phleger (Eds.). Memorias del Simposio Internacional de Lagunas Costeras, UNAM-UNESCO. México, 689. pp.
- MARGALEF, R. (1983). Limnología. Ed. Omega. Barcelona. pp 77-115 y 247-321.

- MARTINO, P. (1989). Curso básico sobre eutroficación. CEPIS. 66 pp.
- ODUM, P.E. (1983). Ecología. 3a. edición. Ed. Interamericana. México. pp. 42-65.
- ORTEGA, M.M. (198). Catálogo de algas continentales recientes de México, U.N.A.M., México, D.F., pp. 10,37,41, 204-230.
- PALMER, M.C. (1962). Algas en Abastecimiento de Agua. Ed. Interamericana, México, D.F., 91 pp.
- PATTEM, B. C. (1968). Mathematical models of plankton production. Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 53:357-408.
- PRESCOTT, G.W. et al. (1972). North American Flora, Series II. Published by the New York. Botanical Garden. 83 pp.
- PRESCOTT, G.W. (1973). Algae. Otto. Koeltz Science Publishers, Germany, 977 pp.
- RADFOR, J. H. (1975). Light-shade adaptation, two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol.* pp. 66, 592 - 5.
- REYNOSO, I., M.T. Sánchez y R. Mendoza (1979). Aislamiento y cultivo experimental de fitoplancton, Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California, A.C., La Paz, B.C.S., México pp. 155-157.
- RHEE, G.Y. (1973). A continuous culture study of phosphate uptake growth rate and polyphosphate in *Scenedesmus* sp. *J. Phycol.* 9, 495-506.
- RILEY, G.A., H. Stommel. and D.F. Bumpus (1979). Quantitative ecology of the plankton of the western. North Atlantic Bull. Bingham Oceanogr. Coll., 12(3):1-169.
- RYTHER, J. H. and D. W. Menzel (1959). Light adaptation by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 4:492 - 497.

- SALISBURY, D. K., J. V. De Pinto., and T. C. Young. (1983). Impact of algal available phosphorus in lake Erie water quality: Mathematical Modeling. For U. S. Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory, Duluth, Minnesota. pp. 141-169.
- SAMANO, B.A. (1940). Contribución al conocimiento de las algas verdes de los lagos del Valle de México. An. Inst. Biol., U.N.A.M., México, 5:149-160.
- SAMANO, B.A. (1940). Algas del Valle de México. Parte II. An. Inst. Biol., U.N.A.M., México, XI:41-50
- SMITH, E. B. (1936). Photosynthesis in relation to light and carbon dioxide. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 22:504-511.
- SANCHEZ, G. (1986). Análisis fitoplanctónico hidrológico de un cuerpo de agua dulce tropical. Laguna de Ameca Colima. Tesis de Licenciatura en Biología, ENEP-Zaragoza, U.N.A.M., México, D.F., 60 pp.
- STEELE, J.H. (1959). The quantitative ecology of marine phytoplankton. *Biol. Rev.* 34:129-158.
- (2) STEELE, J. H. and I. E. Baird (1962a). Carbon-chlorophyll relations in cultures. *Limnol. Oceanogr.* 7:101-102.
- _____ (1962b). Further relations between primary production, chlorophyll, and particulate carbon. *Limnol. Oceanogr.* 7:42-47.
- STEELE, J. H. (1962). Environmental control of photosynthesis in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 7:137 - 150.
- STEIN, D. R. (1979). Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements. Cambridge University Press. England. pp. 289 - 311.
- THOMANN, V. R. and A. J. Mueller (1987). Principles of surface water quality modeling and control. Edition Internacional. ISBN

New York, pp 426-428.

- VOLLENWEIDER, R. A. (1965). Calculation models of photosynthesis depth curves and some implications regarding day rate estimates in primary production measurements. *Mem. Ist. Ital. Hidrobio.* 18 (Suppl.) pp. 425-457.
- WETZEL, G.R. (1981). *Limnología*. Ed. Omega. Barcelona, pp.259-319.
- WOFSY, S. C. (1983). A simple model to predict extinction coefficients and phytoplankton biomass in eutrophic waters. *Limnol. Oceanogr.* 28(6):1144 - 1155

ANEXO I

RESULTADOS DE LAS EVALUACIONES ANALITICAS Y GENEROS ALGALES
DETERMINADOS TANTO EN EL MEDIO NATURAL
COMO EN EL MEDIO DE CULTIVO MIXTO

CUADRO 7. COMPARACION DE RESULTADOS ANALITICOS DEL AGUA COLECTADA EN EL LAGO VIEJO DE CHAPULTEPEC Y DEL MEDIO DE CULTIVO.

