

## Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures

### Efecto de las tasas de flujo de fotones de luz blanca y azul-verde en la eficiencia del crecimiento y contenido de pigmentos de tres especies de diatomeas en cultivos terminales

M. P. Sánchez-Saavedra<sup>1\*</sup>  
D. Voltolina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Acuicultura  
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)  
Carretera Tijuana-Ensenada km. 107, A.P. 2732  
Ensenada, 22860 Baja California, México  
\*E-mail: psanchez@cicese.mx

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)  
Paseo Claussen s/n, A.P. 1132  
Mazatlán, 82000 Sinaloa, México

Recibido en marzo de 2002; aceptado en mayo de 2002

#### Abstract

This study provides information on the combined effect of light quality and photon fluence rates (light intensity) on growth efficiency and pigment content of the coastal plankton diatoms *Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*. The relative growth efficiencies of the three species were significantly higher at 210  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , under mixed blue-green light for *Chaetoceros* sp. and *S. costatum*, and with white light for *T. pseudonana*. The chlorophyll *a* contents of the three species grown under blue-green light, alone or mixed with white light, were significantly higher ( $P < 0.001$ ) than those with white light and, in all cases, contents were lower at high photon fluence rates, while carotenoids showed inverse trends. The relative growth efficiencies of the three species were significantly different ( $P < 0.001$ ). There were also changes in the relative pigment concentrations associated with the growth phase, probably due to autoshading.

**Key words:** Diatoms, photon fluence rates, light quality, chlorophyll *a*, carotenoids, growth efficiency.

#### Resumen

Este estudio provee información sobre el efecto combinado de la calidad de luz y las tasas de flujo de fotones (intensidad de luz) sobre la eficiencia en el crecimiento y el contenido de pigmentos de las diatomeas del plancton costero *Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* y *Thalassiosira pseudonana*. Las eficiencias de crecimiento relativo de las tres especies fueron significativamente mayores a 210  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , bajo una mezcla de luz azul-verde para *Chaetoceros* sp. y *S. costatum* y bajo luz blanca para *T. pseudonana*. Los contenidos de clorofila *a* de las tres especies expuestas a luz azul-verde sola o mezclada con luz blanca fueron significativamente mayores ( $P < 0.001$ ) que con la luz blanca y, en todos los casos, éstos fueron menores a altas tasas de flujo de fotones, mientras que los carotenoides mostraron una tendencia inversa. Las eficiencias de crecimiento relativo de las tres especies fueron significativamente diferentes ( $P < 0.001$ ). También hubo cambios en las concentraciones relativas de pigmento asociadas con la fase de crecimiento, probablemente debido al auto-sombreado.

**Palabras clave:** Diatomeas, tasas de flujo de fotones, calidad de luz, clorofila *a*, carotenoides, eficiencia de crecimiento.

#### Introduction

Algal cells can adapt to important changes of the photon fluence rates (light intensity) and the spectral composition of light (light quality). The most common responses are variations of: (1) pigment composition, (2) ratio of light-harvesting pigments to reaction centres, (3) concentrations of the components of electron transport chains, (4) carboxylic enzyme activities,

#### Introducción

Las células algales pueden adaptarse a cambios importantes de las tasas de flujo de fotones (intensidad de luz), así como a la composición de la luz (calidad de luz). Las respuestas más comunes son variaciones de: (1) la composición de pigmentos, (2) la relación de pigmentos antena en los centros de reacción, (3) las concentraciones de los componentes de las cadenas de

(5) photosynthetic rates, (6) dark respiration rates and (7) the overall biochemical composition (Voskresenskaya, 1972; Senger, 1987). It is not always evident whether these responses represent phenotypic adaptations or if they are due to the effect of stress on algal metabolism (Yentsch and Lee, 1966).

One important fact is that the quality and quantity of light can cause important variations of growth rate, metabolism, chemical and pigment composition of algae cultures (Wallen and Geen, 1971a, b, c; Flaak and Epifanio, 1978; Harrison *et al.*, 1990; Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1996) and that any given response should be assessed for several species grown under different conditions, to ascertain whether it is common to all microalgae, or if it may vary depending on the species and the experimental situation.

In this work we compare the pigment contents of the diatoms *Thalassiosira pseudonana* Hasle and Heimdal, *Chaetoceros* sp., and *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, cultured to late exponential and early stationary growth phases, with different photon fluence rates of white and blue-green light.

