



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
BARCELONATECH

---

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

**Modelització basada en agents per a investigar i simular  
la dinàmica de poblacions de l'alga *Thalassiosira  
pseudonana***

Treball final de grau

Enginyeria de Sistemes Biològics

Autor: Sergi López Arenas

Tutors: Marta Ginovart Gisbert

Lourdes Reig Puig

Data: 22 / setembre / 2018

## Pròleg i agraïments

Com a estudiant de grau, la meva meta consisteix en adquirir la formació acadèmica necessària per accedir a un mercat laboral cada vegada més competitiu i on les exigències de certificats expedits pels centres educatius on es cursen estudis superiors (Grau, Màster i Doctorat) es troben a l'ordre del dia.

Quan vaig començar a cursar aquest grau el mes de Setembre de 2011, els meus coneixements en matèria d'enginyeria eren poc més que insuficients. De fet, no tenia pensat cursar cap grau d'enginyeria o de vessants similars donat que, desde que tinc coneixement, la meva passió han estat sempre les ciències naturals (en especial les relacionades amb animals i plantes).

Els estudis d'enginyeria van presentar-se a la meva vida acadèmica en un moment molt complicat per als estudiants universitaris, en un món on la competència per els bons llocs de feina que comporten viatges a l'estranger, sous importants, càrrecs amb elevada responsabilitat i objectius precisos i ambiciosos és molt elevada i ferotge. Tanmateix, son la via d'escapament per a tots aquells joves que, tot i viure en un país desenvolupat i reconegut internacionalment com és Espanya, les retallades en inversió, infraestructures, projectes per facilitar la vida de la població estatal i, especialment, l'eliminació de beques per als estudis superiors i condicions laborals molt precàries per als graduats, han comportat l'èxode de talents universitaris a països com Alemanya, Noruega i Finlàndia, on hi ha una gran demanda d'enginyers amb molt bones condicions de feina.

Com a aspirant a la titulació d'Enginyeria de Sistemes Biològics, la meva principal meta consisteix en dedicar-me professionalment a tot allò que comporti beneficis per a la humanitat en els àmbits de la botànica i la biologia animal (especialment en els camps del cultiu de teixits vegetals, l'aqüicultura i la millora genètica vegetal i animal), on els coneixements que he adquirit al llarg de molts anys em serviran per complementar els futurs reptes professionals que m'esperen.

La confecció d'aquest projecte de fi de grau no hauria estat possible sense l'ajuda de diferents persones, col·lectius i institucions que s'esmenten a continuació:

- La professora de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona especialitzada en matemàtiques, programació i modelització Marta Ginovart Gisbert, qui ha exercit com a tutora del present treball, per la seva paciència, entusiasme i orientació constant al llarg d'aquest repte que, finalment, ha arribat a bon port.
- La professora de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona especialitzada en Aqüicultura Maria Lourdes Reig Puig, qui ha exercit com a co-tutora del present treball, per la seva orientació sobre biologia de les algues i, de la mateixa manera, la paciència i l'entusiasme que ha demostrat al llarg d'aquest repte.
- Diversos components de la meva família: Els meus pares (Antonio i María José) per animar-me constantment i no permetre'm llençar la tovallola durant tots els anys que han durat els estudis universitaris, el meu tiet (Carles) per donar un cop d'ull al present informe i suggerir-me algunes correccions molt importants que no havia vist, i la meva Àvia (Josefina) per ajudar-me a mantenir l'interès i, amb la seva experiència, assessorar-me sobre el futur que poden tenir els joves com jo.

- Al meu millor amic (Rubén) per estar al meu costat en tota aquesta etapa i ajudar-me amb la seva divertida ironia, la seva personalitat despreocupada però alhora interessant i molt necessària i per regalar-me alguns dels millors moments que recordo amb amics desde que vaig plegar de l'ESO.
- A les empreses que, durant aquesta etapa, han comptat amb les meves qualitats professionals (Decathlon, FCTecnics, Swissport i Net i Brillant) i m'han permès adquirir experiència laboral i preparar-me per als reptes futurs que em depararà la vida. En aquest punt vull agrair al concessionar Renault Auser Pineda de Mar haver-me rebut com un treballador més, passar la millor etapa laboral que recordo i descobrir-me noves aficions que tenia amagades.
- A la classe política Espanyola en general, per assegurar-me la convicció de que, en aquest país, no es el lloc on vull construir el meu futur professional; No tinc cap interès en desenvolupar-me en un indret on els inútils, els que no tenen estudis, els oportunistes sense cap tipus d'intel·ligència que han arribat fins a la classe alta sense fer ni brot i els que només miren per una part ínfima de la població s'aprofiten de les classes mitjanes i baixes per al seu propi benefici i on es permeten aberracions institucionals inadmissibles en qualsevol democràcia desenvolupada.
- A la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) per haver-me acceptat com a estudiant i, concretament, a la Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (ESAB) per ser la meva porta d'entrada al mercat laboral especialitzat per a enginyers de biosistemes i adquirir els coneixements necessaris per complementar la meva experiència acadèmica.

A tots vosaltres, us agraiexo de tot cor haver-me convertit en la persona que soc avui dia, moltes gràcies!!!

Sergi López Arenas.

## Resum

Les algues són organismes vegetals amb una distribució molt extensa per tot el planeta i organismes clau en el manteniment de l'equilibri biològic de tots els ecosistemes de la terra. Tenen un rol important en la fixació de diòxid de carboni i en l'enriquiment en oxigen de l'atmosfera terrestre. Actualment, s'està aprofundint cada cop més en la biologia d'aquests microorganismes per comprendre millor el seu cicle de vida i per poder dur a terme cultius artificials d'algues controlats amb condicions específiques que siguin d'interès biotecnològic, industrial i agroalimentari.

D'entre les diferents espècies d'algues que avui en dia s'estan utilitzant amb èxit en l'àmbit de la nutrició, la sanitat i la millora de cultius microbiològics està l'espècie *Thalassiosira pseudonana*, una de les espècies més destacades en l'àmbit científic. Aquesta alga presenta un creixement molt ràpid en densitats de cultiu elevades, la qual cosa, per exemple, permet generar una generosa quantitat de biomassa algal, amb un elevat valor nutritiu que fa que s'utilitzi com aliment per a crustacis i mol·luscs en aqüicultura, entre altres possibles aplicacions biotecnològiques.

L'objectiu d'aquest treball consisteix en modelitzar i simular, utilitzant la perspectiva pròpia de la modelització basada en agents, la dinàmica de poblacions d'algues de l'espècie *Thalassiosira pseudonana* quan es desenvolupa en condicions de laboratori. La base conceptual del model, les dades experimentals consultades i els tipus de protocols desenvolupats i lligats al desenvolupament del cultiu en condicions controlades s'ha fonamentat en una revisió de literatura científica que estudia aquest sistema viu des de diferents perspectives. La implementació del model computacional dissenyat s'ha fet en la plataforma de programació multiagent d'accés lliure NetLogo. El simulador obtingut permet explorar el comportament d'aquestes algues sota diferents escenaris o protocols de cultiu controlat que han de permetre la subsistència i creixement d'aquests microorganismes en tres modes d'operació: "Batch" (cultiu tancat), "Fed-batch" (cultiu amb alimentació periòdica) i "Continuous" (cultius oberts amb entrada de medi fresc i sortida de medi i d'algues). Amb la finalitat d'analitzar el model desenvolupat s'ha realitzat un conjunt de simulacions que permet observar la sensibilitat de la resposta de la població d'algues en front de la variació de valors de certs paràmetres implicats en la construcció del simulador. S'han identificat els paràmetres del model que mostren una major sensibilitat en les dinàmiques de les poblacions d'aquestes algues quan es posen a créixer sota els tres protocols de maneig establerts ("Batch", "Fed-batch", "Continuous"). Els resultats de simulació obtinguts permeten concloure que l'evolució de la dinàmica poblacional de l'alga *Thalassiosira pseudonana* és raonable i coherent amb el coneixement experimental que es té del sistema viu.

El simulador està disponible per afavorir l'aprenentatge i facilitar la investigació d'aquestes poblacions d'algues en un entorn acadèmic, simulant cultius virtuals sota condicions de laboratori diverses i controlades. Al mateix temps, aquest treball és una de les bases per a futurs projectes de recerca en aquest context de control i aprofitament de l'alga *Thalassiosira pseudonana*.

## Resumen

Las algas son organismos vegetales con una amplia distribución por todo el globo, y son la clave para el mantenimiento del equilibrio biológico de todos los ecosistemas de la tierra. Tienen un importante papel en la fijación del dióxido de carbono atmosférico y en el posterior enriquecimiento de la atmósfera terrestre en oxígeno. Actualmente se está profundizando en el estudio de estos organismos para comprender mejor su ciclo de vida y llevar a cabo cultivos artificiales en condiciones controladas con finalidades biotecnológicas y agroalimentarias.

De entre las distintas especies de algas que actualmente se utilizan en estudios nutritivos, sanitarios y de mejora de cultivos microbiológicos, la especie *Thalassiosira pseudonana* es una de las más destacadas en el ámbito de la ciencia. Presenta una tasa de crecimiento muy alta en cultivos de alta densidad poblacional, que permite, por ejemplo, conseguir una generosa cantidad de biomasa algal cuyo valor nutritivo es excelente. Esta característica permite, entre otras cosas, su uso como alimento para peces, moluscos y crustáceos en piscifactorías.

El objetivo de este trabajo consiste en modelizar y simular, desde la perspectiva de la modelización basada en agentes, la dinámica de poblaciones de *Thalassiosira pseudonana* en cultivos artificiales y controlados en laboratorio. La base conceptual del modelo, los datos experimentales consultados y los tipos de protocolo desarrollados y ligados al desarrollo del cultivos en condiciones controladas se fundamentará en artículos científicos que han estudiado este sistema vivo desde distintas perspectivas. La implantación del modelo computacional diseñado se realizará en la plataforma de programación multiagente y de acceso libre NetLogo. El simulador obtenido deberá permitir la explotación del comportamiento de estas algas bajo diferentes escenarios y protocolos de cultivo que deben permitir la subsistencia y el crecimiento de estos microorganismos. Con el propósito de analizar el modelo desarrollado se ha realizado un conjunto de simulaciones del modelo construido. Los resultados obtenidos permiten deducir que la evolución de la dinámica poblacional de la alga *Thalassiosira pseudonana* sigue un patrón común en otros tipos de microorganismos planctónicos en medio líquido con tres sistemas operacionales distintos y que, además, existe un grupo de parámetros biológicos que producen cambios muy significativos en la evolución de la dinámica poblacional.

El simulador estará disponible para favorecer el aprendizaje y facilitar la investigación de estas poblaciones en el entorno académico, simulando cultivos virtuales bajo condiciones de laboratorio diversas y controladas. Al mismo tiempo, este trabajo puede ser la base para futuros proyectos de investigación en este contexto de investigación y aprovechamiento de *Thalassiosira pseudonana*.

## Abstract

Algae are vegetal organisms that have a great distribution around the world, and they are very important to the good maintenance of the biological equilibrium in all the ecosystems of the planet. They have an important chance in atmospherically CO<sub>2</sub> fixation and the increase of O<sub>2</sub> in the atmosphere. Nowadays, the studies about this organisms are experimenting a great evolution in order to know more about their lifestyle and do better artificial cultures with biotechnological and food industrial finalities.

There are lots of algae species which are studied today, but the most important is the diatom *Thalassiosira pseudonana*. This species presents a great growth rate in high-density cultures which permits, for example, obtain a big quantity of biomass, whose nutritional value is excellent. This issue permits, specially, use this biomass for feed fish, mollusks and another marine organisms which are important in aquaculture.

The main objective of this project is to modelate and simulate, with Agent-Based Model's point of view, the poblational dynamic's evolution of the diatom *Thalassiosira pseudonana* in artificial cultures located in experimentation labs. The conceptual base of the model, the consulted experimental results and protocol operation types developed and referred to the development of cultures in monitorized conditions will be inspirited in various scientific articles which had studied this issues in different perspectives. The implementation of the designed model will be done in free-access computational software NetLogo. The obtained simulator will should permit the experimentation on the algae behavior in different scenarios and culture methods which should permit the subsistence and development of microorganisms. In order to analyze the developed model, some simulations have been made. The obtained results can explain that the evolution of population dynamics of *Thalassiosira pseudonana* have similarities with another plancktonic organisms dynamics in liquid medium in three different culture protocols. In addition, is demonstrable that there are a group of biological parameters which cause important changes in the evolution of the population dynamics.

The simulator will be available in order to make the knowledge about these populations in academical processes more easy while different types of artificial cultures are simulated in controlled conditions. This project can be, also, the base for more projects and experiments which are vinculated with *Thalassiosira pseudonana*.

## Índex

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>7</b>
1.1. Les algues diatomees	7
1.2. Subjecte d'estudi	8
1.3. Fotosíntesi	8
1.4. Respiració	9
1.5. Elements nutritius	10
1.5.1. Carboni	11
1.5.2. Fòsfor	12
1.5.3. Nitrogen	13
1.5.4. Silici	15
1.5.5. Ferro	16
1.6. Aprofitament industrial de les diatomees	18
1.7. Bioreactors	18
1.8. Models basats en agents	19
<b>2. OBJECTIUS</b>	<b>21</b>
<b>3. MATERIAL I MÈTODES</b>	<b>21</b>
3.1. Models de referència	21
3.2. Protocol ODD	22
3.3. Plataforma NetLogo	23
<b>4. DESCRIPCIÓ DEL MODEL SIMTHALASLOGO</b>	<b>24</b>
4.1. <i>Overview</i>	24
4.1.1. Propòsit	24
4.1.2. Entitats, variables d'estat i escales	24
4.1.3. Perspectiva del procés i programació	26
4.2. <i>Design concepts</i>	27
4.3. <i>Details</i>	30
<b>5. RESULTATS DE LA SIMULACIÓ I DISCUSSIÓ</b>	<b>46</b>
5.1. Simulació de diferents protocols de maneig del cultiu	46
5.2. Anàlisi de sensibilitat unifactorial	50
5.3. Consideracions generals de la simulació	68
<b>6. CONCLUSIONS</b>	<b>69</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>70</b>

# 1. Introducció

## 1.1. Les algues diatomees

Les algues diatomees constitueixen el grup de microorganismes vegetals aquàtics amb més espècies conegudes, integrant-lo, actualment, entre 10000 i 100000 espècies [35]. Són presents a qualsevol indret del planeta Terra, sobrevivint amb èxit tant en medis aquàtics com terrestres i en aigües dolces i salades [35].

La característica més destacable i identificativa d'aquestes algues unicel·lulars és la presència d'una paret exterior transparent i protectora, anomenada frústula, que està composta majoritàriament per silicats,  $SiO_2$ , la funció de la qual consisteix en la protecció del medi intern dels impactes físics i de les variacions brusques de les condicions del medi (inclosa la manca total d'aigua en cas que quedin atrapades al sòl per dessecació del seu medi). Aquesta paret externa presenta una gran variabilitat entre espècies, la qual cosa permet la identificació de certs membres del grup [35].

El gran nombre d'espècies que componen aquest grup contrasta amb el poc coneixement que es té sobre el mateix degut a la seva joventut (es calcula que té una edat de 180 milions d'anys) i al fracàs generalitzat que comporten els estudis de la seva reproducció sexual al induir-la artificialment. La gran quantitat d'espècies d'aquest grup dificulta encara més el seu estudi. Són identificades, generalment, mitjançant seqüències ribosòmiques i, en menor mesura, per l'observació de les frústules exteriors [35].