PARAMETRO	AGUA DE CHAPULTEPEC	CULTIVO "STOCK" (3 semanas)
OD, mg/l	5.6	7.5
Temperatura, °C	25	25
Clo "a", mg/l	0.5699	1.4865
No. de organismos, No./ml	1.97×10^5	2.51×10^5
Disco de Secchi, cm.	10 a 30	---
Nitratos, mg/l	2.9	0.623
N. orgánico, mg/l	4.217	5.123
Ortofosfatos, mg/l	0.4017	0.0785
F Total, mg/l	1.3324	1.589

CUADRO 8. COMPARACION DE LOS GENEROS ALGALES DETERMINADOS DEL LAGO VIEJO DE CHAPULTEPEC Y DEL CULTIVO ALGAL.

GENEROS ALGALES	
EN EL AGUA DEL LAGO	EN EL AGUA DEL CULTIVO
1. <i>Microcystis</i> sp.	1. <i>Scenedesmus</i> sp.
2. <i>Scenedesmus</i> sp.	2. <i>Microcystis</i> sp.
3. <i>Anabaena</i> sp.	3. <i>Pediastrum</i> sp.
4. <i>Pediastrum</i> sp.	4. <i>Oocistis</i> sp.
5. <i>Oscillatoria</i> sp.	

* La numeración está dada en el orden de abundancia en que se presentan los géneros algales en el agua del lago Viejo de Chapultepec como en el cultivo mixto. (Esta evaluación fue cualitativa)

CUADRO 9. ALGAS COMUNES EN AGUAS CON PROBLEMAS DE EUTROFICACION (Palmer, 1962).

GRUPO Y ALGAS

ALGAS VERDEAZULES (<i>Myxophyceae</i>)
<p><i>Agmenellum quadriduplicatum</i> <i>Anabaena constricta</i> <i>Anacystis montana</i> <i>Anacystis cyanea*</i> <i>Arthrospira jenneri</i> <i>Oscillatoria lauterbornii</i> <i>Oscillatoria limosa</i> <i>Phormidium autumnale</i> <i>Phormidium uncinatum</i></p>
ALGAS VERDES (<i>Chlorophyceae</i> inmóviles)
<p><i>Chorella pyrenoidosa</i> ↙ <i>Chorella vulgaris</i> ↘ <i>Scenedesmus quadricauda</i> <i>Spirogyra communis</i> <i>Stichococcus bacillaris</i> <i>Stigeoclonium tenue</i> <i>Tetraedron muticum</i></p>
DIATOMEAS (<i>Bacillariophyceae</i>)
<p><i>Gomphonema parvulum</i> <i>Melosira varians</i> <i>Navicula cryptocephala</i> <i>Nitzschia acicularis</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>Surirella ovata</i></p>
FLAGELADOS (<i>Euglenophyceae</i>, Volvocales de <i>Chlorophyceae</i>)
<p><i>Carteria multifilis</i> <i>Chlamydomonas reinhardi</i> <i>Chlorogonium euchlorum</i> <i>Cryptoglena pigra</i> <i>Euglena agilis</i> <i>Euglena gracilis</i> <i>Euglena polymorpha</i> <i>Euglena viridis</i> <i>Lepocinclis texta</i> <i>Pandorina morum</i> <i>Pyrobotrys gracilis</i> <i>Spondylomorom quaternarium</i></p>

* Antiguamente *Anacystis cyanea* era conocida como *Microcystis aeruginosa*

CUADRO 10. ALGAS VERDES COMUNES DE LOS LAGOS DEL VALLE DE MEXICO
(Samano, 1935 y Samano, 1940).