## Materials and methods

The diatoms used for this work were clones CH-X-1 (*Chaetoceros* sp.), SK-C-2 (*Skeletonema costatum* = CCMP1332) and TH-P-1 (*Thalassiosira pseudonana* = CCMP1335) of the culture collection of the Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). The first one is a local strain isolated from coastal waters and *S. costatum* and *T. pseudonana* were obtained from the Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton (CCMP). All of them are used for research and in several Mexican commercial hatcheries (Trujillo-Valle, 1993).

Non-axenic batch cultures of each strain were grown in triplicate 250-ml Erlenmeyer flasks with "F" medium (Guillard and Ryther, 1962), prepared with sterile natural seawater of 33 ± 1 ‰. Culture conditions were: 23 ± 1°C of temperature, initial pH between 7.5 and 8.5 and twice daily manual stirring. All growth experiments lasted 12 days under the continuous blue-green (A) and white (B) light conditions described by Sánchez-Saavedra and Voltolina (1994).

In the case of continuous blue-green light, one set of cultures was isolated from ambient light and a second one was allowed to receive 6.5  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  of the laboratory ambient light (C), with the same spectral characteristics as the culture with white light. Algal growth experiments were run in light gradients, from 100 to 547  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  for both types of blue-green, and from 100 to 718  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  for white light, and they were repeated three times for each photon fluence rate. Light gradients were obtained with different numbers of lamps and by adjusting the distance of the cultures to the light sources.

The growth characteristics obtained with each strain were used in a second set of experiments run at 100 and

transporte de electrones, (4) la actividad de enzimas carboxílicas, (5) las tasas fotosintéticas, (6) las tasas de respiración y (7) la composición bioquímica total (Voskresenskaya, 1972; Senger, 1987). No siempre es evidente si estas respuestas representan adaptaciones fenotípicas o si estas se deben al efecto del estrés sobre el metabolismo algal (Yentsch y Lee, 1966).

Otro factor importante es que la calidad y la cantidad de luz pueden originar variaciones importantes en la tasa de crecimiento, el metabolismo, la composición química y de pigmentos de algas de cultivo (Wallen y Geen, 1971a, b, c; Flaak y Epifanio, 1978; Harrison *et al.*, 1990; Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1996) y que cualquier respuesta dada debería ser evaluada para distintas especies crecidas en diferentes condiciones, para comprobar si esto es común en todas las microalgas o si puede variar dependiendo de la especie y la situación experimental.

En este trabajo se comparó el contenido de pigmentos de tres diatomeas *Thalassiosira pseudonana* Hasle y Heimdal, *Chaetoceros* sp., y *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve cultivadas, durante sus fases de crecimiento exponencial tardío y estacionario temprano, con diferentes tasas de flujo de fotones de luz blanca y verde-azul.

## Materiales y métodos

Las diatomeas utilizadas para este trabajo fueron los clones CH-X-1 (*Chaetoceros* sp.), SK-C-2 (*Skeletonema costatum* = CCMP1332) y TH-P-1 (*Thalassiosira pseudonana* = CCMP1335) de la colección del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). La primera es una cepa local aislada de aguas costeras, mientras que *S. costatum* y *T. pseudonana* fueron obtenidas del Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton (CCMP). Todas son utilizadas para investigación y en diversos criaderos comerciales mexicanos (Trujillo-Valle, 1993).

Se incubaron cultivos terminales no axénicos de cada cepa por triplicado en matraces Erlenmeyer de 250 ml con medio "F" (Guillard y Ryther, 1962), preparado con agua de mar natural estéril de 33 ± 1 ‰. Las condiciones de cultivo fueron: temperatura, 23 ± 1°C, pH inicial entre 7.5 y 8.5 y agitación manual dos veces al día. Todos los experimentos de crecimiento duraron 12 días bajo las condiciones de luz azul-verde continua (A) y blanca (B) descritas por Sánchez-Saavedra y Voltolina (1994).

En el caso de la luz azul-verde continua, un juego de cultivos fue aislado de la luz natural y se permitió que un segundo juego recibiera 6.5  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de la luz ambiente del laboratorio (C), con las mismas características espectrales que las del cultivo con luz blanca. Los experimentos de crecimiento algal se llevaron a cabo en gradientes de luz, desde 100 hasta 547  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para ambos tipos de luz azul-verde, y desde 100 hasta 718  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para la luz blanca; esto se repitió tres veces para cada tasa de flujo de fotones. Los gradientes de luz fueron

400  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  photon fluence rates, to obtain samples for pigment analysis at preset dates, corresponding to the late exponential and the stationary phases of growth.