Es tracta d'organismes majoritàriament fotoautòtrofs que prenen part, aproximadament, en la meitat de la producció primària global anual [35]. No juguen un paper important en la fixació del carboni atmosfèric, però sí en la retenció de silicats dissolts, que són incorporats a les seves frústules durant els processos biològics. També juguen un important paper en l'assimilació de fosfats dissolts en el medi aquàtic, sent molt abundants en aigües on aquest nutrient és majoritari.

En l'aspecte reproductiu, les diatomees practiquen la reproducció asexual per bipartició, tot i que, recentment, s'ha descobert que també practiquen reproducció sexual. El mecanisme de reproducció sexual s'activa, fonamentalment, quan la concentració d'amoniac extracel·lular assoleix un cert valor límit, influïent en la síntesi de certes proteïnes encarregades de la inducció sexual [49]. El procediment de reproducció sexual implica la formació de cèl·lules masculines amb capacitat de desplaçar-se mitjançant un flagel, que fecunden les cèl·lules femenines formant una estructura inactiva característica (auxòspora) que pot romandre en aquest estat fins que es restableixen les condicions ideals, moment en el que comença el desenvolupament d'una nova cèl·lula independent [32].

La mort d'aquests microorganismes (que no pateixen lisi cel·lular) propicia l'acumulació, al fons marí, de grans quantitats de cossos cel·lulars. Una part queda soterrada sota els mars i oceans, on les potents forces físiques combinades amb les elevades temperatures i pressions, responsables de la formació del petroli i el gas natural, actuen sobre els sediments, incorporant-los als combustibles fòssils més coneguts. La part que no és soterrada i que, per tant, és accessible,



forma les acumulacions de terra de diatomees (anomenada comercialment com diatomita), la qual constitueix una matèria primera de gran importància industrial [4].

## 1.2. Subjecte d'estudi

Per abordar aquest projecte d'investigació, s'ha triat una espècie de microalga diatomea, de nom científic *Thalassiosira pseudonana*, que inicialment fou inclosa en el gènere *Cyclotella* [4]. Es tracta d'una microalga de geometria cilíndrica de 2 micròmetres d'alçada i 4 micròmetres de diàmetre [40] amb una distribució global molt àmplia, i ha estat identificada en multitud d'entorns aquàtics amb salinitats compreses entre 0,5 i 37‰ [4]. Es tracta d'una important eina biològica d'estudi degut a que va ser la primera alga diatomea seqüenciada. El seu genoma es compon de 34 milions de parells de bases, els seus plàstids en contenen 129 milers i el genoma mitocondrial, 44 milers. A més a més, conté 24 cromosomes diploides [5]. A la Figura 1 adjunta es mostra l'aspecte de l'alga *Thalassiosira pseudonana* vista amb microscopi.

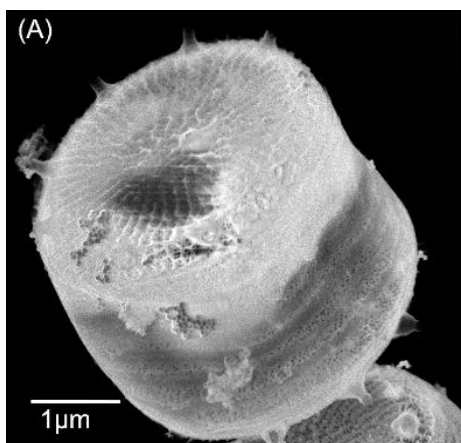


Figura 1: Aspecte d'una cèl·lula de l'alga *Thalassiosira pseudonana* vista en el microscopi. A la part inferior esquerra de la imatge es mostra l'escala de la fotografia [40].

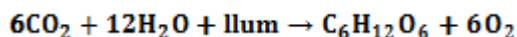
La composició bioquímica de les algues diatomees es pot mesurar en quatre components bàsics: hidrats de carboni, lípids, proteïnes i cendres. Després d'onze dies de cultiu artificial de l'espècie *Chaetoceros mulleri* es va establir una composició de 10,41 % d'hidrats de carboni, 10,87 % de lípids, 11,69 % de proteïnes i 54,07 % de cendres. En aquest estudi es va concloure, a més a més, que els lípids i les cendres són els components que més variabilitat presenten entre mostres [39].

Les algues diatomees sobreviuen mitjançant els processos bàsics de qualsevol organisme vegetal: la fotosíntesi i la respiració cel·lular, els quals es resumeixen a continuació. La quantitat d'hores diàries de llum i foscor influeixen de forma notable en ambdós processos.

## 1.3. Fotosíntesi

Es coneix amb el nom de fotosíntesi el procés metabòlic mitjançant el qual un organisme sintetitza substàncies orgàniques energètiques com l'ATP (abreviació d'Adenosina Tri Fosfat) i substàncies de reserva energètica com el midó (teixit de reserva vegetal) a partir de l'energia subministrada per

la llum i la matèria aportada per una font de carboni inorgànic (diòxid de carboni). Aquesta via metabòlica s'expressa mitjançant la següent equació química [23]:



Cal recordar que la fotosíntesi consta de varies etapes i comprèn una gran varietat de processos metabòlics. A grans trets, es distingeixen dues fases: la fase lluminosa, que es realitza en presència de llum per sintetitzar precursors de compostos orgànics, i la fase fosca, que es realitza en absència de llum per, a partir dels precursors obtinguts durant la fase lluminosa, obtenir substàncies orgàniques vitals. La fase lluminosa consta de dues fases, una cíclica on, a partir de l'aigua, l'ADP (abreviació d'Adenosina Di Fosfat) i el NADP<sup>+</sup> (coenzim oxidat) s'obtenen, respectivament, oxigen, ATP i NADPH (coenzim reduït), i una acíclica, on únicament se sintetitza ATP a partir del flux d'electrons generat a la fase acíclica. En aquestes dues fases hi intervenen els fotosistemes I i II (complexos proteics que contenen els pigments fotosintètics com la clorofil·la). En la fase fosca, a partir de l'ATP, el NADPH i una font de carboni inorgànic (diòxid de carboni) i els nutrients secundaris ingerits per el sistema radicular com el fòsfor, el nitrogen i el magnesi, s'obtenen substàncies orgàniques de diverses característiques (midó, aminoàcids, àcids grassos, glucosa i fructosa).

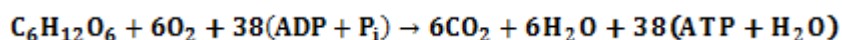
A partir de l'estequiometria de l'equació química anterior [23] es dedueix que el balanç energètic de la fotosíntesi és d'uns 18 mols d'ATP, quantitat que prové de les fases lluminosa acíclica (15.96) i cíclica (2.04). Experimentalment, però, es comprova que és necessària una quantitat de components implicats quatre vegades més gran que la que apareix en l'equació química [23], la qual cosa permet concloure que el rendiment real d'aquest procés és d'un 25% respecte de l'energia teòricament generada. L'equació química [23] no té presents les pèrdues de rendiment que succeeixen en experiments reals.

L'eficiència fotosintètica és encara un subjecte d'estudi. Fa molt de temps que s'intenta trobar un valor concret per definir-la, però la dificultat i laboriositat dels estudis complica encara més aquesta recerca. En termes generals, es considera que, sota intensitats lluminoses moderades, l'eficiència arriba a un 20%, valor que es redueix a un 3% sota intensitats lluminoses elevades (ple sol). Aquesta conclusió demostra que, sota intensitats lluminoses moderades, la fotosíntesi es dona molt millor degut a l'absència de fenòmens de fotoinhibició [7].

## 1.4. Respiració

Es conegut que, en els vegetals, la respiració és el procés metabòlic complementari de la fotosíntesi. Té la finalitat d'obtenir energia i metabòlits secundaris constituents d'estructures de suport, reserva i reproductores a partir dels compostos primaris obtinguts durant la fotosíntesi. Tot i que s'anomena respiració, pot donar-se en presència i absència d'oxigen (aerobiosi i anaerobiosi), obtenint-se diferents productes residuals. En les plantes verdes, que realitzen la respiració aeròbia, els substrats poden ser glúcids, lípids, àcids nucleics i proteïnes, sent l'oxigen l'acceptor final d'electrons i el diòxid de carboni, l'aigua i l'energia (en forma d'ATP) els productes obtinguts.

La respiració d'una molècula de glucosa s'expressa amb la següent equació química:



En aquesta reacció es generen 38 mols d'ATP. Si cada mol d'ATP equival a 7,3 kcal, en total s'han generat 277,4 kcal. Realment, però, no tota aquesta energia és aprofitada: una part es perd degut a la variació d'energia lliure. Per al cas de la glucosa, aquesta variació és de 686 kcal/mol. Amb aquest conveni, l'energia que s'aprofita és un 40,38% de la generada per la variació d'energia lliure, valor que correspon a l'eficiència de la respiració cel·lular.

La respiració aeròbia de la glucosa comprèn tres etapes. La primera, anomenada glicòlisi, té lloc al citoplasma cel·lular. Per cada mol de glucosa consumit es generen dos mols d'àcid pirúvic, consumint-se dos mols d'ATP. L'energia que es desprèn s'utilitza per degradar dos mols de NAD<sup>+</sup> a NADH, generant-se, a més a més, dos mols de protons. Com que es consumeixen dos mols d'ATP a la primera fase i se'n generen quatre a la segona, el balanç energètic de la glicòlisi equival a dos mols d'ATP.

L'àcid pirúvic generat en la glicòlisi s'oxida a acetat i travessa la membrana mitocondrial mitjançant transport actiu. Seguidament, l'acetat passa per tres processos diferenciats (descarboxilació, deshidrogenació i incorporació d'acetat) que el transforma en Acetil-CoA, que és el substrat utilitzat per la segona fase de la respiració

El cicle de Krebs, la segona fase de la respiració, té lloc a l'interior dels mitocondris cel·lulars. Per cada mol d'acetil-CoA es sintetitzen tres mols de diòxid de carboni, actuant els coenzims NAD<sup>+</sup> i FAD i sent el GDP el subministrador d'energia i l'àcid cítric un dels intermediaris (la qual cosa li dona a aquesta via el nom de cicle de l'àcid cítric, utilitzat en algunes publicacions). Es degrada una molècula d'acetil-CoA per cada volta, i com que cada molècula de glucosa n'aporta dues, es requereixen dues voltes del cicle per cada molècula de glucosa. El balanç energètic d'aquesta fase de la respiració és molt baix (només un mol d'ATP) degut a la necessitat de sintetitzar NADH i FADH<sub>2</sub> a partir dels seus precursors, procediment que requereix molta energia.

La darrera etapa de la respiració es coneix amb el nom de transport d'electrons de la cadena respiratòria, procés que té lloc a la membrana mitocondrial interna i a l'espai intermembranal. Hi intervenen dos compostos essencials: una molècula lipídica anomenada Ubiquinona i una proteïna de membrana anomenada Citocrom que connecten quatre complexos proteics anomenats I, II, III i IV. A partir del flux de protons generats per la degradació dels coenzims reduïts NADH i FADH<sub>2</sub> es sintetitzen molècules d'ATP mitjançant els enzims ATP sintetasa ubicats a la membrana mitocondrial. Aquests enzims consten de tres llocs catalítics que permeten la unió de les molècules d'ADP amb els grups fosfats

Tot i que la respiració de la glucosa té un balanç energètic positiu important, no és la via que aporta més energia a l'organisme. Els valors més elevats es donen en la respiració dels lípids, sent més energètics com més llarga sigui la seva cadena carbonatada principal. Així, en el cas de l'àcid palmític (de 16 carbonis) es generen 129 mols d'ATP (941,7 kcal). El rendiment energètic més baix es dona en les fermentacions, les quals aporten, per cada molècula de glucosa, uns 2 mols d'ATP (14,6 kcal).

## 1.5. Elements nutritius

Tot ésser viu requereix una certa quantitat de nutrients per poder garantir els processos metabòlics essencials i, per tant, una correcta relació entre funcions biològiques i estructures vitals per al manteniment de la vida.

### 1.5.1. Carboni

El carboni és l'element més abundant a la terra, juntament amb l'oxigen i el silici. Es troba, fonamentalment, en forma de compostos inorgànics gasosos a l'atmosfera terrestre (diòxid de carboni) i en forma de compostos sòlids a l'escorça (carbonats). És el component essencial de la matèria orgànica, essent el compost majoritari dels hidrocarburs sòlids, líquids i gasosos del petroli i de les estructures vitals de tots els organismes vius, on forma part, addicionalment, de les estructures de reserva animals (glicogen) i vegetals (midó).

A la Figura 2 adjunta s'observa una representació gràfica del cicle del carboni.

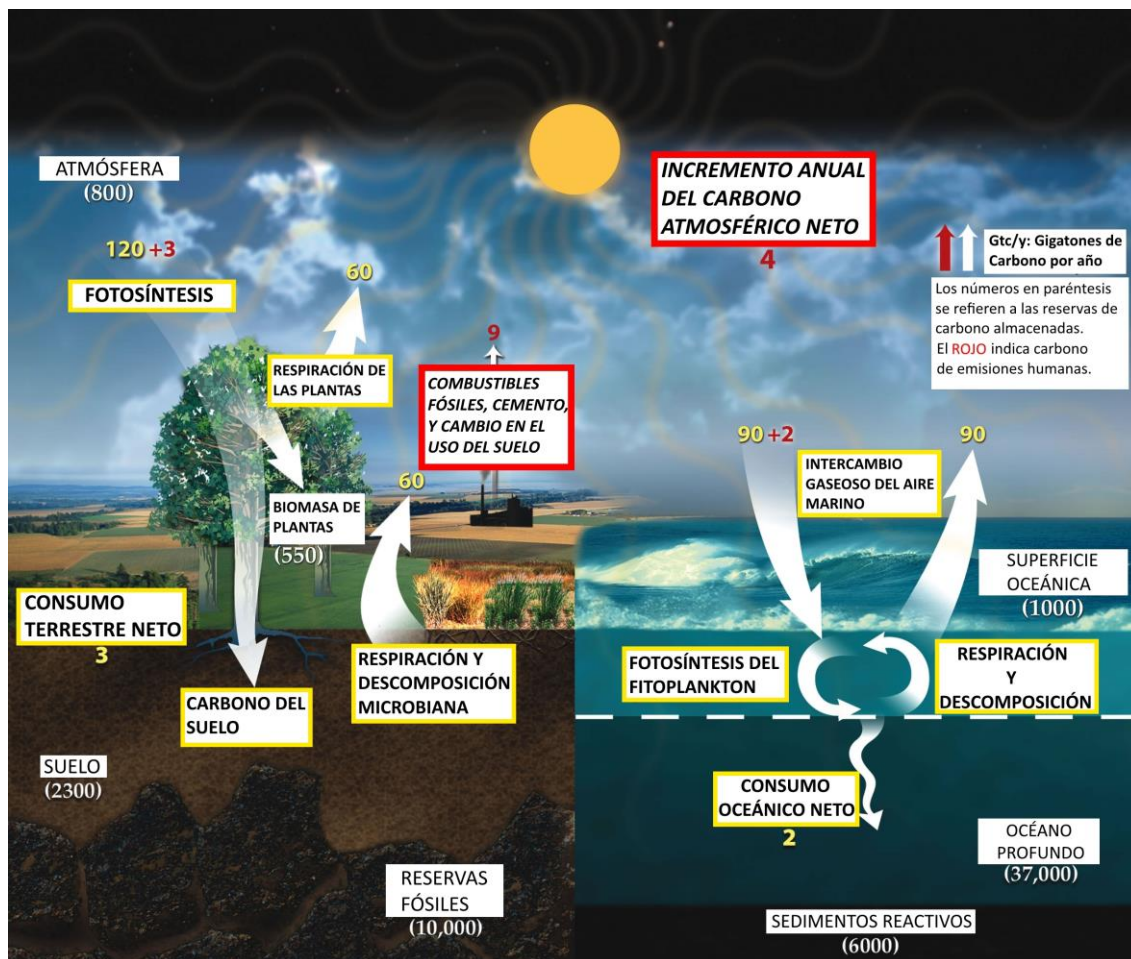


Figura 2: Representació del cicle del carboni entre l'atmosfera, la hidrosfera i la pedosfera. Les fletxes indiquen la direcció dels diferents fluxos, les xifres expressen la quantitat de carboni, en milers de milions de tones anuals, que aporten els organismes vegetals (groc), les que aporta l'activitat humana (vermell) i les que es troben retingudes en les capes profundes de la terra (blanques). També s'inclou la descripció ràpida de tots els processos implicats en funció del seu origen natural (quadrat groc), antròpic (quadrat vermell) i que afecten a les reserves edàfiques (quadrat incolor) [44].