GENEROS Y ESPECIES

MICRACTINIUM
<i>Micractinium pusillum</i> <i>Lagerheimia droescheri</i>
ACTINASTRUM
<i>Actinastrum gracillimum</i>
SELENASTRUM
<i>Selenastrum gracile</i> <i>Selenastrum westii</i>
KIRCHNERIELLA
<i>Kirchneriella contorta</i> <i>Kirchneriella lunaris</i>
CHLOROBOTRYS
<i>Chlorobotrys limneticus</i>
CLOSTERIUM
<i>Closterium jeneri</i> <i>Closterium parvulum</i> <i>Closterium moniliferum</i>
PLEUROTAENIUM
<i>Pleurotaenium trabecula</i>
STAURASTRUM
<i>Staurastrum paradoxum</i>
PEDIASTRUM
<i>Pediastrum simplex</i>

CUADRO 10. (CONTINUACION)

COELASTRUM
<i>Coelastrum microporum</i> <i>Coelastrum reticulatum</i>
SCENEDESMUS
<i>Scenedesmus acuminatus</i> <i>Scenedesmus quadricauda</i>
CLOSTERIUM
<i>Closterium malinvernianum</i> <i>Closterium diana</i>
EUGLENA
<i>Euglena sanguinea</i> <i>Euglena polymorpha</i> <i>Euglena acus</i> <i>Euglena spirogyra</i>

CUADRO 11.

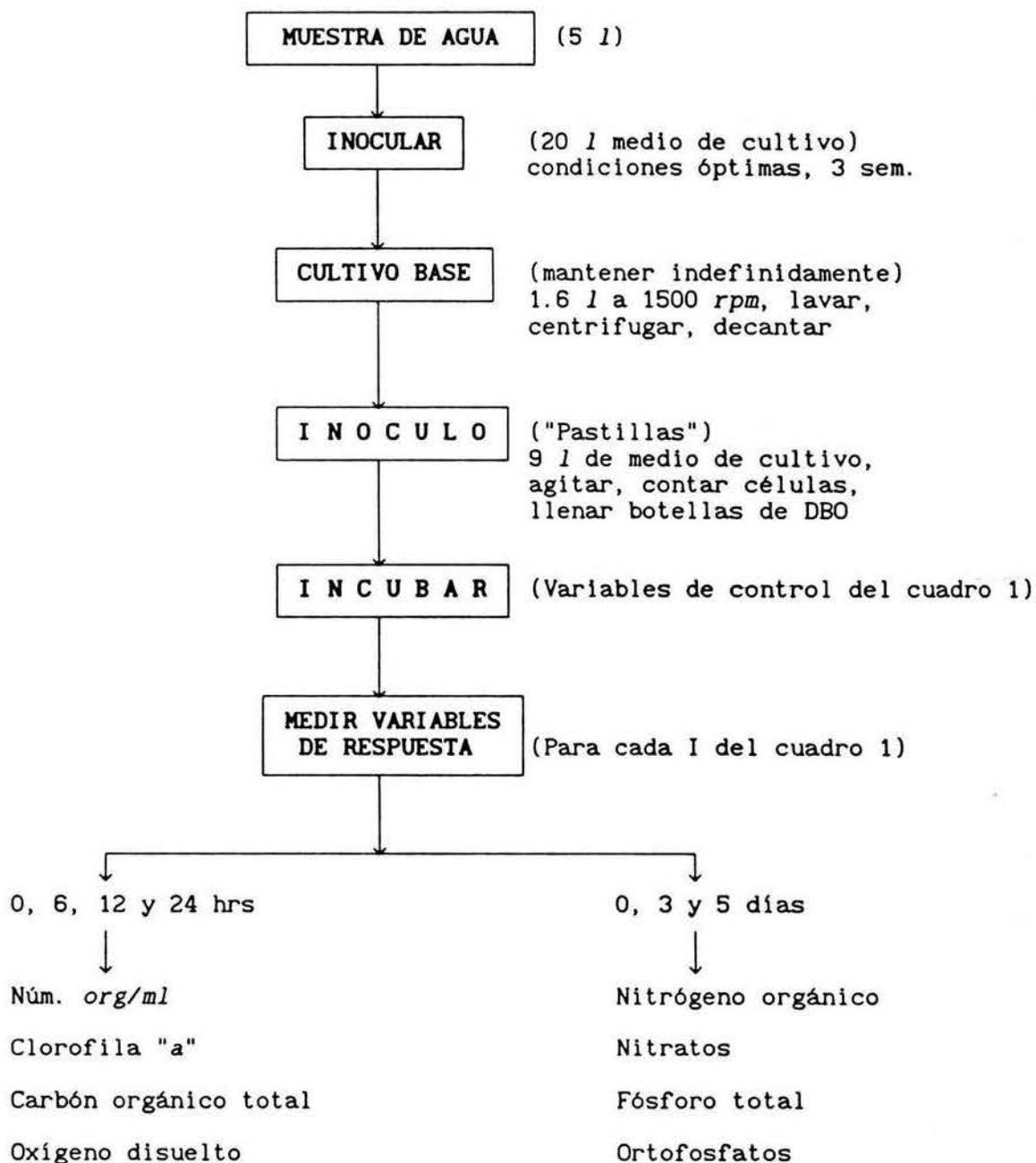
ALGAS DETERMINADAS EN AGUAS DE DIVERSAS LOCALIDADES DEL PAIS. (Ortega, 1984)