Each set of cultures started with inocula acclimated to each of the light conditions for at least eight to ten cell divisions. Increases in cell concentrations were checked by daily measurements of the optical density at 550 nm in a spectrophotometer and by occasional hemacytometer counts. Mean cell division rates ( $\mu$ ) and relative growth efficiency ( $\gamma$ ) were calculated according to Fogg and Thake (1987) and Glover *et al.* (1987), after  $\log_2$  transformation of the original cell concentrations.

Chlorophyll *a* contents were obtained with the SCOR-UNESCO trichromatic method (Strickland and Parsons, 1972), and total carotenoids were obtained following Ben-Amotz and Avron (1983).

A three-way analysis of variance and the Student-Newman-Keuls (SNK) multiple comparison test were used to compare relative growth efficiencies among light treatments, strains and growth phase (Sokal and Rohlf, 1979). A *P*-value of 0.05 was used to evaluate significance with the "Statistica 5.0 for Windows" program (StatSoft, Inc., 1996). The same test was used to compare the chlorophyll *a* content and carotenoids; these results were categorised by Box-Whisker plots with average values and two central 25% percentile.

## Results

The relative growth efficiency of the three diatoms was significantly higher at 210  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  of photon fluence rates with the three types of light. However, their response to light quality was different: *Chaetoceros* sp. and *Skeletonema costatum* grew faster under mixed blue-green light and slower in white light. In the case of *T. pseudonana*, the most efficient growth-promoting type of light was the white, the second was the mixed blue and the less efficient one was the blue-green light (table 1).

Photon fluence rates and spectral light quality influenced the pigment composition of the three species. Chlorophyll *a* contents were significantly higher during the exponential growth than in stationary growth ( $P < 0.001$ ) and the lowest chlorophyll *a* concentrations were found in mixed blue-green light. At low photon fluence rates of white light, *T. pseudonana* and *Chaetoceros* sp., in exponential growth, had the highest values of chlorophyll *a*, but this was not the case for *S. costatum* which had a significantly higher chlorophyll *a* content at 400  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (fig. 1). The same analysis demonstrated that there were significant synergistic interactions between photon fluence rates and spectral composition on the chlorophyll *a* concentration of the three species ( $P < 0.001$ ).

In all cases, total carotenoids showed an inverse trend compared to chlorophyll *a* (fig. 2). They were significantly higher ( $P < 0.001$ ) during exponential growth at high photon fluence

obtenidos con diferentes cantidades de lámparas y ajustando la distancia entre los cultivos y la fuente de luz.

Las características de crecimiento obtenidas con cada cepa fueron utilizadas en un segundo conjunto de experimentos que se llevaron a cabo con tasas de flujo de fotones de 100 y 400  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , con el objeto de obtener muestras para el análisis de pigmentos en fechas preestablecidas que correspondieran a las fases de crecimiento exponencial tardío y estacionario.

Cada conjunto de cultivos se inició con un inóculo aclimatado a cada condición de luz durante un mínimo de ocho a diez divisiones celulares. Los incrementos en la concentración de células fueron evaluados mediante mediciones diarias de la densidad óptica a 550 nm en un espectrofotómetro, y por conteos ocasionales en un hematocitómetro. Las tasas de división promedio ( $\mu$ ) y las eficiencias de crecimiento relativo ( $\gamma$ ) fueron calculadas de acuerdo a Fogg y Thake (1987) y Glover *et al.* (1987), después de la transformación de las concentraciones celulares originales a su logaritmo base 2.

Los contenidos de clorofila *a* fueron obtenidos con el método tri-cromático SCOR-UNESCO (Strickland y Parsons, 1972) y los carotenoides totales se obtuvieron siguiendo el método de Ben-Amotz y Avron (1983).

Se utilizaron un análisis de varianza de tres vías y la prueba de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls (SNK) para comparar las eficiencias de crecimiento relativo entre los tratamientos de luz, cepas y fases de crecimiento (Sokal y Rohlf, 1979). Se utilizó una probabilidad de 0.05 para evaluar la significancia con el programa "Statistica 5.0" para Windows (StatSoft, Inc., 1996). Se utilizó la misma prueba para comparar el contenido de clorofila *a* y carotenoides; estos resultados fueron categorizados en gráficas de caja y bigote con los valores promedio y los dos percentiles centrales de 25%.

## Resultados

La eficiencia de crecimiento relativo de las tres diatomeas fue significativamente mayor a una tasa de flujo de fotones de 210  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  con los tres tipos de luz. Sin embargo, la respuesta de éstas a la calidad de luz fue distinta: *Chaetoceros* sp. y *Skeletonema costatum* crecieron más rápidamente bajo la mezcla de luz azul-verde y más lento con luz blanca. En el caso de *T. pseudonana*, el tipo de luz más eficiente para promover el crecimiento fue la luz blanca, el segundo fue la mezcla de luz azul y el menos eficiente la luz azul-verde (tabla 1).