Al medi aquàtic, el carboni arriba de l'exterior per l'aigua de pluja (que duu en dissolució diòxid de carboni) o bé per aportacions exteriors de matèria orgànica i inorgànica. Alguns organismes, com

les algues diatomees, incorporen el carboni a les seves closques o exosquelets i, quan moren, acumulen material sòlid carbonatat que, al disgregar-se per l'acció dels processos geològics, retorna a la matèria viva per difusió vegetal. La matèria orgànica acumulada al fons aquàtic pot ésser degradada per respiració aeròbica en formes primàries aprofitables o bé per respiració anaeròbica si els residus són soterrats sense possibilitat d'accés per als descomponedors aeròbics. En aquest darrer cas, els processos de descomposició anaeròbia donen combustibles altament energètics com el carbó (en aigua dolça) i petroli (a l'oceà). Quan aquests combustibles són extrets i utilitzats, es genera diòxid de carboni gasós que es difon a l'atmosfera.

Del cicle del carboni es dedueix que, anualment, la meitat del carboni assimilat pels vegetals és incorporat a les estructures orgàniques de sosteniment, reserva i reproducció, mentre que l'altra meitat és alliberada a l'atmosfera com a producte de la respiració cel·lular [33].

Degut a la seva abundància als medis oceànics, les algues diatomees contribueixen en bona part en la fixació de diòxid de carboni atmosfèric que, a més a més, representa una important font nutritiva per a elles [35].

### 1.5.2. Fòsfor

El fòsfor no es troba en proporcions importants a la matèria viva, però en canvi és un element indispensable per la vida, doncs forma part de compostos molt importants vinculats, fonamentalment, a l'emmagatzematge i obtenció d'energia.

A la natura, el fòsfor es troba en forma de compostos orgànics i inorgànics. La major part del fòsfor inorgànic de l'escorça es concentra en un mineral anomenat Apatita, mentre que l'orgànic es troba al sòl formant part de residus orgànics rics en àcids nucleics, fosfolípids i esters.

A la Figura 3 adjunta es mostra una representació gràfica del cicle del fòsfor.

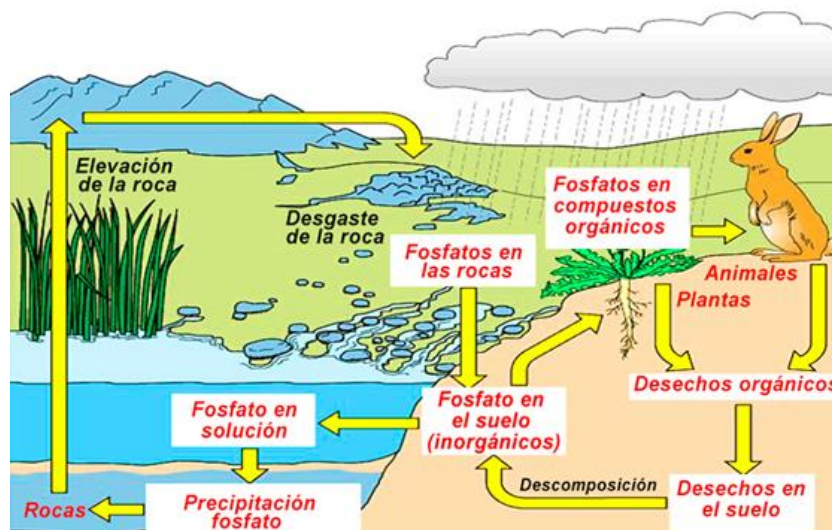


Figura 3: Representació del cicle del fòsfor entre el sòl i els horitzons superficials on té lloc l'activitat biològica (tant als ecosistemes terrestres com als aquàtics). Les fletxes indiquen la direcció dels fluxos de l'element, les indicacions en negre indiquen processos d'alliberament de fòsfor i els textos en vermell indiquen reserves de l'element [43].

Al medi aquàtic, el fòsfor prové fonamentalment d'aportacions externes de residus orgànics industrials, adobs i detergents fosfatats, així com dels excrements dels animals i la presència de cadàvers que han estat arrossegats a l'aigua. Quan aquests residus arriben al fons aquàtic, els descomponedors els degraden fins a ions fosfat, que són transportats a la superfície del medi per afloraments, on són aprofitats pels productors primaris. Quan aquests moren, els seus cadàvers s'acumulen al fons, on són degradats de nou a ions fosfat. En el cas de les algues diatomees, el fòsfor queda retingut a l'interior de les cèl·lules mortes al fons marí, sent expulsat lentament degut a les minúscules obertures que sorgeixen a la frústula externa amb el pas del temps.

El fòsfor, juntament amb el nitrogen, és un element fortament limitant per creixement vegetal, i la seva concentració determina el vigor i la velocitat del desenvolupament vegetal en un determinat medi. Una concentració elevada de fòsfor dissolt produeix un creixement espectacular dels vegetals, que esgoten ràpidament l'oxigen dissolt donant lloc a processos de respiració anaeròbia. Els productes d'aquest procés són substàncies com el sulfur d'hidrogen, el metà i compostos ferrosos que caracteritzen les aigües estancades. En el cas d'aigües pobres en silicats, la competència amb les algues verdes unicel·lulars redueix el creixement de les diatomees, que requereixen una important quantitat de fòsfor per sobreviure. En el medi terrestre, una gran concentració de fòsfor assimilable millora el creixement vegetal sempre que els valors de pH siguin els adients, ja que valors massa als o baixos produeixen la immobilització dels ions fosfat impeding la seva utilització per part dels vegetals. També és important el tractament adequat del sòl de cultiu per garantir les condicions ideals per als bacteris descomponedors encarregats de la descomposició de les formes mineralitzades de fòsfor [24].

### 1.5.3. Nitrogen

El nitrogen és l'element més abundant a l'atmosfera terrestre, contenint-lo en un 79% en volum. A les zones baixes del planeta es troba, en estat sòlid, en forma de nitrats i, en forma de dissolució aquosa, en forma d'ió nitrit, nitrat i amoni, sent les dues últimes formes les utilitzades pels productors primaris.

A la Figura 4 adjunta s'observa una representació gràfica del cicle del nitrogen.

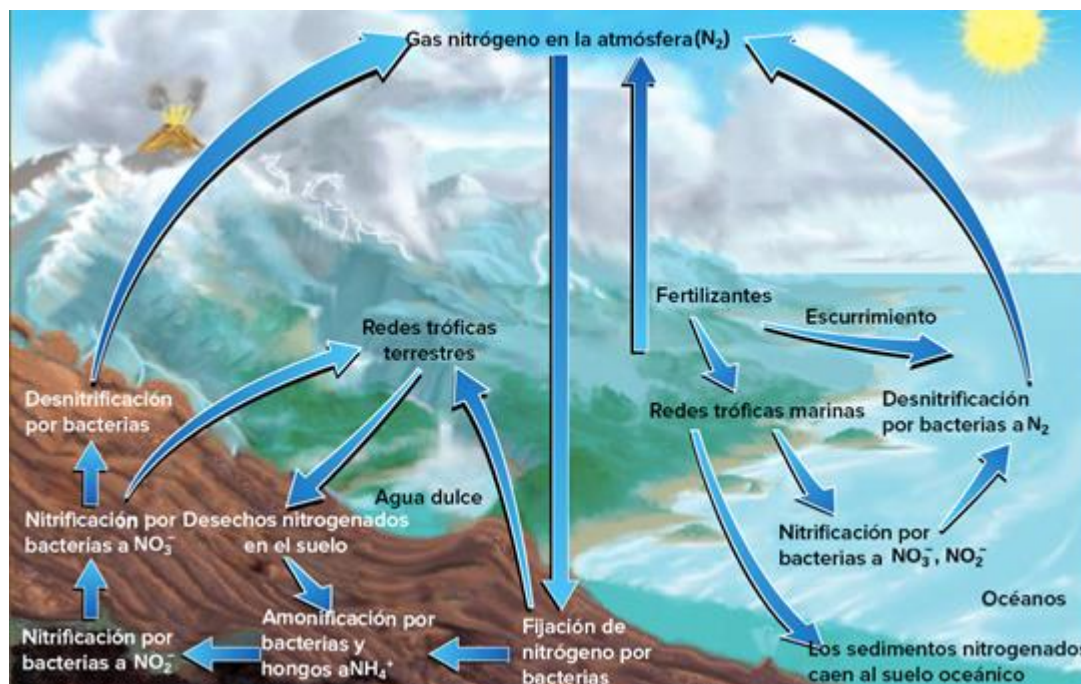


Figura 4: Representació del cicle del nitrogen entre l'atmosfera, la hidrosfera i la pedosfera. Les fletxes indiquen la direcció dels fluxos de l'element, els textos en negre indiquen processos que tenen lloc a la hidrosfera i a les capes de la pedosfera en contacte amb el medi exterior i els textos en blanc fan referència a procediments que es duen a terme a les capes inferiors de la pedosfera [13].

El nitrogen, abans de ser absorbit pels vegetals, ha d'ésser transformat a la forma iònica mitjançant un procediment bioquímic conegut com fixació biològica del nitrogen. Es tracta d'una via metabòlica que solament poden realitzar certes espècies d'eubacteris i arqueobacteris, coneixent-se unes 145 espècies que poden realitzar-la. D'aquestes, només quatre espècies fan simbiosi amb els vegetals, sent les més eficients. El cas més destacable de simbiosi entre vegetals i bacteris és el que realitzen les plantes lleguminoses (família *Fabaceae*) amb els bacteris del gènere *Rhizobium*, que es concentren en el sistema radicular de les plantes formant estructures circulars i més o menys regulars, anomenades nòduls, de dimensions variables. Aquests bacteris poden convertir el nitrogen atmosfèric a amoníac mitjançant una cadena de reaccions dirigides per l'enzim nitrogenasa. Els minerals d'hidrogen, per la seva part, són disgregats en les seves formes iòniques mitjançant processos geològics [14].

Un cop el nitrat i l'amoni han entrat a l'interior de la cèl·lula vegetal, són utilitzats per sintetitzar àcids nucleics i aminoàcids. Quan aquestes plantes terrestres moren, els residus orgànics que resulten són descompostos per bacteris en formes ionitzades de nitrogen o bé mineralitzats de nou i immobilitzats al sòl. En el medi aquàtic, de forma semblant al fòsfor, els nitrats s'acumulen a les zones profundes de l'ecosistema i són transportats a la superfície durant els afloraments, sent aleshores utilitzats pels productors primaris, entre els que destaca el plàncton superficial (que inclou les algues diatomees). Les aportacions de nitrogen a l'aigua provenen de l'abocament de residus domèstics i industrials, escorrenties de fertilitzants i transport de residus orgànics i, de forma interna, a través de la descomposició de residus orgànics.

Juntament amb el fòsfor, el nitrogen és un element limitant per al desenvolupament vegetal. Un excés de nitrogen al sòl afavoreix el creixement vigorós de les parts verdes (en detriment de les estructures reproductives) mentre que en l'aigua indueix un creixement desmesurat del fitoplàncton. Aquest creixement explosiu dels productors primaris dona lloc a l'eutrofització (veure l'apartat referent al fòsfor). Tal com s'ha explicat en l'apartat anterior, les algues verdes unicel·lulars prosperen en aigües pobres en silicats en detriment de les diatomees, que utilitzen aquest nutrient per a la síntesi d'àcids nucleics i com a regulador del procés de reproducció sexual [49].

De la mateixa manera que en el cas del fòsfor, és indispensable un interval de valors de pH per tal que pugui ser aprofitat pels productors primaris. S'ha comprovat que, com més bàsic és el medi, més disponibilitat de nitrogen hi ha.

#### 1.5.4. Silici

Després de l'oxigen, el silici és l'element més abundant a l'escorça terrestre, on es troba, majoritàriament, en forma de silicats. Té la particularitat de ser semiconductor, es a dir, la seva conductivitat elèctrica augmenta amb la temperatura. El silici té una gran importància industrial, fent-se servir en electrònica, construcció i decoració. El vidre, el quars i certs dispositius electrònics com els xips contenen silici.

A la Figura 5 adjunta es representa el cicle del silici en els ecosistemes terrestres i oceànics.

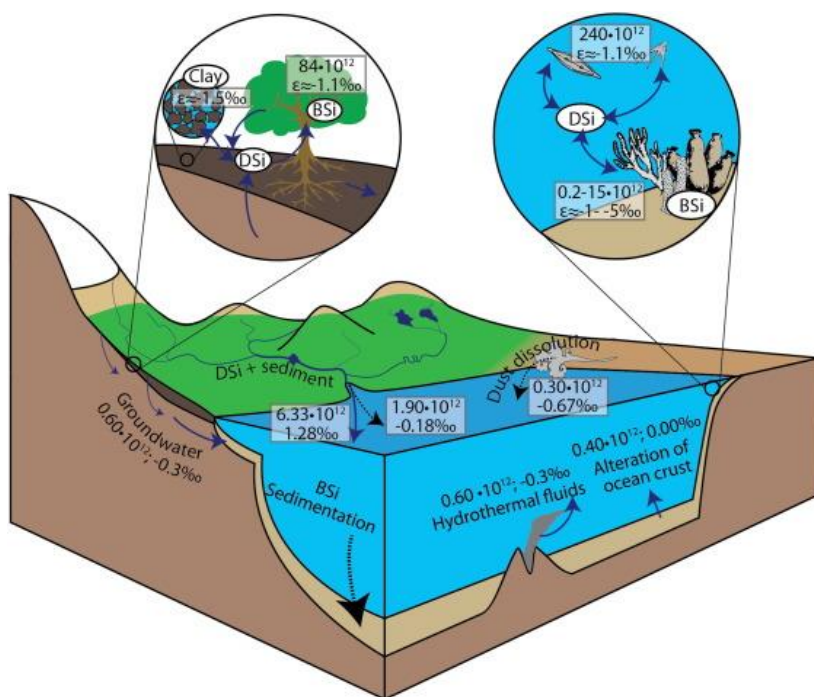


Figura 5: Representació gràfica del cicle del silici en ecosistemes terrestres i oceànics. Les fletxes indiquen la direcció dels fluxos de l'element. Les fletxes negres representen fluxos de partícules, mentre que les blaves representen els diferents processos de transport i assimilació, així com els fluxos de solut. Les xifres s'expressen en mols per any i els percentatges especificats representen la variació de la quantitat de silici d'origen biològic i mineral que duu cada flux [19].