<i>Mycrocystis aeruginosa</i>	LOC: D.F.: Miguel Hidalgo: Lago de Chapultepec. Hgo.: Actopan: Convento de Actopan. Méx.: Tianguistenco: Laguna de Victoria. Mich.: Pátzcuaro: Lago de Pátzcuaro. Oax.: San Juan Bautista Tuxtepec. Pue.: Xochiltepec: Laguna de San Felipe Xochiltepec. ----- HAB.: Plantónica, común en lagos y lagunas
<i>Ocystis sp.</i>	LOC.: Méx.: Tianguistenco: Laguna de Victorica ----- HAB.: Plantónica.
<i>Scenedesmus sp.</i>	LOC.: D.F.: Miguel Hidalgo: Lago de Chapultepec, Xochimilco: Lago de Xochimilco Méx.: Texcoco: Lago de Texcoco. ----- HAB.: Plantónica
<i>Anabaena sp.</i>	LOC.: Mich.: Pátzcuaro: Lago de Pátzcuaro. N.L.: Monterrey. Oax.: Ejutla de Crespo: Río Ejutla. ----- HAB.: Planctónica y entre otras algas de lagos y charcas.
<i>Pediastrum sp.</i>	LOC.: D.F.: Lago de Chapultepec. Pue.: Xochiltepec: Laguna de San Felipe Xochiltepec. Mich.: Pátzcuaro: Lago de Pátzcuaro. ----- HAB.: Planctónica en lagos, charcos, ríos, aguas dulces y salobres.
<i>Oscillatoria sp.</i>	LOC.: Hgo.: Ixmiquilpan: Laguna de la Media Luna, Río Tula. ----- HAB.: En lagunas y en aguas termales.

A N E X O II

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL Y SECUENCIA
DE CALCULOS PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA LUZ
SOBRE LA TASA DE CRECIMIENTO