Las tasas de flujo de fotones y la calidad de luz espectral influenciaron la composición de pigmentos de las tres especies. Los contenidos de clorofila *a* fueron significativamente más altos durante el crecimiento exponencial que durante el estacionario ( $P < 0.001$ ) y las concentraciones más bajas de clorofila *a* se obtuvieron con la mezcla de luz azul-verde. A tasas bajas de flujo de fotones de luz blanca, *Thalassiosira pseudonana* y *Chaetocheros* sp., en crecimiento exponencial, tuvieron los valores más elevados de clorofila *a*, pero éste no fue el caso de *S. costatum*, la cual tuvo un contenido

**Table 1.** Relative growth efficiency values  $\times 10^{-2}$  ( $\gamma$ ) and standard deviation (in parentheses) for three diatoms cultured, in exponential phase, with different photon fluence rates of blue-green (A), white (B) and mixed blue-green light (C). Equal letters indicate lack of significant differences (three-way ANOVA and Student-Newman-Keuls multiple comparison test,  $\alpha = 0.05$ ):  $a < b < c$ .

**Tabla 1.** Valores de eficiencia de crecimiento relativo  $\times 10^{-2}$  ( $\gamma$ ) y desviación estándar (entre paréntesis) para tres diatomeas cultivadas, en fase exponencial, con dos diferentes tasas de flujo de fotones de luz azul-verde (A), blanca (B) y mezcla de azul-verde (C). Letras iguales indican falta de diferencias significativas (ANDEVA de tres vías y prueba de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls,  $\alpha = 0.05$ ):  $a < b < c$ .

Species	Light	Photon fluence rates ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )				
		100	210	362	547	718
<i>Chaetoceros</i> sp.	A	1.39 (0.08)c	6.62 (0.03)k	3.81 (0.07)h	2.56 (0.03)f	---
	B	0.73 (0.04)a	3.57 (0.07)g	1.93 (0.05)d	1.29 (0.07)c	1.03 (0.52)b
	C	2.17 (0.02)e	10.24 (0.04)l	5.41 (0.05)j	4.80 (0.07)i	---
<i>Skeletonema costatum</i>	A	1.02 (0.01)b	4.90 (0.01)j	2.84 (0.01)h	1.88 (0.01)e	---
	B	0.95 (0.03)a	5.47 (0.06)k	2.67 (0.06)g	1.77 (0.04)d	1.49 (0.04)c
	C	2.59 (0.04)f	12.61 (0.02)m	7.15 (0.02)l	4.37 (0.01)i	---
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	A	1.95 (0.04)a	8.71 (0.03)g	5.36 (0.03)d	5.60 (0.03)e	---
	B	2.74 (0.06)b	14.14 (0.05)i	7.62 (0.03)g	5.90 (0.09)f	4.01 (0.06)c
	C	2.53 (0.02)b	11.19 (0.04)h	5.60 (0.04)e	4.14 (0.04)c	---

rates ( $400 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) and in both blue-green light conditions, and were approximately 10 % higher in *Thalassiosira pseudonana* than in the other two species.

## Discussion

The differences in the relative growth efficiency ( $\gamma$ ) of the three diatoms were related to light quality and photon fluence rates. In the case of *Chaetoceros* sp. and *S. costatum*, they were similar and consistently higher in mixed blue light for all photon fluence rates, followed by those of blue-green light. As described in previous works, these two species increase their growth rate under blue light conditions (Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1996). This is the expected response to blue light, which generally causes an increase of the DNA and RNA synthesis (Wallen and Geen, 1971b), with a consequent increase in growth rates and growth efficiency (Voskresenskaya, 1972; Rivkin, 1989; Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1994; 1995; 1996). However, the highest values of relative growth efficiency of *T. pseudonana* were with white light, showing that this response is not common to all microalgae, even for those pertaining to the same family, as is the case of *Chaetoceros* sp. and *S. costatum*.