El cicle del silici es desenvolupa, fonamentalment, en el medi marí, que és on es troba la major part de silici aprofitable de l'escorça. Degut a processos geològics externs i interns, el silici oceànic retorna a l'ambient terrestre, on la forma més abundant, el quars, no permet el seu aprofitament regular degut a la seva estabilitat química.

En l'àmbit biològic, el silici només es considera indispensable per certs organismes, com les algues diatomees, les esponges marines i les plantes equisetàcies (anomenades vulgarment com *cues de cavall*). És també present en moltes plantes superiors, on ajuda a al vigor de les estructures de sosteniment i a la resistència a malalties i fitoparàsits. Tot i això, el silici no es considera indispensable per al creixement vegetal de les plantes, per la qual cosa no es sol incloure en la formulació de medis de cultiu destinat a estudis botànics [2].

El silici és indispensable per les algues diatomees, que l'empren per construir les seves carcasses externes (frústules). L'èxit del desenvolupament d'aquestes algues als oceans està relacionat amb l'elevada concentració d'àcids silícics (més concretament, l'ortosilícic), la forma soluble d'aquest metall aprofitada per les diatomees [42].

A diferència dels nutrients anteriors, l'àcid silícic és incorporat al medi intracel·lular mitjançant transport actiu, procediment en el qual intervenen proteïnes transportadores de membrana (anomenades silafines) de composició molt semblant als transportadors proteics d'algunes plantes terrestres com el sorgo i la civada [42]. Un cop a l'interior de la cèl·lula, una vesícula altament especialitzada formada per polipèptids catiònics s'encarrega de polimeritzar l'àcid ortosilícic en sílice amorfa hidratada,  $\text{Si}_n\text{O}_{2-x}(\text{OH})_{2x}$ , que és enviada a l'exterior de la cèl·lula com a component constitutiu de la frústula de protecció [2].

Per tal de regular la concentració interna de silici, les diatomees regulen els processos de polimerització i condensació mitjançant un procediment que depèn del pH del medi extern i la compartimentació del component de silici, produint més o menys quantitat de sílice amorfa hidratada per formar les parets externes [2].

A més el nitrogen i el fòsfor, el silici és un element limitant per al desenvolupament de les algues diatomees. L'elevada concentració de silici a les aigües oceàniques garanteix el creixement constant i ràpid d'aquests productors primaris, contrastant amb l'escassa concentració de formes aprofitables al medi terrestre, que constitueix una de les principals fonts de silici a l'oceà, on es transporta mitjançant escorrenties superficials. L'altra part de silici marí prové de la descomposició d'organismes com les esponges i les mateixes diatomees, que expel·leixen lentament el silici acumulat a les frústules [42].

### 1.5.5. Ferro

A més de ser el metall més utilitzat, és el segon més abundant a la Terra després de l'alumini. En estat sòlid, aquest metall es troba combinat amb altres elements formant diferents tipus de metalls com l'hematites, la magnetita i la siderita, sent tots ells utilitzats com a menes de ferro. Algunes d'aquestes menes, com la magnetita, tenen un marcat comportament magnètic.

En la Figura 6 adjunta es troba representat el cicle del ferro en el medi oceànic.

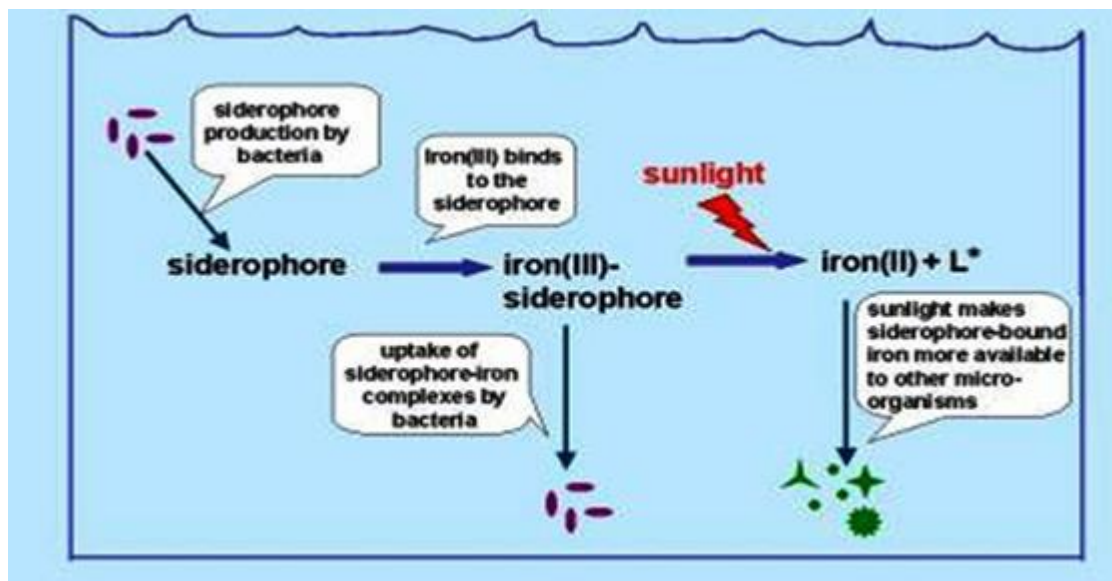


Figura 6: Representació esquemàtica del cicle del ferro en ecosistemes oceànics. Les fletxes negres indiquen el flux de l'element entre els diferents estrats. Les fletxes blaves representen les transicions entre les diferents formes iòniques [36].

Es tracta d'una primera matèria molt important en l'àmbit industrial, destacant la seva aplicació en la fabricació d'aliatges (especialment acer), activitat a la que es destina la totalitat del ferro produït .

Es tracta, també, d'un element indispensable per la vida. A l'interior dels organismes vius juga papers molt importants com a cofactor enzimàtic, transportador i intermediari en reaccions de síntesi de compostos orgànics, com l'ADN. Per als organismes vegetals, en particular, és un micronutrient indispensable que participa activament en els processos fotosintètics [1].

Malgrat l'abundància de ferro al medi extern, la seva deficiència és comú en els organismes vegetals degut, en gran part, a la concentració de metall en forma d'hidròxids de ferro no assimilables per a les plantes. A més a més, el valor del pH del sòl, la quantitat de matèria orgànica i la presència de bacteris descomponedors influeixen també en la disponibilitat del ferro en el sòl, que només és assimilable en forma iònica,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ , dissolta en l'aigua edàfica [1].

En sòls calcaris amb valors de pH elevats, el ferro és immobilitzat en els hidròxids, disminuint-ne la disponibilitat per als vegetals. Per corregir aquesta carència s'utilitzen els anomenats compostos quelats de ferro, un tipus de macromolècules inorgàniques formades per un àtom central (o lligand) que s'uneix a un o més àtoms perifèrics. Aquests quelats es poden dissoldre en aigües dures o amb elevats valors de pH, possibilitant l'augment de la concentració de ferro disponible per les plantes. Existeixen, a més a més, certes espècies de bacteris amb capacitat de desmineralitzar el ferro edàfic i retornar-lo al sòl en forma iònica assimilable. Les estructures biològiques que realitzen aquesta funció s'anomenen sideròfors. Aquestes estructures proteiques són utilitzades per les microalgues per convertir les formes no assimilables de ferro en compostos aprofitables, per la qual cosa a l'aigua no és necessària la presència de compostos complexos quelants que, posteriorment, poden ser assimilats per els diferents organismes aquàtics fotosintètics [1] com les diatomees, que l'utilitzen, com la resta d'organismes fotosintètics, com a component fonamental en el pigment fotosintètic de color verd: la clorofil·la.

Algunes plantes terrestres (en especial les més adaptades a sols alcalins) posseeixen fitosideròfors, que els permeten obtenir el ferro necessari del sòl sense necessitat de dependre de l'activitat dels bacteris esmentats anteriorment. El ferro és absorbit per les cèl·lules vegetals mitjançant difusió [1].

## 1.6. Aprofitament industrial de les diatomees

Tal com s'ha esmentat a l'apartat 1.1., les algues diatomees constitueixen un important recurs natural, i són emprades amb freqüència en els àmbits de la ciència i l'agricultura.

L'acumulació de cossos cel·lulars de diatomees al fons marí dona lloc a una capa de sòl sedimentari molt porós i valuós anomenat diatomita.

La diatomita es, essencialment, un substrat sòlid format per multitud d'algues diatomees sense lisar. És un sòlid de color pàl·lid i suau al tacte amb una estructura visiblement molt porosa, la qual cosa li confereix un valor de densitat baix i un valor de superfície externa molt alt. La mida de les partícules de diatomita es troba, normalment, entre 10 i 200 mil·límetres de diàmetre, i la seva porositat, el valor de la qual no es coneix exactament, s'ha estimat entre un 35 i un 65% mitjançant proves d'hidratació i dessecat a diferents temperatures [15]. La composició i l'aspecte extern varien segons el punt d'extracció del material, tot i que, mitjançant anàlisi tèrmica i espectroscòpia d'infraroig, s'ha descobert que el contingut en silicats es pot considerar constant [16].

La composició d'una mostra de terra de diatomees emprada com a insecticida, expressada en tant per cent en massa en base humida, compren un 27.20 % de silici, 0.30 % de potassi, 0.16 % de calci, 0.07 % de magnesi i un 0.061 % de fòsfor. Aquests percentatges representen la suma de tots els compostos que contenen els elements esmentats (concentracions totals) [41].

Com s'ha comentat a l'apartat 1, l'edat d'aquest grup d'algues es calcula en uns 100 milions d'anys. Tot i així, l'espècie *Thalassiosira pseudonana* és la més coneguda en l'aspecte genètic, per la qual cosa se sol emprar per dur a terme diversos estudis d'aspectes genètics. Donat que s'adapta ràpidament a un ampli ventall de condicions aquàtiques, també s'utilitza com a organisme de referència per estudiar els efectes biològics dels canvis bruscs de la qualitat de l'aigua. Per tal de realitzar aquests darrers tipus d'experiments, s'empra un mètode de cultiu molt estès en l'àmbit de la microbiologia que utilitza recipients anomenats bioreactors, que s'utilitzen, a més a més, per a l'obtenció de biomassa i productes secundaris derivats del metabolisme d'aquests microorganismes.

## 1.7. Bioreactors

En el cultiu de qualsevol tipus de microalga s'utilitzen freqüentment cultius total o parcialment artificials per tal d'obtenir una quantitat suficient de biomassa que justifiqui les inversions econòmiques inicials. Els bioreactors suposen una excel·lent eina en aquest context, i són molt utilitzats per al cultiu intensiu de microalgues. En aquest cas particular, aquests sistemes de cultiu solen anomenar-se fotobioreactors [50].

Es distingeixen, fonamentalment, dos tipus de bioreactors: oberts i tancats (també poden designar-se com no controlats i controlats, respectivament). Els sistemes no controlats es caracteritzen per tenir un contacte permanent amb l'ambient exterior, per la qual cosa el control sobre les

característiques del medi és molt difícil o impossible degut a l'extensió que normalment solen tenir. El sistema obert més característic és el sistema carrusel, que permet assolir densitats de cultiu de l'ordre de 0.7 g/L de biomassa (en matèria seca). Tot i que són econòmics, no requereixen d'equipament industrial abundant i són fàcils d'instal·lar, la possibilitat de contaminació per agents biològics indesitjables i la irregularitat en la penetració de la llum (que influeix negativament en el rendiment fotosintètic) ha fet que aquests sistemes estiguin en desús desde fa algun temps. El rendiment pot millorar-se amb agitació permanent, però moltes vegades la millora assolida no justifica l'elevat cost d'instal·lació i manteniment d'aquests sistemes [50].

Per altra banda, els sistemes controlats, cada cop més emprats, es caracteritzen per ésser aïllats de l'ambient exterior, la qual cosa permet un control més exhaustiu de les condicions ambientals. Tot i que el seu cost d'instal·lació i manteniment és elevat, indueixen un rendiment molt superior respecte dels sistemes oberts, així com moltes possibilitats d'implantació degut a la gran varietat de formes i dimensions disponibles. La densitat de cultiu que es pot assolir en un sistema tancat és, aproximadament, tres vegades més gran que en el cas dels sistemes oberts, i són molt emprats en projectes d'investigació o per abastir instal·lacions aquícoles de dimensions reduïdes [50].

Es distingeixen, fonamentalment, tres tipus de sistemes tancats, que es diferencien entre ells per la freqüència de renovació del medi de cultiu: sistemes continus (*continuous*), sistemes semi-continus (*fed-batch*) i sistemes tancats (*batch*).

Els sistemes de cultiu continus es caracteritzen perquè la renovació del medi de cultiu es manté constant amb el temps, mantenint un balanç neutre amb l'extracció del mateix. En aquest sistema, les condicions ambientals s'intenten mantenir constants de forma permanent. En aquest sistema s'extreu una part del medi de forma constant (que conté biomassa viva i morta, productes metabòlics i nutrients sense consumir) al mateix temps que s'introdueix la mateixa part de medi de cultiu fresc que conté nutrients sense consumir [50].

A diferència del cas anterior, en els sistemes semi-continus el medi no es renova de forma constant: només es realitza l'operació en determinats moments del temps del cultiu i de forma puntual. De forma simultània, es substitueix la quantitat extreta introduint medi de cultiu fresc [50]. També es poden tenir cultius semi-continus on únicament hi ha una entrada periòdica de nutrient.

Els sistemes tancats són els més senzills i econòmics, i s'utilitzen per estudis puntuals o per a l'obtenció d'una certa quantitat de substància que no s'espera conservar durant molt de temps. En aquests sistemes es controlen les condicions ambientals sense dur a terme renovacions del medi, finalitzant-se els experiments un cop s'ha esgotat el medi nutritiu de cultiu [50].

## 1.8. Models basats en agents

En l'àmbit de la simulació, els models basats en l'individu (abreviats com ABMs en anglès) comprenen una sèrie de mètodes computacionals encaminats a la confecció de models constituïts per individus (agents) entre els quals hi ha un conjunt de regles de comportament programades que permeten esbrinar l'evolució del sistema representat com el resultat de l'acció de cadascun dels agents i la interacció entre ells i amb el medi en que es troben. Aquest tipus de simulacions es caracteritzen per els mateixos agents, l'entorn en el que interaccionen i l'experiment virtual que resulta de la unió entre l'entorn i la interacció dels agents [20].