DIAGRAMA DE FLUJO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL



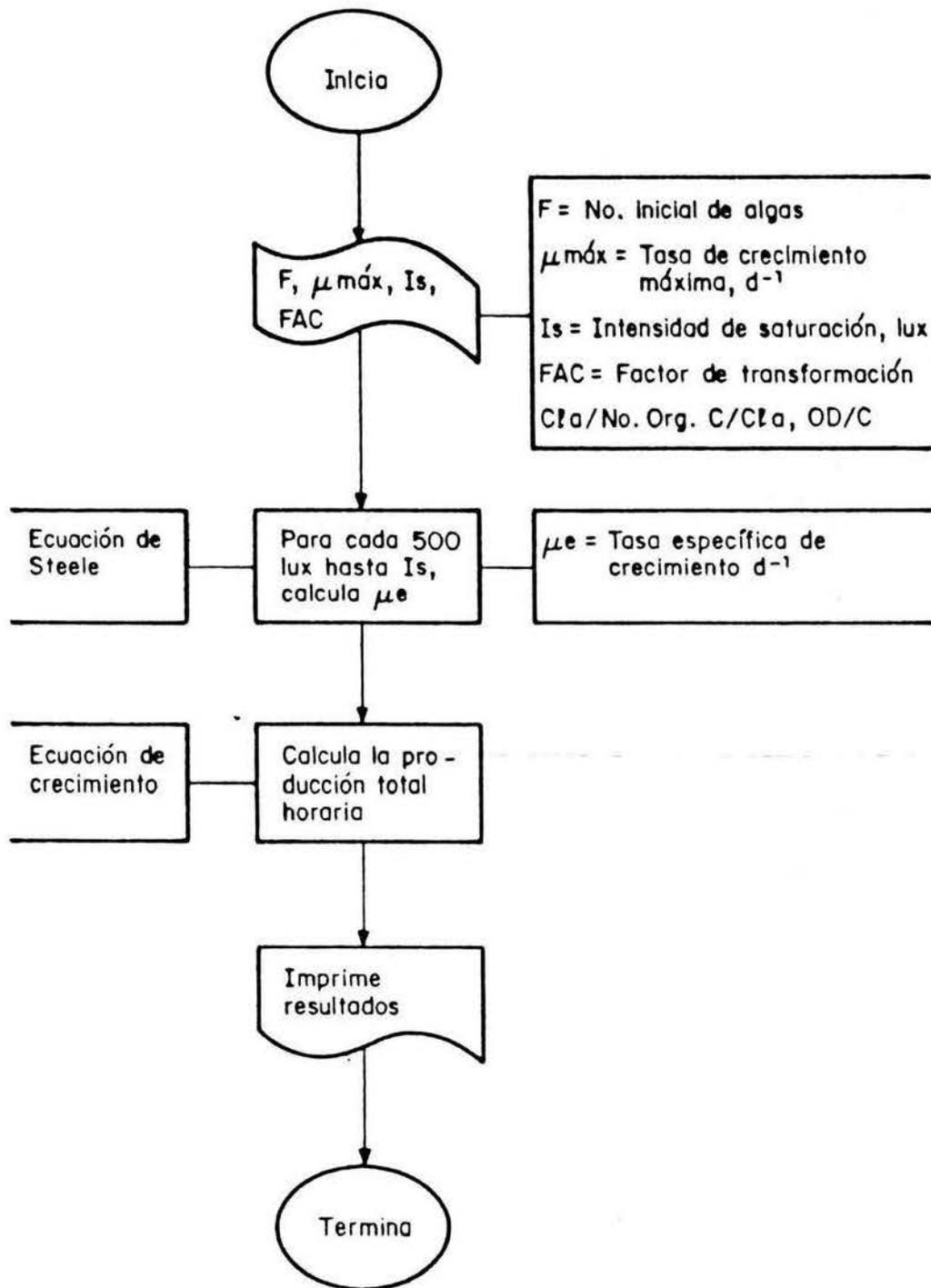


Diagrama de flujo para el cálculo del efecto de la luz sobre la tasa de crecimiento y la productividad primaria

A N E X O III

HOJAS DE RESULTADOS CORRESPONDIENTES AL EFECTO DE LA INTENSIDAD
LUMINOSA SOBRE LA TASA DE CRECIMIENTO, Y CALCULOS
DE LA PRODUCCION PRIMARIA

Faltan páginas

N° 65 y 66

CALCULO DE LA PRODUCTIVIDAD PRIMARIA

FACTORES DE CONVERSION USADOS PARA EL CALCULO

Cla/No.org.= .000015 Cla/C= .0229797 Cla/OD= .1390509

CONDICIONES INICIALES USADAS PARA EL CALCULO

Intensidad de saturacion, Is (Lux)= 6000

Numero inicial de organismos/ml= 13000

Tasa maxima de crecimiento, 1/dia= 1.708

LA MAGNITUD DE LAS VARIABLES Cla, C y OD ESTAN EN mg/l; Io en Lux

Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 1	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 2	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 3	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 4	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 5	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 6	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 7	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 8	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 9	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 10	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 11	Io= 0
Cla= .195	C= 8.48575	OD= 1.402294	Hr: 12	Io= 0

Cla= .1979138	C= 8.612549	OD= 1.423247	Hr: 1	Io= 500
Cla= .2008711	C= 8.741242	OD= 1.444514	Hr: 2	Io= 500
Cla= .2038726	C= 8.871858	OD= 1.466099	Hr: 3	Io= 500
Cla= .206919	C= 9.004426	OD= 1.488006	Hr: 4	Io= 500
Cla= .2100109	C= 9.138974	OD= 1.510241	Hr: 5	Io= 500
Cla= .213149	C= 9.275534	OD= 1.532807	Hr: 6	Io= 500
Cla= .216334	C= 9.414133	OD= 1.555711	Hr: 7	Io= 500
Cla= .2195665	C= 9.554804	OD= 1.578958	Hr: 8	Io= 500
Cla= .2228474	C= 9.697576	OD= 1.602551	Hr: 9	Io= 500
Cla= .2261773	C= 9.842482	OD= 1.626497	Hr: 10	Io= 500
Cla= .2295569	C= 9.989554	OD= 1.650801	Hr: 11	Io= 500
Cla= .2329871	C= 10.13882	OD= 1.675468	Hr: 12	Io= 500