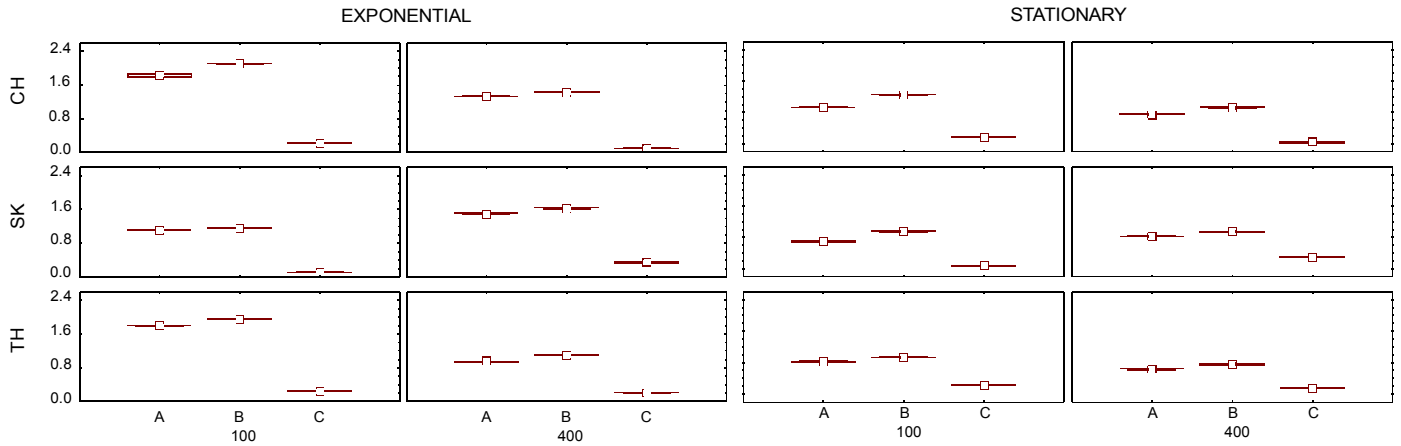
The changes due to the effect of light quality on the pigments of the three species were as described by Voskresenskaya (1972), i.e. the highest chlorophyll *a*

significativamente mayor a  $400 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (fig. 1). El mismo análisis demostró que hubo interacciones sinérgicas significativas entre las tasas de flujo de fotones y la composición espectral en la concentración de clorofila *a* de las tres especies ( $P < 0.001$ ).

En todos los casos, los carotenoides totales mostraron una tendencia inversa a la de la clorofila *a* (fig. 2). Estos fueron significativamente más altos ( $P < 0.001$ ) durante el crecimiento exponencial, a tasas elevadas de flujo de fotones ( $400 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y en ambas condiciones de luz azul-verde; además, fueron aproximadamente 10% más altos en *Thalassiosira pseudonana* que en las otras dos especies.