En el cas concret dels sistemes biològics, els agents són els blocs que componen aquests sistemes, els éssers vius, per la qual cosa les característiques d'aquests individus determinen les característiques del sistema que conformen. Per tant, s'han de tenir presents diferents característiques com el comportament individual i la interacció entre els diferents agents i els que aquests tenen amb el seu entorn per tal d'arribar a un model que expliqui satisfactòriament el propòsit que es persegueix [27]. Aquests models van aparèixer a la dècada dels 90 i van suposar un nou enfocament de modelització amb una filosofia i perspectiva diferents a les de la modelització clàssica i contínua més utilitzada fins llavors. Els ABMs són models en els quals els individus que formen el sistema són tractats com a entitats autònomes i discretes. La modelització es centra en la caracterització d'aquests éssers vius o individus mitjançant regles de comportament compatibles o representatives de la seva biologia (moviment o canvi d'ubicació a l'espai, cerca i consum de nutrients, manteniment, augment de massa i creixement, reproducció, malalties, mutacions, ...), que permeten que aquestes individus interaccionin entre ells i amb l'entorn o medi en què es troben. Es tracten de models computacionals que requereixen de simplificacions diferents de les assumides pels models continus, i són una molt bona alternativa de modelització per abordar l'estudi de determinats aspectes relatius als biosistemes. La majoria dels exemples d'utilització d'aquests models es troben a l'àrea d'ecologia, en camps específics tan diferents com són l'estudi de poblacions d'insectes, peixos, mamífers, aus, plantes o arbres, entre altres opcions [26]. Un gran nombre de revistes científiques especialitzades, i de diferents perfils, estan incrementant la publicació de treballs on el denominador comú és l'ús d'un ABM. Hi ha altres àrees de coneixement dins de la biologia general on l'ús de ABMs s'està expandint actualment de forma substancial, com per exemple és el de la microbiologia. En l'actualitat, els ABMs ja s'han consolidat com una eina vàlida per a descriure i tractar amb sistemes biològics [22]. Alhora, aquest tipus de model computacional facilita l'experimentació i la manipulació "virtuals" sobre els sistemes modelitzats, mitjançant l'observació i anàlisi del conjunt de simulacions que resulten de la seva implementació en un entorn informàtic adequat.

Així, per tal de construir un model basat en l'individu d'un sistema biològic, cal tenir present varis procediments i passos previs per tal d'obtenir un resultat raonable:

- Modelització de patrons de comportament: segons el sistema a simular, cal conèixer prèviament quines espècies hi viuen, quin comportament tenen i quina interacció presenten entre individus i amb el medi ambient.
- Teoria: és el problema que es pretén resoldre amb la simulació. Cal que sigui coherent amb els patrons coneguts.
- Conceptes de disseny: s'han de definir les expressions de programació i les fórmules matemàtiques que es corresponguin amb les definicions anteriors. Són de gran ajuda els mètodes emprats per l'estudi dels sistemes complexos adaptatius, que engloben conceptes com l'emergència, l'adaptació i predicció.
- Programes computacionals: s'ha d'emprar "Software" reconegut, dissenyat amb èxit i provat, que facilitin la tasca d'implementació dels models (programació) i alhora permetin analitzar els resultats de simulació obtinguts.
- Experiments de simulació: es realitzen diferents simulacions modificant les diferents variables implicades per tal d'esbrinar si els resultats poden ser predits o modificats a voluntat. A més a més, s'han de combinar diversos escenaris diferents per tal d'esbrinar la

idoneïtat del simulador dissenyat per representar el sistema biològic desitjat. L'ús d'experiments virtuals facilita la comprensió i l'anàlisi de com respon el simulador construït i de si representa o no adequadament el sistema real.

- Comunicació: un cop obtinguts els resultats de la simulació és necessària l'elaboració d'informes i documentació diversa per tal d'explicar el model creat, deixant constància de la seva existència per tal que qualsevol interessat pugui accedir-hi per ampliar els seus coneixements.

## 2. Objectius

Aquest treball té com a objectius:

- Desenvolupar un model computacional utilitzant la perspectiva de la modelització basada en agents per a investigar i simular una població d'algues de l'espècie *Thalassiosira pseudonana* creixent en un medi líquid amb el fòsfor com a únic element limitant, i sotmès a cicles periòdic de llum i fosc on tindrà lloc la fotosíntesi i la respiració d'aquestes algues.
- Implementar el model en un entorn de programació multiagent i utilitzar el simulador construït per obtenir les dinàmiques poblacionals d'aquesta alga en tres tipus de protocol d'operació en cultius artificials: "Batch" (sistema sense entrades ni sortides), "Fed-batch" (sistema amb entrada periòdica de nutrient) i "Continuous" (sistema amb entrada contínua de nutrient i sortida contínua de medi amb nutrient i algues), per comparar l'aprofitament del nutrient en la producció de biomassa.
- Realitzar l'anàlisi de sensibilitat unifactorial per a determinar quins paràmetres del model basat en l'individu tenen una major o menor influència en la dinàmica de la població d'algues resultant.

## 3. Material i mètodes

### 3.1. Models de referència

Per confeccionar aquest projecte s'han consultat varis models publicats, les característiques dels quals són semblants al que s'ha desenvolupat i implementat en el simulador construït. El desenvolupament del model dissenyat ha estat possible a partir de la lectura i comprensió d'articles que han estat publicats a diferents revistes i medis de difusió de l'àmbit científicotecnològic i que es resumeixen a continuació:

- 1) Frederick, N. D., Berges, J. A., Twining, B. S., Nuñez-Mailland, D. i Hellweger, F. L. (2013). Use Of Agent-Based Modeling To Explore the Mechanisms of Intracellular Phosphorus Heterogeneity in Cultured Phytoplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (14), 4359-4368. Els autors proposen un model computacional basat en l'individu per investigar els mecanismes d'heterogeneïtat en el contingut de fòsfor intracel·lular en cultius artificials de l'alga *Thalassiosira pseudonana*. Com a principal mecanisme d'heterogeneïtat proposen la introducció de mecanismes d'aleatorietat de diferents

paràmetres vitals (com l'índex màxim d'ingestió) en les cèl·lules descendents en el procés de reproducció. La influència d'aquestes variacions s'investiga amb el coeficient de variació.

- 2) Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S. i Tréguer, P. (2005). Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: A review. *Journal of Sea Research*, 53, 25-42. Els autors realitzen un recull de dades experimentals obtingudes mitjançant cultius artificials de diverses espècies d'algues diatomees per tal d'explicar la influència de la mida cel·lular en els valors d'alguns paràmetres biològics com l'índex de creixement i l'índex fotosintètic. També demostren que, per certs aspectes de la biologia de les algues (com ara les formes de ferro assimilables) hi ha encara aspectes per descobrir i comprendre.
- 3) Hellweger, F. L. i Kianirad, E. (2007). Individual-based modeling of phytoplankton: Evaluating approaches for applying the cell quota model. *Journal of Theoretical Biology*, 249, 554-565. Els autors treballen amb la hipòtesi de que el model de quota cel·lular pot aplicar-se a nivell d'individu obtenint-se els mateixos resultats que si s'aplica a nivell de població. Per aquesta finalitat, l'empren en variables discretes sobre un procediment estocàstic de probabilitat de divisió cel·lular i dos procediments deterministes: velocitat de maduració o velocitat del cicle cel·lular i augment de biomassa cel·lular.
- 4) Garcia, N. S., Bonachela, J. A. i Martiny, A. C. (2016). Interactions between growth-dependent changes in cell size, nutrient supply and cellular elemental stoichiometry of marine *Synechococcus*. *The ISME Journal*, 10, 2715-2724. Els autors investiguen la relació que hi ha entre les quantitats intracel·lulars de fòsfor i nitrogen i l'estat vital cel·lular en algues del gènere *Synechococcus* a partir de dades experimentals i coneixement empíric. De la mateixa manera justifiquen que els canvis en el creixement cel·lular provoquen variacions en les necessitats nutritives de les cèl·lules.
- 5) Hellweger, F. L. i Kianirad, E. (2007). Accounting for Intrapopulation Variability in Biogeochemical Models Using Agent-Based Methods. *Environmental science & technology*, 41 (8), 2855-2860. Els autors comparen dos models computacionals: un model a nivell poblacional (LSM, "Lumped System Modeling") amb un model basat en l'individu que han anomenat iAlgae. Els investigadors comparen els resultats de la floració dels organismes planctònics i la fracció de nutrient acumulada a l'interior cel·lular, demostrant que, entre els dos casos, es donen diferències en determinades condicions d'operació com, per exemple, en medis heterogenis i en cas que s'utilitzin equacions no lineals.

### 3.2. Protocol ODD

Per tal d'aconseguir una bona comunicació i divulgació de qualsevol model computacional basat en agents, s'utilitza en la seva descripció el que es coneix com Protocol ODD (*Overview – Design concepts – Details*). Es tracta d'una guia universal i explicativa que estructura l'explicació i presentació del model ABM conceptual desenvolupat, fent més fàcil i accessible la seva comprensió. Aquesta eina permet explicar de forma estructurada la implementació del programa informàtic associat al model per tal de comprendre tots els apartats o mòduls que el configuren, així com la formulació emprada [25], [26].

Aquest protocol consta de tres apartats ben diferenciats que fan referència a les seves inicials o acrònim del protocol. En primer lloc, es defineix l'*Overview* (O) com una primera aproximació visual al model per tal de familiaritzar-se amb l'objectiu que es persegueix o el propòsit que té, amb les diferents variables generals i específiques que regeixen gran part del codi de programació i les unitats que tenen (variables d'estat i escales) i amb la seva finalitat (perspectiva del procés i programació).

En segon lloc, amb els *Design concepts* (D) es defineixen diferents conceptes vinculats amb el funcionament del model en la manera en que s'han introduït elements, conceptes i accions relacionades amb el que s'estudia. Així, conceptes com l'emergència, la sensibilitat, la interacció i l'aleatorietat es poden obtenir a partir del funcionament del model, ja que són conseqüència del procediment d'implementació que s'ha emprat.

Finalment, amb els *Details* (D) es defineixen els sub-models existents en el programa, que complementen el model computacional i n'expliquen part del seu funcionament. També es defineixen els codis d'inicialització i d'entrada de dades (si existeixen). Aquesta part del protocol, però, és bastant complexa degut a la dificultat que presenten els ABM respecte de la seva reproductibilitat necessària en l'àmbit científic.

### 3.3. Plataforma NetLogo

NetLogo és una plataforma d'accés lliure i públic especialitzada en models basats en agents, i és molt utilitzada en els àmbits científic i social. Fou creada l'any 1999 per Uri Wilenski i, actualment, la seva gestió i actualització corre a càrrec del *Center for Connected learning and computer-based modeling* Americà (<https://ccl.northwestern.edu/>). No té límit prefixat d'individus sobre els que treballar, i té capacitat per manipular una gran quantitat de dades. Disposa d'una àmplia quantitat de documentació que descriu el vocabulari emprat i moltes comandes essencials, sent també destacable la seva opció d'ajuda mitjançant programes simples [22].

En l'aspecte de la modelització, NetLogo disposa d'una àmplia gamma de models realitzats per investigadors de molts centres universitaris i d'investigació, que han sigut exhaustivament revisats i que s'ofereixen en obert a la biblioteca de la plataforma per al seu ús i comprensió. Aquesta biblioteca permet estudiar els models computacionals variant els seus paràmetres o canviant seqüències del codi de programació per tal d'experimentar amb la modelització, sent a més la plataforma preferida per estudiants i personal docent que s'inicia en la simulació. El seu vocabulari bàsic i senzill fomenta l'aprenentatge ràpid i exitós del procés de programació, animant a que qualsevol persona pugui realitzar el seu propi model [22].

Per a realitzar l'anàlisi de sensibilitat unifactorial s'ha utilitzat l'opció de l'anàlitzador de comportament (Behavior Space) que incorpora la plataforma NetLogo. Aquest programa genera un fitxer de dades amb els resultats de las simulacions fixades per a l'escenari que es vol estudiar. Aquest fitxer de dades es pot importar a un full de càlcul Excel, i també és possible utilitzar aquest conjunt de dades des d'un programari estadístic com per exemple el Minitab per a la generació de gràfics.



## 4. Descripció del model SimThalasLogo

La descripció del model desenvolupat, anomenat SimThalasLogo, es farà seguint l'estructura i les pautes que fixen el protocol ODD que la comunitat científica ha establert per a la publicació d'aquest tipus de models. Aquesta descripció és convenient, i de fet és recomanable, que sigui independent del llenguatge de programació que posteriorment s'utilitzi en la seva implementació. No obstant això, en aquest treball acadèmic que no es correspon al format d'un article científic, s'ha decidit complementar aquesta descripció del model desenvolupat amb captures de pantalla del codi implementat en la plataforma NetLogo per a facilitar una major comprensió d'aquest programa i permetre una posterior manipulació d'aquest codi a qualsevol usuari o lector interessat.

### 4.1. Overview

#### 4.1.1. Propòsit

El propòsit del model SimThalasLogo consisteix en investigar el mecanisme de creixement d'una població de la microalga diatomea *Thalassiosira pseudonana* en un cultiu artificial controlat mitjançant el tall vertical d'un bioreactor cilíndric amb tres modes d'implementació ("batch", "fed-batch" i "continuous"). L'anàlisi del creixement es realitza tant de forma quantitativa (a través dels valors de varis paràmetres característics que defineixen el creixement de la població) com qualitativa (mitjançant l'observació de l'esmenat desenvolupament a través de l'interfície de l'entorn de programació utilitzat).

Particularment, aquest model pretén determinar de forma aproximada quines característiques ambientals són més beneficioses per a la població i el rendiment (en forma de biomassa produïda) que es pot obtenir en funció d'aquestes característiques ambientals.

El model presentat es pot utilitzar per a determinar les variables que més influeixen en el desenvolupament de la població d'algues i, a més a més, com a eina d'estudi per a finalitats educatives (com ara sessions de classe en activitats de programació, modelització i biologia). Com a ús posterior, i després d'haver estat utilitzat i revisat de forma reiterada per usuaris experts en l'àmbit de la producció de microalgues, es podria utilitzar en el procés de dimensionament de bioreactors industrials.

#### 4.1.2. Entitats, variables d'estat i escales

Els components bàsics del model SimThalasLogo són les microalgues (agents mòbils o "turtles") i les cel·les espacials constitutives del medi de cultiu (agents immòbils o "patches") que constitueixen l'espai simulat.

Les microalgues són definides com unitats cilíndriques de 2s micròmetres de longitud i 4 micròmetres de diàmetre (tot i que, en el model, es visualitzen mitjançant cercles de 4 micròmetres de diàmetre) amb dos colors diferents segons si són vives (verd) o mortes (vermell). Cada individu queda determinat per la seva posició espacial, diàmetre, longitud, densitat cel·lular unitària, massa, massa reproductiva, massa mínima, edat, estat vital, taxa de creixement pròpia i contingut intern de fòsfor.

La massa de l'alga canvia durant el seu desenvolupament, el seu cicle vital. La longitud cel·lular (altura del cilindre) es calcula a partir de la densitat cel·lular (assumida constant, igual, per a totes les algues) i el diàmetre cel·lular (amb el valor fixat inicialment) assumint una geometria cilíndrica, i el volum cel·lular es determina a partir de la longitud i el diàmetre assumint, també, una geometria cilíndrica.

El moviment cel·lular es defineix en funció de l'estat vital de les algues i fa que la seva posició espacial pugui canviar. Si són vives es desplacen entre 0 i 1 unitats de distància després de fixar l'orientació en el pla aleatòriament entre 0 i 360 °, mentre que si són mortes no tenen aquest moviment actiu i únicament es poden moure sota l'efecte de la gravetat fins al fons del reactor, representant un procés de sedimentació. En el reactor de mode continu, totes les algues presents en el medi tenen la modalitat de moviment de les vives degut a l'agitació que es pressuposa.