Cla= .2003953 C= 8.720534 OD= 1.441092 Hr: 1 Io= 1000
Cla= .2059393 C= 8.961813 OD= 1.480964 Hr: 2 Io= 1000
Cla= .2116377 C= 9.209769 OD= 1.52194 Hr: 3 Io= 1000
Cla= .2174933 C= 9.464584 OD= 1.564048 Hr: 4 Io= 1000
Cla= .2235109 C= 9.72645 OD= 1.607323 Hr: 5 Io= 1000
Cla= .229695 C= 9.995562 OD= 1.651794 Hr: 6 Io= 1000
Cla= .2360502 C= 10.27212 OD= 1.697496 Hr: 7 Io= 1000
Cla= .2425812 C= 10.55633 OD= 1.744462 Hr: 8 Io= 1000
Cla= .2492929 C= 10.8484 OD= 1.792728 Hr: 9 Io= 1000
Cla= .2561904 C= 11.14855 OD= 1.842322 Hr: 10 Io= 1000
Cla= .2632786 C= 11.45701 OD= 1.893302 Hr: 11 Io= 1000
Cla= .270563 C= 11.774 OD= 1.945686 Hr: 12 Io= 1000

Cla= .2024847 C= 8.811461 OD= 1.456118 Hr: 1 Io= 1500
Cla= .2102563 C= 9.149674 OD= 1.512009 Hr: 2 Io= 1500
Cla= .2183271 C= 9.500868 OD= 1.570044 Hr: 3 Io= 1500
Cla= .2267072 C= 9.865542 OD= 1.630308 Hr: 4 Io= 1500
Cla= .235499 C= 10.24422 OD= 1.692885 Hr: 5 Io= 1500
Cla= .2444448 C= 10.63742 OD= 1.757863 Hr: 6 Io= 1500
Cla= .2538273 C= 11.04572 OD= 1.825336 Hr: 7 Io= 1500
Cla= .2635701 C= 11.46969 OD= 1.895398 Hr: 8 Io= 1500
Cla= .2736867 C= 11.90994 OD= 1.968149 Hr: 9 Io= 1500
Cla= .2841917 C= 12.36708 OD= 2.043693 Hr: 10 Io= 1500
Cla= .2950999 C= 12.84177 OD= 2.122137 Hr: 11 Io= 1500
Cla= .3064263 C= 13.33468 OD= 2.203592 Hr: 12 Io= 1500

Cla= .2042213 C= 8.887031 OD= 1.468606 Hr: 1 Io= 2000
Cla= .2138786 C= 9.307285 OD= 1.538054 Hr: 2 Io= 2000
Cla= .2239927 C= 9.747414 OD= 1.610787 Hr: 3 Io= 2000
Cla= .234585 C= 10.20836 OD= 1.686959 Hr: 4 Io= 2000
Cla= .2456782 C= 10.6911 OD= 1.766733 Hr: 5 Io= 2000
Cla= .257276 C= 11.19666 OD= 1.850279 Hr: 6 Io= 2000
Cla= .2694631 C= 11.72614 OD= 1.937776 Hr: 7 Io= 2000
Cla= .2822057 C= 12.28065 OD= 2.029411 Hr: 8 Io= 2000
Cla= .2955308 C= 12.86139 OD= 2.125379 Hr: 9 Io= 2000
Cla= .309527 C= 13.46958 OD= 2.225836 Hr: 10 Io= 2000
Cla= .3241641 C= 14.10654 OD= 2.331145 Hr: 11 Io= 2000
Cla= .3394734 C= 14.77362 OD= 2.441381 Hr: 12 Io= 2000

Cla= .2056421 C= 8.94686 OD= 1.478824 Hr: 1 Io= 2500
Cla= .216865 C= 9.437244 OD= 1.55953 Hr: 2 Io= 2500
Cla= .2287005 C= 9.952232 OD= 1.644642 Hr: 3 Io= 2500
Cla= .2411818 C= 10.49543 OD= 1.734398 Hr: 4 Io= 2500
Cla= .2543443 C= 11.06822 OD= 1.829053 Hr: 5 Io= 2500
Cla= .2682251 C= 11.67226 OD= 1.928873 Hr: 6 Io= 2500
Cla= .2828635 C= 12.30928 OD= 2.034142 Hr: 7 Io= 2500
Cla= .2983008 C= 12.98106 OD= 2.145155 Hr: 8 Io= 2500
Cla= .3145805 C= 13.6895 OD= 2.262227 Hr: 9 Io= 2500
Cla= .3317487 C= 14.4366 OD= 2.385688 Hr: 10 Io= 2500
Cla= .3498539 C= 15.22448 OD= 2.515887 Hr: 11 Io= 2500
Cla= .3689472 C= 16.05535 OD= 2.653191 Hr: 12 Io= 2500