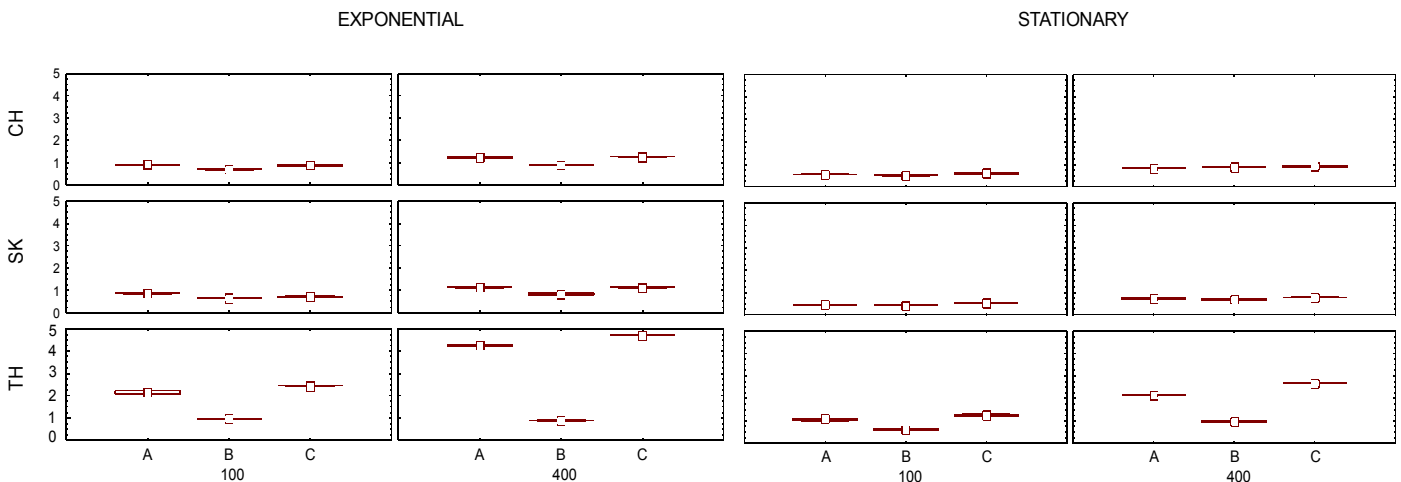
## Discusión

Las diferencias de eficiencia de crecimiento relativo ( $\gamma$ ) entre las tres diatomeas estuvieron relacionadas con la calidad de la luz y con las tasas de flujo de fotones. En el caso de *Chaetoceros* sp. y *S. costatum* las eficiencias fueron similares y consistentemente más altas bajo la mezcla de luz azul-verde a todas las tasas de flujo de fotones, seguidas por las expuestas únicamente a la luz azul-verde. Como se ha descrito en trabajos previos, estas dos especies incrementan su tasa de crecimiento bajo condiciones de luz azul (Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1996). Ésta es la respuesta esperada a la luz azul, la cual generalmente causa un incremento en la síntesis de ADN y ARN (Wallen y Geen, 1971b), con el consecuente incremento



**Figure 1.** Chlorophyll a content ( $\text{pg} \cdot 10^{-2} \text{cell}^{-1}$ ) in the exponential and stationary phases of batch cultures for three diatoms (*Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*) maintained at two different photon fluence rates ( $100$  and  $400 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) of blue-green (A), white (B) and mixed blue-green (C) light. Each square represents the median value of four samples.

**Figura 1.** Contenido de clorofila a ( $\text{pg} \cdot 10^{-2} \text{cell}^{-1}$ ) en las fases exponencial y estacionaria de cultivos discontinuos de tres diatomeas (*Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* y *Thalassiosira pseudonana*) mantenidas a dos diferentes tasas de flujo de fotones ( $100$  y  $400 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de luz azul-verde (A), blanca (B) y mezcla de luz azul-verde (C). Cada cuadrado representa el valor de la mediana de cuatro muestras.



**Figure 2.** Carotenoid content ( $\text{pg} \cdot 10^{-2} \text{cell}^{-1}$ ) in the exponential and stationary phases of batch cultures for three diatoms (*Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*) maintained at two different photon fluence rates ( $100$  and  $400 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) of blue-green (A), white (B) and mixed blue-green (C) light. Each square represents the median value of four samples.

**Figura 2.** Contenido de carotenoides ( $\text{pg} \cdot 10^{-2} \text{cell}^{-1}$ ) en las fases exponencial y estacionaria de cultivos discontinuos de tres diatomeas (*Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* y *Thalassiosira pseudonana*) mantenidas a dos diferentes tasas de flujo de fotones ( $100$  and  $400 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de luz azul-verde (A), blanca (B) y mezcla de luz azul-verde (C). Cada cuadrado representa el valor de la mediana de cuatro muestras.

concentrations were found consistently in the two photon fluence rates of white light.

In previous experiments with the same species and in similar culture conditions, the exponential growth rates were higher in mixed blue-green light for *Chaetoceros* sp. and *S. costatum*, while *T. pseudonana* grew faster in white light. However, in all cases mean cell division rates did not differ with increasing photon fluence rates. In the stationary phase, higher protein contents were obtained for *Chaetoceros* sp. and *S. costatum*, while for *T. pseudonana* the highest value

de las tasas de crecimiento y eficiencia de crecimiento (Voskresenskaya, 1972; Rivkin, 1989; Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1994; 1995; 1996). Sin embargo, los valores más altos de eficiencia de crecimiento relativo de *T. pseudonana* fueron con la luz blanca, lo cual muestra que esta respuesta no es común en todas las microalgas, aún en aquellas que pertenecen a la misma familia, como es el caso de *Chaetoceros* sp. y *S. costatum*.

Los cambios debido al efecto de la calidad de luz en los pigmentos de las tres especies fueron como los describió Voskresenskaya (1972), es decir, las más altas concentraciones

was in the exponential phase (Sánchez-Saavedra and Voltolina 1996).

Results of this work show synergistic effects on growth efficiency and pigment content, due to both light quality and photon fluence rates. However, the highest differences in pigment content were due to the age of the cultures, with a nearly 50% reduction of chlorophyll *a* in the stationary phase, possibly related to a lower energy demand under growth-limiting conditions.

We also showed that the pigment contents may change with slight variations of the experimental conditions (e.g. mixed blue-green light) with the same photon fluence rates. Vesik and Jeffrey (1977) found that only the synthesis of chlorophyll *a* of *T. pseudonana* did not increase under blue-light, in comparison to other ten diatom species. This fact could be due to the lower photon fluence rates of blue-green light, as well as to the light-darkness cycle used by these authors.