La resta de variables individuals que caracteritzen una alga, són assignades inicialment, o en la execució d'accions on es trobin involucrades, de forma aleatòria seguint distribucions de probabilitat normal. Aquestes distribucions normals (o Gaussians) tenen per mitjanes i desviacions típiques valors obtinguts a partir de dades de la bibliografia consultada [18]. El coeficient de variació de cadascuna d'aquestes distribucions de probabilitat normal està fixat inicialment.

La posició espacial, representada per coordenades cartesianes, es determina aleatòriament al inicialitzar-se el model.

La massa cel·lular s'assigna inicialment mitjançant d'una distribució normal amb mitjana i desviació típica obtingudes a partir d'un percentatge de la massa de reproducció. Aquest valor de massa durant l'evolució temporal que esdevé en el sistema s'actualitza constantment en consonància amb les diverses funcions o accions que les cèl·lules duen a terme relatives a nutrició, excreció i reproducció entre altres. La massa cel·lular mínima és el valor de la massa per sota del qual les cèl·lules moren i s'assigna en relació a un percentatge de la massa de reproducció. La massa reproductiva és el valor de massa a partir del qual les cèl·lules poden realitzar el procés de reproducció i s'assigna aleatòriament seguint una distribució normal centrada en el valor representatiu assignat a aquesta espècie. L'edat cel·lular és el temps (en dies) transcorregut des del naixement cel·lular o inici del cicle cel·lular. El seu valor només es considera en el cas de les cèl·lules vives (verdes).

El contingut intern de fòsfor es defineix com la quantitat de fòsfor que es troba present en l'interior d'una cèl·lula en un moment temporal determinat. S'assigna inicialment a partir de la concentració màxima admissible a l'interior cel·lular i s'actualitza constantment degut a procediments de nutrició i excreció. L'estat vital representa la situació metabòlica de les cèl·lules en el medi de cultiu, poden trobar-se vives (cercles verds) o mortes (cercles vermells). Mentre que les cèl·lules vives realitzen totes les funcions metabòliques establertes (nutrició, metabolisme, excreció, reproducció), les cèl·lules mortes únicament realitzen excreció. La transició cel·lular de vida a mort es dona quan el valor de massa cel·lular disminueix per sota d'una determinada porció de la massa reproductiva.

La taxa de creixement pròpia representa l'augment de biomassa cel·lular per unitat de temps. El seu valor és més o menys elevat en funció de les condicions ambientals i dels valors que prenen variables com els índexs de fotosíntesi i respiració, arribant a ser negatiu en certs casos (i per tant provocant aleshores no un augment, sinó una disminució o degradació de la pròpia biomassa) .

A partir de les propietats del món virtual representat (visibles a la pestanya "edit" del software de programació que s'obre al clicar sobre el mateix amb el botó esquerre del ratolí o teclat), es dedueix que el medi de cultiu representa el tall vertical d'un reactor de geometria quadrangular de dimensions 31x31x31 cm, 961 cm<sup>2</sup> de superfície de costat i, aproximadament, 30 litres de volum. Donat que la secció és un polígon regular, el quadrat de la longitud d'un costat dona el nombre de *patches* que conté la secció, que en aquest cas coincideix amb l'àrea: 961 *patches*. La mida de la secció del món representada al software (expressada en píxels) es de 7.5. Cadascuna d'aquestes cel·les es caracteritza per emmagatzemar un determinada quantitat de fòsfor, i prenen dos colors diferents segons si és de dia (color blanc) o de nit (color negre). Se suposa que el medi és líquid i que pot entrar o no medi segons sigui el mode del reactor operatiu. En la topologia del domini quadrat s'imposen condicions de frontera de paret rígida. La difusió de nutrient en el medi s'esdevé a partir del valor del coeficient de difusió prefixat. A l'inici, la concentració de fòsfor a cada cel·la espacial s'assigna de forma uniforme. Durant l'evolució temporal del sistema, el procés de difusió juntament amb les conseqüències dels processos de nutrició i excreció per part de les algues, fan variar la quantitat de fòsfor cel·la a cel·la.

El model està preparat per tal que el cicle dia/nit, que té una durada total de 24 hores, tingui una relació de 16/8, però aquesta relació es pot modificar.

L'evolució temporal del model es troba representada per uns intervals de temps idèntics que es troben associats a l'actualització de diferents variables i procediments definits, i que s'anomenen passos de programa. En el model SimThalasLogo, cada pas de programa equival, per defecte, a 15 minuts (valor que es pot modificar en realitzar simulacions). El simulador està preparat per aturar la simulació si el temps transcorregut des de l'inici de la mateixa és superior a un determinat nombre de dies que es poden fixar (per exemple, 15 dies).

A la interfície del programa s'incorporen varis *choosers* i botons que permeten modificar varies condicions del simulador sense necessitat de modificar el codi de programació. Entre altres coses, pot seleccionar-se el tipus de reactor entre tres possibles modes: "batch", "fed-batch" i "continuous". Es poden modificar algunes característiques rellevants del model com la concentració inicial de fòsfor, els valors dels índex de fotosíntesi i respiració, la concentració intracel·lular de fòsfor màxima admissible, el coeficient de variació de les distribucions de probabilitat normal que fan anar les variables aleatòries, i la quantitat de minuts que conté (o equival) un pas de programa (tick).

#### 4.1.3. Perspectiva del procés i programació

En el cas del model SimThalasLogo (i de la mateixa manera que ocorre en la majoria de simuladors), el procés global de simulació consta de dues seccions ben diferenciades. En la primera hi ha una fase d'inicialització on s'assignen els diferents valors numèrics a cada tipus d'agent seguint les instruccions esmentades en el model i en el codi, i dins dels rangs de valors que es determinin. També es distribueixen els individus (algues en aquest cas) per l'espai simulat amb les seves característiques i es fixen les condicions de l'entorn en el qual aquests individus viuen. En la segona secció, després d'iniciar-se la simulació, hi ha el que constitueix la part principal o central, un bucle de diverses operacions de càlcul i redistribució que s'apliquen de forma cíclica sobre cada agent o cel·la espacial present en el sistema, i que s'executen ininterrompudament fins a arribar a les condicions preestablertes per a finalitzar la simulació, moment en el qual s'atura el bucle i, en conseqüència, totes les accions que es troben inscrites en el mateix. Aquest bucle, que s'executa cada pas de temps, conté tres tipus d'accions, que poden

contenir més o menys comandes en funció del model construït. Per una part s'executen ordres específiques per als agents mòbils (en aquest cas les algues) que fan que actualitzin les seves característiques individuals atenent al resultat d'aquestes accions, després es dona una seqüència d'ordres específiques per als agents immòbils (en aquest cas les cel·les espacials), les quals actualitzen els seus valors paramètrics, i finalment s'executa una seqüència de comandes destinades a l'elaboració de gràfics i monitors numèrics per tal de poder veure de forma qualitativa i quantitativa l'evolució de varis paràmetres d'interès en el sistema simulat.

En el cas dels agents mòbils es distingeixen dues seqüències diferents en funció de si son vius o morts. En el primer cas es comença amb la determinació de l'edat a partir dels passos de programa transcorreguts a partir del naixement. Es segueix amb el moviment, nutrició, metabolisme (inclou la creació de biomassa o la seva degradació), excreció de fòsfor, reproducció i mortalitat. En segon cas la seqüència és formada per excreció de fòsfor i sedimentació.

Donat que les algues realitzen aquestes funcions en una determinada cel·la espacial que conté fòsfor, la influència dels processos metabòlics de les algues només té lloc en la cel·la on es troba situada l'alga, la qual cosa propicia la modificació de la variable específica de les cel·les sense transmetre's a les veïnes (això succeiria quan esdevingués el procés de difusió del fòsfor).

En el cas dels agents immòbils es realitza un sol procediment de control i actualització de la quantitat de fòsfor present a través de la difusió. La coloració en blanc o negre de les cel·les no canvia cada pas de temps, únicament en els moments temporals del cicle establert pel dia/nit.

Per últim es confeccionen els diferents tipus de gràfics, els gràfics de línia i els histogrames a partir de variables d'interès per al seguiment de l'evolució temporal de la població com ara la biomassa total, la quantitat de fòsfor present al medi i el nombre de cèl·lules vives i mortes, i les distribucions de característiques individuals de les algues com ara la seva biomassa, el contingut intern de fòsfor, la seva longitud o volum, i la seva edat. Aquestes variables poden ser globals o d'estat (com la biomassa) o derivades de les mateixes (com la longitud cel·lular), però totes permeten visualitzar informació sobre el tipus de sistema que tenim i com aquest canvia al llarg del temps.

## 4.2. *Design concepts*

### Emergència

En el model SimThalasLogo, el principal fenomen que emergeix és l'evolució de la població d'algues en el medi de cultiu segons sigui el fòsfor disponible que poden metabolitzar alternant els cicles de dia i nit. L'assignació inicial de valors i el mode del bioreactor juga un paper molt important en l'amplitud i la forma de les corbes de desenvolupament de la població d'algues en el medi, així com en les seves evolucions a nivell individual, alga per alga, existint alguns paràmetres que exhibeixen una major influència que d'altres sobre aquestes dinàmiques globals i individuals.

### Interacció

El fenomen d'interacció es dona, principalment, per la competència directa en aprofitar el fòsfor disponible, ja que dues algues no poden ingerir, al mateix temps, la mateixa molècula de nutrient. D'això es dedueix que totes i cadascuna de les algues que hi ha al mateix *patch* tenen la mateixa probabilitat d'aconseguir una molècula de nutrient, de forma que la primera alga que arriba a la

molècula l'aconsegueix en detriment de les altres. Aquest fet queda més patent en cas d'elevada ocupació de les cel·les, de manera que com més algues hi ha en una mateixa cel·la, més difícil és per cadascuna d'elles aconseguir les molècules nutritives necessàries per sobreviure.

Una altra forma d'interacció succeeix amb l'excreció de fòsfor, que es dona tant en les algues vives i les mortes, però que només les algues vives tenen possibilitats d'utilitzar aquest fòsfor excretat.

### Sensibilitat

En el present model s'assumeix que les algues poden detectar la quantitat de nutrient present en una cel·la qualsevol, sent possible ajustar la ingestió d'aliment en funció de les seves necessitats biològiques i la quantitat de nutrient disponible en la cel·la on es troben en un determinat instant de temps.

La quantitat de nutrient i les necessitats biològiques juguen un paper important en el desenvolupament de la població d'algues. L'escassetat de fòsfor en gran part del medi unida a unes necessitats elevades d'aquest element propicia una mortalitat més elevada de les algues.

### Aleatorietat

En el model presentat s'implementen varies variables amb components d'aleatorietat. Aquest fet és determinant per impedir una evolució temporal que segueixi sempre la mateixa dinàmica determinista que no s'adequa al que s'observa experimentalment.

Inicialment hi ha una assignació aleatòria de posicions o coordenades cartesianes en el domini de les algues que configuren la població inicial, en començar la simulació la distribució de les algues en l'espai és a l'atzar. En el cas de tenir el mode de reactor en continu, amb sortida de medi i per tant d'individus, també hi ha una elecció a l'atzar de quines són les algues que surten del medi en cada pas de temps.

El component d'aleatorietat més utilitzat és la distribució de probabilitat normal, també coneguda com la campana Gaussiana o de Gauss. Aquesta distribució depèn de dos paràmetres, un de tendència central anomenat mitjana o esperança, i l'altre de variabilitat o dispersió que s'anomena desviació típica o desviació estàndard. La desviació típica es pot calcular efectuant el producte entre la mitjana i el coeficient de variació especificat en cada cas. Aquesta distribució de probabilitat s'utilitza per assignar els valors d'algunes variables individuals característiques com la massa, la concentració interna de fòsfor i els índex de fotosíntesi i respiració, així com per procedir a l'execució o no de determinades accions individuals com la reproducció, l'excreció i la mort d'una alga.

El coeficient de variació que s'utilitza per determinar la desviació estàndard de les diferents distribucions (expressat en el codi com CV en tant per u) es pot canviar mitjançant el *slider* que es troba a la interfície del simulador, i pot ser-li assignat un valor, amb dues xifres decimals significatives, entre zero i u.

Per representar el moviment cel·lular s'utilitza una variable aleatòria simple que assigna, a l'angle de gir d'un individu, un nombre enter entre 0 i 360 i, seguidament, aplica un desplaçament en la direcció fixada d'una distància entre 0 i 1.

També s'han utilitzat variables aleatòries amb distribució uniforme dins d'un determinat interval, per exemple, per assignar l'edat cel·lular en el procediment d'inicialització.

En el model hi ha especificada una comanda tècnica de nom "random-seed" que permet utilitzar sempre la mateixa seqüència de dígit aleatoris, per generar amb les mateixes condicions la mateixa dinàmica de sistema, o bé, en anul·lar-la, permet generar seqüències de dígit aleatoris diferents en cada simulació que s'executa, aconseguint, aleshores, simulacions que poden ser considerades com a rèpliques o repeticions d'experiments virtuals.

### Observació

Per tal de facilitar el seguiment instantani del desenvolupament poblacional durant la simulació, es representen en un mateix gràfic tres evolucions temporals relatives al nombre d'individus o algues del sistema: el nombre total, el nombre d'algues vives i el nombre d'algues mortes. També es representa la concentració total de fòsfor en el medi i la quantitat total de biomassa.

Es proveeix, a més, de varis histogrames que representen les distribucions d'edat de les algues, de la seva massa, de la seva concentració interna de fòsfor, del seu volum i de la seva longitud per tal d'observar com varia el valor mitjà de cada variable durant la simulació i com és la seva dispersió, així com la forma de les diferents distribucions.

Com a complement, s'introdueixen tres gràfics on es representa l'evolució temporal de massa, edat i concentració interna de fòsfor per tres individus de la població escollits a l'atzar al inicialitzar-se el programa. En cada gràfic es representa l'evolució temporal de cada variable amb tres línies de colors diferents, una per cada alga escollida. És particularment interessant el fet que es pot veure el moment de la reproducció quan s'observa una disminució brusca d'alguna de les línies (sobretot en les gràfiques d'edat i massa). També es fa evident en el moment que algun d'aquests individus mor o surt del sistema, ja que no sempre es pot seguir un mateix individu durant una llarga evolució temporal del sistema.

A la Figura 7 adjunta es mostra la interfície del model representat a la plataforma NetLogo amb el protocol "batch".