Cla= .2067823 C= 8.998477 OD= 1.487023 Hr: 1 Io= 3000
Cla= .2192765 C= 9.542183 OD= 1.576872 Hr: 2 Io= 3000
Cla= .2320256 C= 10.11874 OD= 1.67215 Hr: 3 Io= 3000
Cla= .2465753 C= 10.73014 OD= 1.773185 Hr: 4 Io= 3000
Cla= .2614739 C= 11.37847 OD= 1.880324 Hr: 5 Io= 3000
Cla= .2772727 C= 12.06598 OD= 1.993937 Hr: 6 Io= 3000
Cla= .2940261 C= 12.79504 OD= 2.114415 Hr: 7 Io= 3000
Cla= .3117917 C= 13.56814 OD= 2.242172 Hr: 8 Io= 3000
Cla= .3306309 C= 14.38795 OD= 2.377649 Hr: 9 Io= 3000
Cla= .3506082 C= 15.2573 OD= 2.521311 Hr: 10 Io= 3000
Cla= .3717927 C= 16.17918 OD= 2.673654 Hr: 11 Io= 3000
Cla= .3942572 C= 17.15676 OD= 2.835202 Hr: 12 Io= 3000

Cla= .2076745 C= 9.037302 OD= 1.493439 Hr: 1 Io= 3500
Cla= .2211728 C= 9.624701 OD= 1.590508 Hr: 2 Io= 3500
Cla= .2355484 C= 10.25028 OD= 1.693887 Hr: 3 Io= 3500
Cla= .2508584 C= 10.91652 OD= 1.803985 Hr: 4 Io= 3500
Cla= .2671636 C= 11.62607 OD= 1.92124 Hr: 5 Io= 3500
Cla= .2845284 C= 12.38173 OD= 2.046115 Hr: 6 Io= 3500
Cla= .303022 C= 13.18651 OD= 2.179107 Hr: 7 Io= 3500
Cla= .3227176 C= 14.0436 OD= 2.320743 Hr: 8 Io= 3500
Cla= .3436934 C= 14.95639 OD= 2.471585 Hr: 9 Io= 3500
Cla= .3660326 C= 15.92852 OD= 2.632231 Hr: 10 Io= 3500
Cla= .3898237 C= 16.96383 OD= 2.80332 Hr: 11 Io= 3500
Cla= .4151612 C= 18.06643 OD= 2.985528 Hr: 12 Io= 3500

Cla= .2083488 C= 9.066647 OD= 1.498288 Hr: 1 Io= 4000
Cla= .2226114 C= 9.687306 OD= 1.600854 Hr: 2 Io= 4000
Cla= .2378504 C= 10.35046 OD= 1.710441 Hr: 3 Io= 4000
Cla= .2541325 C= 11.059 OD= 1.82753 Hr: 4 Io= 4000
Cla= .2715293 C= 11.81605 OD= 1.952635 Hr: 5 Io= 4000
Cla= .2901169 C= 12.62492 OD= 2.086303 Hr: 6 Io= 4000
Cla= .3099769 C= 13.48916 OD= 2.229121 Hr: 7 Io= 4000
Cla= .3311966 C= 14.41257 OD= 2.381717 Hr: 8 Io= 4000
Cla= .3538688 C= 15.39919 OD= 2.544758 Hr: 9 Io= 4000
Cla= .378093 C= 16.45335 OD= 2.718961 Hr: 10 Io= 4000
Cla= .4039755 C= 17.57967 OD= 2.905088 Hr: 11 Io= 4000
Cla= .4316298 C= 18.78309 OD= 3.103957 Hr: 12 Io= 4000