In conclusion, the relative growth efficiency of the three diatoms was better at  $210 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  and their pigment content depended mainly on light quality and increased with both blue-green light conditions.

The high carotenoid content at high photon fluence rates seems to be an initial response to a higher demand of photoprotective pigments especially in blue-green light, which has a higher energetic content; this demand decreased when the culture reached a high cell density, which caused an autoshading effect.

The increase of pigment contents for cells cultured in both blue-green light conditions could be due to a complementary chromatic adaptation, because blue-light not only participates in the rearrangement of chloroplasts but also stimulates the synthesis of chlorophyll.

From the practical point of view, these results emphasize the importance of controlling light intensity and quality in phytoplankton cultures because, depending on the species, these factors may modify the metabolic activities and, consequently, the composition and nutritional value of microalgae, which is important to consider in aquaculture practices.

Although in aquaculture applications in the tropical and subtropical environment natural sunlight is the most obvious and cheap light source, this is frequently filtered through 70 to 90% shade cloths, to avoid photoinhibition and excessive heating. Shade cloths are to all effects neutral filters, which could be cheaply replaced by active ones, using coloured plastic filters or sheeting. This would allow to reproduce the light environment of these experiments at a reasonable cost, since the high price and short lifetime of blue lamps would not make their use cost-effective in large-scale cultures.

### Acknowledgements

We thank the CONACyT for the financial support for this work. CICESE provided the operational funds through projects 623101 and 623108. Norberto Flores-Acevedo gave technical support in the culture systems. Carmen Paniagua-Chávez

de clorofila *a* se encontraron de manera consistente en las dos tasas de flujo de fotones de la luz blanca.

En experimentos previos con las mismas especies y en condiciones similares de cultivo, las tasas de crecimiento exponencial fueron más altas bajo la mezcla de luz azul-verde para *Chaetoceros* sp. y *S. costatum*, mientras que *T. pseudonana* creció más rápido en luz blanca. Sin embargo, en todos los casos, las tasas medias de división celular no variaron con el incremento de las tasas de flujo de fotones. En la fase estacionaria se obtuvieron altos contenidos de proteína para *Chaetoceros* sp. y *S. costatum*, mientras que para *T. pseudonana* el valor más alto ocurrió en la fase exponencial (Sánchez-Saavedra y Voltolina, 1996).

Los resultados de este trabajo muestran efectos sinérgicos en la eficiencia de crecimiento y el contenido de pigmentos debido a las dos calidades de luz y las tasas de flujo de fotones. Sin embargo, las diferencias más notorias en el contenido de pigmento se debieron a la edad de los cultivos, con una reducción cercana al 50% de la clorofila *a* en la fase estacionaria, posiblemente relacionada con una baja demanda de energía bajo condiciones limitantes del crecimiento.

También mostramos que los contenidos de pigmento pueden cambiar con una pequeña variación de las condiciones experimentales (mezcla de luz azul-verde, por ejemplo) a la misma tasa de flujo de fotones. Vesik y Jeffrey (1977) encontraron que solo la síntesis de clorofila *a* de *T. pseudonana* no se incrementó bajo luz azul, en comparación con otras diez especies de diatomeas. Esto puede deberse a las bajas tasas de flujo de fotones de la luz azul-verde, así como al ciclo luz-oscuridad utilizado por estos autores.

En conclusión, la eficiencia de crecimiento relativo de las tres diatomeas fue mejor a  $210 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y su contenido de pigmento dependió principalmente de la calidad de luz y se incrementó en ambas condiciones de luz azul-verde.

El elevado contenido de carotenoides a altas tasas de flujo de fotones parece ser una respuesta inicial a la fuerte demanda de pigmentos fotoprotectores, especialmente bajo luz azul-verde, la cual tiene un alto contenido energético; esta demanda disminuyó cuando el cultivo alcanzó una densidad celular alta que, a su vez, causó un efecto de auto-sombreado.

El incremento del contenido de pigmentos en células cultivadas en ambas condiciones de luz azul-verde podría deberse a una adaptación cromática complementaria, ya que la luz azul no sólo participa en el reacondo de cloroplastos, sino que también estimula la síntesis de clorofila.

Desde un punto de vista práctico, estos resultados realzan la importancia de controlar la intensidad y la calidad de la luz en los cultivos de fitoplancton ya que, dependiendo de la especie, estos factores podrían modificar las actividades metabólicas y, en consecuencia, la composición y valor nutricional de las microalgas, factores importantes a considerar para fines acuícolas.