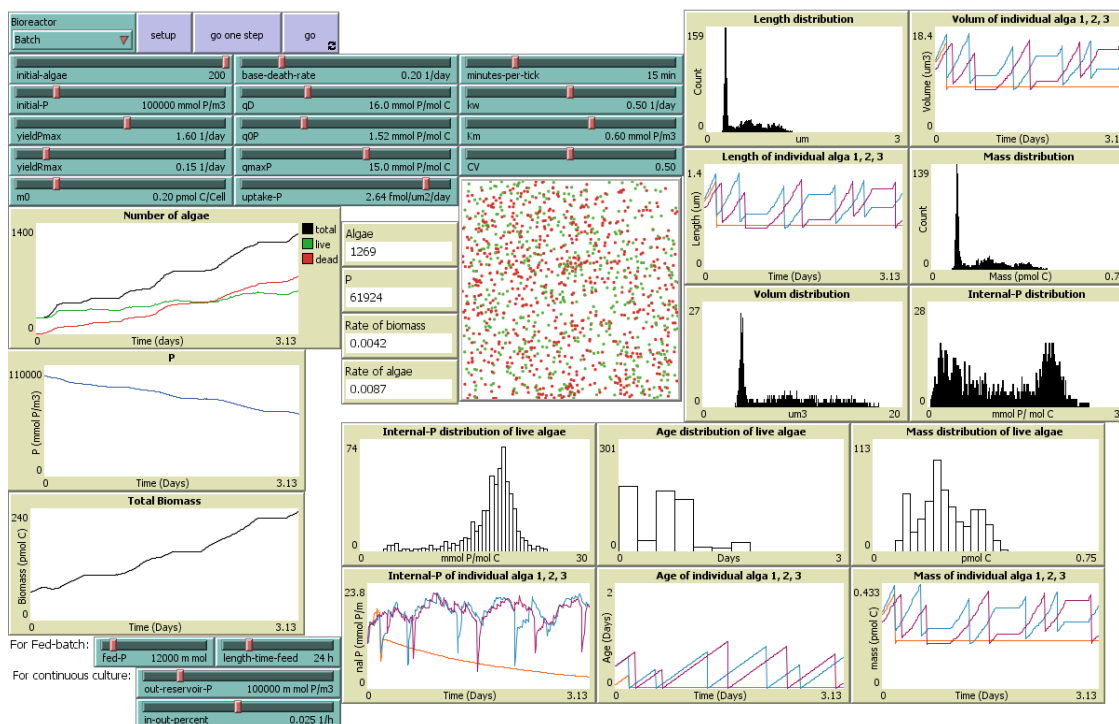


Figura 7: Imatge de la interfície del model SimThalasLogo implementat en la plataforma NetLogo en mode d'operació "Batch". L'observació de la simulació és possible gràcies als gràfics rectangulars, histogrames i distribucions de freqüències. Al món virtual es mostra l'evolució de la simulació, apareixent els diferents individus en moviment o no i la transició entre el dia i la nit. Els sliders de color verd permeten la modificació dels valors de diversos paràmetres del model.

### 4.3. Details

El model conceptual desenvolupat s'ha implementat i fet tangible a través de l'entorn de programació escollit i que és visible a la Figura 7. El programa informàtic o simulador està conformat per una interfície gràfica que conté el món virtual (un quadrat on es veuen les algues), les gràfiques, els monitors de variables i els diferents botons (*chousers* i *sliders*) destinats a escollir o modificar les condicions inicials del sistema. Inclou, a més, els botons que executen les comandes d'inicialització ("setup"), posada en marxa de la simulació amb l'execució d'un pas de programa ("go one step") or execució d'una simulació ("go"). L'altre component bàsic i fonamental és el codi de programació en l'entorn computacional escollit, que conté totes les comandes o instruccions necessàries per a la correcta implementació del model.

#### Variables

A continuació es presenten les diferents variables presents en el model, tant les variables globals com les variables individuals, el seu àmbit d'actuació i les unitats en que s'expressen.

Les variables globals són variables que actuen sobre la totalitat del sistema i influeixen sobre els agents mòbils i immòbils, i es troben llistades a la Taula 1 adjunta.

Taula 1: variables globals del model SimThalasLogo amb la seva descripció i unitats.

VARIABLE	DESCRIPCIÓ	UNITATS
<b>total-P</b>	Concentració total de fòsfor (extern) en el medi de cultiu	$mmol\ P / m^3$
<b>Initial-local-P</b>	Concentració unitària (per cel·la espacial) de fòsfor en l'instant inicial	$mmol\ P / m^3$
<b>total-biomass</b>	Suma de la massa cel·lular de tots els individus, individus vius i morts	$pmol\ C / cèl$
<b>ro</b>	Densitat cel·lular	$pmol\ C / \mu m^3$
<b>diameter</b>	Diàmetre cel·lular	$\mu m$
<b>ava-upt</b>	Disponibilitat mitjana de fòsfor per al metabolisme.	$mmol\ P / m^3$
<b>algae_t / algae_t-1</b>	Nombre d'individus instantani / nombre d'individus a l'instant previ	
<b>biomass_t / biomass_t-1</b>	Biomassa instantània / biomassa a l'instant previ	$pmol\ C / cèl$
<b>rate-algae i rate-biomass</b>	Variació del nombre d'individus i biomassa respectivament. Si és major que zero hi ha augment, mentre que, si és menor que zero, hi ha disminució	rate-biomass: $pmol\ C / cèl$
<b>devyP / devyR / devd / devu / devm0 / deve / devq0P / devqmaxP / devkm / devkw</b>	Desviació típica de les distribucions normals de l'índex fotosintètic / índex de respiració / mortalitat / nutrició / massa mínima de supervivència / excreció / quantitat interna de fòsfor / quantitat interna de fòsfor màxima admissible / constant de Michaelis–Menten per la nutrició / constant d'excreció	$dia^{-1}$ $dia^{-1}$ $dia^{-1}$ $fmol / \frac{\mu m^2}{dia}$ $pmol\ C / cèl$ $dia^{-1}$ $mmol\ C / mol\ C$ $pmol\ C / cèl$ $mmol\ P / m^3$ $dia^{-1}$
<b>upt</b>	Índex instantani d'ingestió de nutrient	$fmol / \frac{\mu m^2}{dia}$
<b>yieldP</b>	Índex fotosintètic instantani	$dia^{-1}$
<b>yieldR</b>	Índex de respiració instantani	$dia^{-1}$
<b>availability-P</b>	Proporció de fòsfor disponible sobre el total del medi (tant per u)	



<b>total-P-system</b>	Suma de la concentració del fòsfor en el medi de cultiu i la suma de la concentració de fòsfor per cèl·lula	$mmol\ P / m^3$
<b>total-internal-P</b>	Suma de la concentració de fòsfor per cèl·lula (inclou els individus vius i morts)	$mmol\ P / m^3$
<b>days-per-tick</b>	Nombre de dies que conté cada pas de programa	<i>dia</i>
<b>hours-per-tick</b>	Nombre d'hores que conté cada pas de programa	<b>h</b>
<b>ticks-minutes / ticks-hours / ticks-days</b>	Factors de conversió de temps	

Les variables individuals són aquelles que són utilitzades únicament pels agents mòbils, i prenen part en tots els processos relacionats amb els mateixos. A la Taula 2 adjunta es mostra el llistat de les variables individuals.

Taula 2: Variables individuals del model SimThalasLogo amb la seva descripció i unitats.

VARIABLE	DESCRIPCIÓ	UNITATS
<b>mass</b>	Massa cel·lular instantània	$pmol\ C / cèl$
<b>m0</b>	Massa cel·lular mínima de supervivència	$pmol\ C / cèl$
<b>m0-repro</b>	Massa mínima per dur a terme el procés de reproducció	$pmol\ C / cèl$
<b>internal-P</b>	Concentració interna de fòsfor en l'alga	$mmol\ P / mol\ C$
<b>age</b>	Representa la durada del cicle cel·lular de cada individu. En les algues mortes (color vermell), aquest valor roman constant, mentre que en les vives (color verd) només pot augmentar	<i>dia</i>
<b>live?</b>	Control de l'estat vital de l'alga, viva o morta	
<b>alength</b>	Longitud cel·lular de l'alga	$\mu m$
<b>volum</b>	Volum cel·lular de l'alga	$\mu m^3$
<b>specific-growth</b>	Taxa de creixement individual	$dia^{-1}$

La única variable local que s'aplica als agents immòbils és l'anomenada *local-P*, que representa la concentració de nutrient, en milimols de fòsfor per metre cúbic, que hi ha a cada cel·la espacial.

## Inicialització

Al prémer el botó “set up” present a la part superior esquerra de la interfície del programa de simulació (mostrada a la Figura 7) s’executa una seqüència de comandes (especificades en els apartats “setup”, “setup-algae” i “setup-medium” del codi de programació) destinades a distribuir per tot el món simulat les diverses unitats de simulació (agents) i assignar, a cadascuna d’aquestes unitats, els valors dels paràmetres especificats tant al codi com als *sliders* que es troben a la mateixa interfície.

Es necessari seleccionar, primerament, el mode d’operació entre “batch”, “fed-batch” o “continuous” abans de prémer el botó set up.

El conjunt “setup” assigna valors numèrics a algunes variables essencials (necessàries per al correcte funcionament del sistema) com la disponibilitat de fòsfor, la densitat cel·lular, el diàmetre cel·lular i les desviacions típiques de totes les distribucions normals que s’utilitzen en el model. Per tal d’implementar la variabilitat poblacional en les diverses distribucions de valors individuals o en l’execució de les diferents accions o regles de comportament establertes, el coeficient de variació intervé en el càlcul d’aquestes desviacions típiques de les variables aleatòries normals. Aquest conjunt també inclou la conversió d’hores a minuts i d’hores a dies, variables que regulen la velocitat dels passos de programa emprats. A la figura 8 adjunta es pot veure el codi de programació d’aquest conjunt.

```
to setup

  clear-all
; random-seed 1111
  set availability-P 0.5
  set diameter 4.5
  set ro 0.025
  set devyP CV * yieldPmax
  set devyR CV * yieldRmax
  set devd CV * base-death-rate
  set deve CV * kw
  set devu CV * uptake-P
  set devqOP CV * qOP
  set devqmaxP CV * qmaxP
  set devmO 0.1 * CV * mO
  set devKm CV * Km
  set devkw CV * kw
  setup-algae
  set total-P 0
  setup-medium

  set hours-per-tick minutes-per-tick / 60
  set days-per-tick hours-per-tick / 24

  reset-ticks
  do-plotting

end
```

Figura 8: Seqüència d’ordres del conjunt “setup” implementada en el simulador SimThalasLogo.

La comanda “random-seed”, tal com s’ha explicat a l’apartat *Design concepts*, permet mantenir els mateixos valors inicials en cada ordre d’inicialització. El punt i coma (;) serveix per desactivar la comanda i evitar que s’executi. Per activar-la només s’ha d’esborrar el punt i coma.

El conjunt “setup-algae” té la funció de crear els individus en el moment de la inicialització i, a més, caracteritzar-los, és a dir, assignar a cada individu un parell de coordenades cartesianes i valors de massa, massa reproductiva, longitud cel·lular, volum cel·lular, concentració interna de fòsfor i edat. També assigna l'estat vital a través de la variable booleana “live?” (“true” = vida, “false”= mort) i el color corresponent a l'estat assignat (verd = vida, vermell = mort). En aquest model s'ha assumit que totes les algues són vives en el moment de començar la simulació. La massa instantània (“mass”) es multiplica per 1.5 per evitar que la distribució normal que s'aplica retorni valors propers a zero, els quals produirien errors de càlcul en les subrutines en les que aquesta variable actua. A la Figura 9 adjunta es mostra el codi de programació de la seqüència “setup-algae”.

```
to setup-algae

  set-default-shape turtles "dot"
  create-turtles initial-algae

  [ setxy random-xcor random-ycor
    set mass 1.5 * abs ( random-normal m0 devm0 )
    set m0-repro abs ( random-normal m0 devm0 )
    set alength ( mass / ( ro * PI * ( ( diameter / 2 ) ^ 2 ) ) )
    set volum alength * PI * ((diameter / 2) ^ 2)
    set internal-P 0.1 + random-float qmaxP
    set age random-float 0.5
    set live? true
    set color green
    set total-biomass total-biomass + mass ]

end
```

Figura 9: Seqüència d'ordres del conjunt que crea i caracteritza els individus inicials que es troben al sistema, “setup-algae”, implementada en el simulador SimThalasLogo.

Es poden observar les comandes que assignen les coordenades cartesianes als individus (*random-xcor* i *random-pycor*), les distribucions normals amb les seves variables característiques (*random-normal*) i les distribucions uniformes (*random-float*).

El sub-conjunt “setup-medium” conté les ordres específiques per a la caracterització dels agents immòbils, les cel·les espacials de domini. El mecanisme essencial d'aquesta seqüència és la distribució homogènia del nutrient per totes i cadascuna de les cel·les espacials de forma que cada cel·la conté, inicialment, la mateixa quantitat de fòsfor. També conté l'assignació del color de fons de les cel·les (per defecte comencen sent de color blanc, és a dir, reben llum) i el càlcul de la concentració total de fòsfor en el medi. A la Figura 10 adjunta es mostra el codi de programació d'aquest conjunt.

```
to setup-medium
  set initial-local-P initial-P / ( world-width * world-height )
  ask patches [ set pcolor white set local-P initial-local-P ]
  set total-P sum [ local-P ] of patches
end
```

Figura 10: Seqüència d'ordres del conjunt que caracteritza les cel·les espacials en el moment de la inicialització i determina la quantitat de fòsfor al sistema, "setup-medium", implementada en el simulador SimThalasLogo.

En aquest cas no s'utilitza cap mecanisme d'aleatorietat, ja que la distribució de nutrient inicial es considera uniforme i s'admet que l'experiment es comença durant el dia, per la qual cosa tots els patches són de color blanc. Dóna el valor de la concentració total de fòsfor en el sistema.

### Sub-models

A continuació es detallen els diferents sub-models que configuren i s'implementen en el model computacional presentat sobre cadascun dels individus que configuren el sistema. Tots aquests procediments s'apliquen a totes i cadascuna de les algues del sistema virtual que controlem. Un cop es completa una de les accions o submodel sobre un individu, els valors resultants dels càlculs s'apliquen sobre aquest individu de forma immediata i es procedeix a completar les instruccions corresponents a la següent rutina o procediment, fins acabar per passar per totes les accions ordenadament sobre aquest individu, provocant o no canvis en els seus paràmetres característics que es mantenen actualitzats. En acabar amb un individu, s'escull de forma aleatòria un altre individu del sistema per a procedir amb el conjunt de accions, i així successivament fins passar per tots els individus de la població virtual.

### "Move"

Aquest sub-model defineix el moviment de les algues vives en el reactor simulat. A partir de la orientació instantània, s'aplica un gir de valor aleatori entre 0 i 360 ° i, a continuació, un desplaçament en el sentit positiu de la direcció orientada el valor del qual és un valor aleatori comprès entre 0 i 1. A la Figura 11 adjunta es mostra la seqüència d'ordres d'aquest conjunt.

```
to move
  right random 360
  forward random-float 1
end
```

Figura 11: Seqüència d'ordres del conjunt que controla el moviment de les algues, "move", implementada en el simulador SimThalasLogo.

Cal dir que no hi ha cap preferència establerta per al valor del desplaçament cel·lular en el medi en la direcció escollida.

#### “Uptake-metab-excretion-P”

Aquest sub-model engloba els tres procediments metabòlics comuns en tot ésser viu. Les fórmules necessàries per realitzar els diferents càlculs han estat extretes de la bibliografia [18].