Cla= .2088329 C= 9.087713 OD= 1.501767 Hr: 1 Io= 4500
Cla= .2236471 C= 9.732375 OD= 1.608302 Hr: 2 Io= 4500
Cla= .2395122 C= 10.42277 OD= 1.722392 Hr: 3 Io= 4500
Cla= .2565026 C= 11.16214 OD= 1.844574 Hr: 4 Io= 4500
Cla= .2746984 C= 11.95396 OD= 1.975424 Hr: 5 Io= 4500
Cla= .2941849 C= 12.80195 OD= 2.115557 Hr: 6 Io= 4500
Cla= .3150538 C= 13.71009 OD= 2.265631 Hr: 7 Io= 4500
Cla= .3374031 C= 14.68266 OD= 2.42635 Hr: 8 Io= 4500
Cla= .3613378 C= 15.72422 OD= 2.59847 Hr: 9 Io= 4500
Cla= .3869704 C= 16.83966 OD= 2.7828 Hr: 10 Io= 4500
Cla= .4144212 C= 18.03423 OD= 2.980206 Hr: 11 Io= 4500
Cla= .4438194 C= 19.31354 OD= 3.191616 Hr: 12 Io= 4500

Cla= .2091519 C= 9.101594 OD= 1.504063 Hr: 1 Io= 5000
Cla= .2243309 C= 9.762132 OD= 1.613219 Hr: 2 Io= 5000
Cla= .2406114 C= 10.47061 OD= 1.730297 Hr: 3 Io= 5000
Cla= .2580735 C= 11.2305 OD= 1.855871 Hr: 4 Io= 5000
Cla= .2768029 C= 12.04554 OD= 1.990559 Hr: 5 Io= 5000
Cla= .2968916 C= 12.91973 OD= 2.135021 Hr: 6 Io= 5000
Cla= .3184381 C= 13.85737 OD= 2.289968 Hr: 7 Io= 5000
Cla= .3415484 C= 14.86305 OD= 2.45616 Hr: 8 Io= 5000
Cla= .3663359 C= 15.94172 OD= 2.634413 Hr: 9 Io= 5000
Cla= .3929223 C= 17.09867 OD= 2.825602 Hr: 10 Io= 5000
Cla= .4214382 C= 18.33959 OD= 3.030667 Hr: 11 Io= 5000
Cla= .4520236 C= 19.67056 OD= 3.250614 Hr: 12 Io= 5000

Cla= .2093285 C= 9.109281 OD= 1.505333 Hr: 1 Io= 5500
Cla= .2247099 C= 9.778626 OD= 1.615945 Hr: 2 Io= 5500
Cla= .2412215 C= 10.49716 OD= 1.734684 Hr: 3 Io= 5500
Cla= .2589464 C= 11.26849 OD= 1.862148 Hr: 4 Io= 5500
Cla= .2779737 C= 12.09649 OD= 1.998978 Hr: 5 Io= 5500
Cla= .2983991 C= 12.98534 OD= 2.145862 Hr: 6 Io= 5500
Cla= .3203254 C= 13.93949 OD= 2.30354 Hr: 7 Io= 5500
Cla= .3438628 C= 14.96376 OD= 2.472803 Hr: 8 Io= 5500
Cla= .3691297 C= 16.0633 OD= 2.654504 Hr: 9 Io= 5500
Cla= .3962532 C= 17.24362 OD= 2.849555 Hr: 10 Io= 5500
Cla= .4253678 C= 18.51068 OD= 3.05894 Hr: 11 Io= 5500
Cla= .4566258 C= 19.87083 OD= 3.28371 Hr: 12 Io= 5500

Cla= .2093832 C= 9.111661 OD= 1.505727 Hr: 1 Io= 6000
Cla= .2248274 C= 9.783738 OD= 1.61679 Hr: 2 Io= 6000
Cla= .2414107 C= 10.50539 OD= 1.736044 Hr: 3 Io= 6000
Cla= .2592172 C= 11.28027 OD= 1.864095 Hr: 4 Io= 6000
Cla= .2783371 C= 12.1123 OD= 2.001591 Hr: 5 Io= 6000
Cla= .2988673 C= 13.00571 OD= 2.149229 Hr: 6 Io= 6000
Cla= .3209117 C= 13.96501 OD= 2.307756 Hr: 7 Io= 6000
Cla= .3445823 C= 14.99507 OD= 2.477977 Hr: 8 Io= 6000
Cla= .3699987 C= 16.10111 OD= 2.660753 Hr: 9 Io= 6000
Cla= .3972899 C= 17.28873 OD= 2.85701 Hr: 10 Io= 6000
Cla= .4265941 C= 18.56395 OD= 3.067744 Hr: 11 Io= 6000
Cla= .4580597 C= 19.93323 OD= 3.294021 Hr: 12 Io= 6000