Aunque en los cultivos acuícolas en ambientes tropicales y subtropicales la luz solar natural es la fuente más obvia y barata de luz, ésta es frecuentemente filtrada en un 70 a un

revised the manuscript and Pablo Piña-Valdez gave technical support in the revisions.

## References

- Ben-Amotz, A., Avron, M. (1983). On the factors which determine massive  $\beta$ -carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiol.*, 73: 593–597.
- Flaak, A.R. and Epifanio, C.E. (1978). Dietary levels and growth of the oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.*, 15: 157–163.
- Fogg, G.E. and Thake, B. (1987). *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press, Madison, pp.1–42.
- Glover, H.E., Keller, M.D. and Spinrad, R.W. (1987). The effects of light quality and intensity on photosynthesis and growth of marine eukaryotic and prokaryotic phytoplankton clones. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 105: 137–159.
- Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms I. *Cyclotella nana* Husde and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, 8: 229–239.
- Harrison, P.J., P.A.Thompson and Calderwood, G.S. (1990). Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *J. Appl. Phycol.*, 2: 45–56.
- Rivkin, R.B. (1989). Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton. I. Photosynthesis, chemical composition and growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 55: 291–304.
- Sánchez-Saavedra, M.P. and Voltolina, D. (1994). The chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107B: 39–44.
- Sánchez-Saavedra, M.P. and Voltolina, D. (1995). The effect of different light quality on the food value of the diatom *Chaetoceros* sp. for *Artemia franciscana* Kellogg. *Riv. Ital. Acquac.*, 30: 135–148.
- Sánchez-Saavedra, M.P. and Voltolina, D. (1996). Effect of blue-green light on growth rate and chemical composition of three diatoms. *J. Appl. Phycol.*, 8: 131–137.
- Senger, H. (1987). *Blue Light Responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida. Vol. 1, pp. 1–169 and Vol. 2, pp. 1–159.
- Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. (1979). *Biometría: Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica*. H. Blume Ediciones, Barcelona. pp. 1–832.
- StatSoft, Inc. (1996). *Statistica for Windows*. Computer Program Manual. StatSoft, Inc. 2300 East 14 th Street, Tulsa.
- Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. (1972). *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, Bulletin 167, pp. 1–73.
- 90% a través de malla sombra para evitar la fotoinhibición y el calentamiento excesivo. Para todos los efectos, la malla sombra es un filtro neutro, que puede ser reemplazado a un bajo costo por filtros activos, usando películas autoadhesivas o polietileno pigmentado. Esto permitiría reproducir las condiciones de iluminación de estos experimentos a un costo razonable, dado que el alto costo y corta vida útil de las lámparas azules no haría costeable su utilización en cultivos a gran escala.

## Agradecimientos

Agradecemos al CONACyT por el apoyo financiero de este trabajo y a CICESE por dotar de los fondos operacionales mediante los proyectos 623101 y 623108. Norberto Flores-Acevedo proporcionó su apoyo en los sistemas de cultivo. Carmen Paniagua-Chávez revisó el manuscrito. Pablo Piña-Valdez proporcionó su apoyo técnico en las revisiones.

Traducido al español por Adrián R. López-González.

- 
- Trujillo-Valle, M.L. (1993). *La Colección de Microalgas del CICESE*. Comunicaciones Académicas. Serie Acuicultura CIAC9301. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE), México, 103 pp.
- Vesk, M. and Jeffrey, S.W. (1977). Effect of blue-green light photosynthetic pigments and chloroplast structure in unicellular marine algae from six class. *J. Phycol.*, 13: 280–288.
- Voskresenskaya, N.P. (1972). Blue-light and carbon metabolism. *Annual Rev. Plant Physiol.*, 23: 219–234.
- Wallen, D.G. and Geen, G.H. (1971a). Light quality in relation to growth, photosynthetic rates and carbon metabolism in two species of marine plankton algae. *Mar. Biol.*, 10: 34–43.
- Wallen, D.G. and Geen, G.H. (1971b). Light quality on concentration of proteins, RNA, DNA and photosynthetic pigments in two species of marine plankton algae. *Mar. Biol.*, 10: 44–51.
- Wallen, D.G. and Geen, G.H. (1971c). The nature of photosynthate in natural phytoplankton populations in relation to light quality. *Mar. Biol.*, 10: 157–168.
- Yentsch, J.A. and Lee, R.W. (1966). A study of photosynthetic light reactions, and a new interpretation of sun and shade phytoplankton. *Jour. Mar. Res.*, 24: 319–337.