La rutina de modelització relativa al metabolisme de l'alga comença amb l'assignació individual dels valors de fòsfor intern inicial ( $q0P$ ) i màxim admissible ( $qmaxP$ ) mitjançant distribucions normals i s'imposen condicions de correcció de valors (que duen associada la comanda “if”) en el cas que els valors resultants siguin més petits o iguals que els valors precedents de  $q0P$  i  $internal-P$  respectivament. Aquest procediment es mostra a la Figura 12 adjunta, on  $q0P$  és la concentració de fòsfor intracel·lular inicial,  $qmaxP$  és la concentració màxima de fòsfor admissible i  $internal-P$  és la concentració interna de fòsfor.  $devq0P$  i  $devqmaxP$  són les desviacions típiques de sengles distribucions normals i el sufix  $-n$  indica els valors obtinguts a partir de la distribució normal de les variables  $q0P$  i  $qmaxP$ .

```
let q0P-n abs ( random-normal q0P devq0P )
let qmaxP-n abs ( random-normal qmaxP devqmaxP )
if qmaxP-n <= q0P-n [ set qmaxP-n 10 * q0P-n ]
if qmaxP-n <= internal-P [ set qmaxP-n qmaxP ]
```

Figura 12: Procediment d'assignació inicial de fòsfor implementat en el simulador SimThalasLogo.

Seguidament, es calcula l'àrea superficial unitària atenent a l'equació següent:

$$A = (\pi \cdot d) \cdot ((d / 2) + L)$$

On  $A$  es l'àrea cel·lular superficial,  $d$  es el diàmetre cel·lular i  $L$  és la longitud cel·lular.

També s'assigna un valor màxim d'ingestió de nutrient a partir del valor escollit al *slider* de la interfície i d'una distribució normal amb mitjana aquest valor i desviació típica el producte de la mitjana i el coeficient de variació. Aquest procediment es mostra a la Figura 13 adjunta, on *area-superficial* és l'àrea superficial unitària,  $PI$  és el número Pi ( $\pi$ ), *diameter* és el diàmetre cel·lular unitari, *alength* és la longitud cel·lular unitària i *uptake-P* és l'índex d'ingestió de nutrient.  $Devu$  és la desviació típica de la distribució normal de mitjana *uptake-P* i *uptake-P-n* representa el valor normalitzat de *uptake-P-n*.

```
let area-superficial PI * diameter * ( ( diameter / 2 ) + alength )

let uptake-P-n abs ( random-normal uptake-P devu )
```

Figura 13: Procediment de càlcul de l'àrea superficial i d'assignació de l'índex de nutrient implementat en el simulador SimThalasLogo.

A continuació, si la quantitat de fòsfor present a la cel·la espacial on es troba la cèl·lula és més gran que zero, s'assigna un valor a la constant de Michaelis-Menten de la fórmula d'ingestió de nutrient a partir d'una distribució normal i es calcula la taxa d'ingestió instantània de nutrient mitjançant l'equació següent [18]:

$$V = V_{A,MAX} \frac{A}{m} \frac{PO_4}{K_m + PO_4} \frac{q_{MAX} - q}{q_{MAX} - q_0}$$

On  $V$  es la taxa d'ingestió de nutrient instantània,  $V_{A,MAX}$  és la taxa d'ingestió de nutrient màxima,  $A$  és l'àrea cel·lular superficial,  $m$  és la massa cel·lular instantània,  $PO_4$  és la concentració de fòsfor en el *patch* on es troba l'alga,  $K_m$  és la constant de Michaelis-Menten,  $q_{MAX}$  és la concentració de fòsfor intracel·lular màxima admissible,  $q$  és la concentració de fòsfor intracel·lular instantània i  $q_0$  és la concentració de fòsfor intracel·lular a l'instant inicial.

En cas que la cel·la espacial ocupada no contingui nutrient, s'assigna a la taxa d'ingestió de nutrient el valor zero. A la Figura 14 adjunta es mostra aquest conjunt d'ordres, on *local-P* és la concentració de fòsfor a cada *patch*, *km* és la constant de Michaelis-Menten, *upt* és la taxa d'ingestió de nutrients, *uptake-P-n* és l'índex d'ingestió de nutrients obtingut de la distribució normal, *days-per-tick* és el nombre de dies que hi ha a cada pas de programa, *area-superficial* és l'àrea cel·lular unitària, *mass* és la massa cel·lular unitària instantània, *qmaxP-n* és la concentració màxima de fòsfor admissible resultant de la distribució normal, *internal-P* és la concentració de fòsfor intracel·lular i *q0P-n* és la concentració de fòsfor inicial que s'obté de la distribució normal.

```
ifelse local-P > 0
[ let Km-n abs ( random-normal Km devKm)
  set upt ( ( uptake-P-n * days-per-tick ) * ( area-superficial / mass ) ) *
  ( ( local-P / ( Km-n + local-P ) ) * ( ( qmaxP-n - internal-P ) / ( qmaxP-n - q0P-n ) ) ) ]
[ set upt 0 ]
```

Figura 14: Procediment d'assignació del valor de la constant de Michaelis-Menten i càlcul de la taxa d'ingestió instantània implementat en el simulador *SimThalasLogo*.

Seguidament, es determina la taxa d'ingestió possible per a cada alga a partir de la disponibilitat de nutrient i la concentració local del mateix, assignant aquest resultat a la variable determinada anteriorment en cas que el valor d'aquesta sigui més gran. Tot i així, si la suma de la concentració local de nutrient i la taxa d'ingestió determinada en els procediments anteriors és més gran que la concentració intracel·lular màxima admissible, s'assigna el valor zero a la taxa d'ingestió. Finalment, s'actualitza la concentració interna de fòsfor sumant el valor en l'instant previ amb la taxa d'ingestió, fent el mateix amb la concentració local de fòsfor. Normalment, el primer valor augmenta ja que s'introdueix nutrient a l'interior de l'alga, ocorrent el contrari en el segon valor. A la Figura 15 adjunta es mostra aquest procediment, on *ava-upt* és la taxa d'ingestió mitjana, *availability-P* és la disponibilitat de fòsfor, *local-P* és la concentració de fòsfor a cada *patch*, *upt* és la taxa d'ingestió instantània, *internal-P* és la concentració interna de fòsfor instantània i *qmaxP-n* és la concentració màxima admissible de fòsfor resultant de la distribució normal.

```
set ava-upt availability-P * [ local-P ] of patch-here
if upt > ava-upt [ set upt ava-upt ]

if internal-P + upt > qmaxP-n [ set upt 0 ]

set internal-P internal-P + upt

set local-P local-P - upt
```

Figura 15: Procediment de determinació de la taxa d'ingestió necessària i actualització de les concentracions internes i externes de fòsfor implementat en el simulador SimThalasLogo.

A continuació s'analitza el valor de la variable L per decidir si es realitza fotosíntesi o respiració cel·lular. En el model presentat, la variable L pot prendre dos valors: 0 (nit) i 1 (dia). Si L = 0 s'anul·la l'índex fotosintètic i es defineix l'índex de respiració màxim a partir del valor fixat al *slider* de la interfície i una distribució normal, aplicant-se una correcció de valor en cas que el màxim sigui menor o igual que el 10% de l'instantani per evitar que l'índex de respiració sigui sempre màxim. Seguidament, es calcula l'índex de respiració instantani mitjançant l'equació següent [18]:

$$\mu_p = \mu_{p,MAX} \left( 1 - \frac{q_0}{q} \right) \text{ for } q > q_0; \mu_p = 0 \text{ for } q \leq q_0$$

On  $\mu_p$  és l'índex de respiració instantani,  $\mu_{p,MAX}$  és l'índex de respiració màxim,  $q_0$  és la concentració de fòsfor intracel·lular a l'instant inicial i  $q$  és la concentració de fòsfor intracel·lular instantània.

Per contra, si L = 1, s'anul·la l'índex de respiració i s'aplica el mateix mecanisme amb l'índex fotosintètic. A la Figura 16 adjunta es mostra l'esmentat procediment, on L és la variable que defineix si hi ha llum (1) o no (0), *internal-P* és la concentració interna de fòsfor instantània, *qOP-n* és la concentració de fòsfor inicial resultant de la distribució normal, *yieldP* és l'índex fotosintètic instantani, *yieldPmax* és l'índex fotosintètic màxim, *yieldPmax-n* és l'índex fotosintètic màxim que resulta de la distribució normal, *devyP* és la desviació típica de la distribució normal que defineix l'índex fotosintètic màxim, *yieldR* és l'índex de respiració instantani, *yieldRmax* és l'índex de respiració màxim i *yieldRmax-n* és l'índex de respiració màxim obtingut de la distribució normal.

```
if L = 1
[ ifelse internal-P > q0P-n
  [ set yieldR 0
    let yieldPmax-n abs ( random-normal yieldPmax devyP )
    if yieldPmax-n <= 10 * yieldR [set yieldPmax-n 10 * yieldR]
    set yieldP yieldPmax-n * ( 1 - ( q0P-n / internal-P ) ) ]
  [ set yieldR 0
    set yieldP 0 ] ]
if L = 0
[ set yieldP 0
  let yieldRmax-n abs ( random-normal yieldR devyR )
  if yieldRmax-n >= 0.1 * yieldP [ set yieldRmax-n 0.1 * yieldP ]
  set yieldR yieldRmax-n ]
```

Figura 16: Procediment de selecció de processos metabòlics en funció del valor de L implementat en el simulador SimThalasLogo.

En aquest punt es realitza el càlcul de la taxa de creixement diària a partir dels índex de fotosíntesi i respiració i el nombre de dies per pas de programa. A partir d'aquest resultat es calcula l'increment de massa (disminució si l'índex fotosintètic és menor que el de respiració) i s'actualitza el valor de la massa cel·lular unitària, aplicant-se la condició de vida cel·lular (per mantenir-se amb vida, la massa cel·lular ha de ser més gran que la meitat de la massa necessària per dur a terme la reproducció) i canviant a mortes les cèl·lules que no la compleixin. Seguidament s'actualitza la concentració interna de fòsfor instantània a partir de la taxa de creixement cel·lular. A la Figura 17 adjunta es representa aquest procediment, on *specific-growth* és la taxa de creixement cel·lular, *yieldP* és l'índex fotosintètic instantani, *yieldR* és l'índex de respiració instantani, *days-per-tick* és el nombre de dies que hi ha a un pas de programa, *increment-mass* és l'increment de massa cel·lular, *mass* és la massa cel·lular instantània, *m0-repro* és la massa reproductiva i *live?* és la variable que controla si les cèl·lules són vives o mortes (en aquest cas, si la massa instantània és menor que la meitat de la massa reproductiva, la cèl·lula passa de viva (*live?* = "true", color green) a morta (*live?* = "false", color red).

```
set specific-growth (yieldP - yieldR) * days-per-tick

let increment-mass specific-growth * mass
set mass mass + increment-mass
if mass <= 0.5 * m0-repro [ set live? false set color red ]
set internal-P internal-P - specific-growth * internal-P
```

Figura 17: Procediment de càlcul de la taxa de creixement i actualització dels valors de massa unitària i concentració interna de fòsfor implementat en el simulador SimThalasLogo.

Finalment, es calcula l'índex d'excreció cel·lular a partir de la constant d'excreció, valor que es determina a partir del número fixat al *slider* de l'interfície i una distribució normal. S'aplica, addicionalment, una correcció d'unitats per assignar a aquesta constant el valor 1 si el resultat de la distribució és major que 1. A partir del producte de la taxa d'excreció obtinguda amb l'equació següent [18]:



$$W = k_w q$$

On  $W$  és la taxa d'excreció cel·lular,  $k_w$  és la constant d'excreció i  $q$  és la concentració de fòsfor intracel·lular instantània, per el nombre de dies que conté cada pas de programa s'obté un resultat que es suma a la concentració local de fòsfor i es resta a la concentració interna cel·lular. A la Figura 18 adjunta es representa aquest procediment, on  $kw$  és la constant d'excreció,  $devkw$  és la desviació típica de la distribució normal que determina el valor de  $kw$  ( $kw-n$ ),  $excreted$  és la taxa d'excreció instantània,  $internal-P$  és la concentració interna de fòsfor instantània,  $days-per-tick$  és el nombre de dies que hi ha a un pas de programa i  $local-P$  és la concentració de fòsfor a cada *patch*.

```
let kw-n abs ( random-normal kw devkw )
if kw-n > 1 [set kw-n kw]
  let excreted ( kw-n * internal-P * days-per-tick)
  set internal-P internal-P - excreted
  set local-P local-P + excreted
```

Figura 18: Procediment d'excreció i actualització de les concentracions de fòsfor interna i externa implementat en el simulador *SimThalasLogo*.

L'últim pas en aquest sub-model consisteix en l'actualització dels valors de longitud i volum cel·lulars utilitzant les fórmules específiques per una geometria cilíndrica. A la Figura 19 adjunta es mostra aquest procediment, on  $alength$  és la longitud cel·lular unitària,  $volum$  és el volum cel·lular unitari,  $mass$  és la massa cel·lular unitària,  $ro$  és la densitat cel·lular unitària,  $PI$  és el número Pi ( $\pi$ ), i  $diameter$  és el diàmetre cel·lular unitari.

```
set alength ( mass / ( ro * PI * ( ( diameter / 2 ) ^ 2 ) ) )
set volum alength * PI * ((diameter / 2) ^ 2)
```

Figura 19: Procediment de càlcul de longitud i volum cel·lulars implementat en el simulador *SimThalasLogo*.

### "Mortality"

Aquest sub-model controla la mortalitat cel·lular en el sistema simulat a partir de dues consideracions, una part que vindria donada per una probabilitat de mort que es pot considerar que representa tots aquells factors no controlats o d'atzar que es poden donar en la realitat (*base-death-rate*), i una part que seria conseqüència de la concentració de fòsfor intracel·lular mínima per mantenir l'activitat biològica, de forma que una menor quantitat interna de fòsfor podria ocasionar una probabilitat major de mort (quocient de  $qD-n$  i  $internal-P$ ). A la Figura 20 adjunta es mostra el codi de programació d'aquest conjunt.

```
to mortality
  let death-n abs ( random-normal base-death-rate devd )
  if death-n > 1 [ set death-n 1 ]
  let qD-n abs ( random-normal qD devd )
  let death death-n * ( qD-n / internal-P ) * days-per-tick
  if random-float 1 < death [ set live? false set color red ]
end
```

Figura 20: Seqüència d'ordres del conjunt "mortality" implementada en el simulador SimThalasLogo.

Es parteix de la determinació de la mortalitat en l'instant previ a partir d'una distribució normal la mitjana de la qual és la probabilitat de morir i la desviació de la qual és el producte d'aquesta probabilitat i el coeficient de variació. S'aplica, a continuació, una correcció numèrica o control per assignar el valor 1 al resultat anterior si la distribució retorna un valor més gran que la unitat que seria inviable per a una probabilitat. Tot seguit es calcula el valor de la concentració de fòsfor intracel·lular mínima vital a partir d'una distribució normal i, a continuació, es calcula la taxa de mortalitat instantània a partir de l'equació següent [18]:

$$\mu_D = \mu_{D,BASE} \left( \frac{q_D}{q} \right)$$

On  $\mu_D$  és la taxa de mortalitat instantània,  $\mu_{D,BASE}$  és la taxa de mortalitat específica que depèn de cada espècie d'alga,  $q_D$  es la concentració de fòsfor intracel·lular mínima per sobreviure i  $q$  és la concentració de fòsfor intracel·lular instantània.

Finalment, es tria aleatòriament, un valor entre zero i més petit que la unitat. Si aquest valor és més petit que el resultat del càlcul anterior, s'indueix la mort cel·lular virant el color de l'alga al vermell i anul·lant totes les funcions metabòliques i nutritives.

#### "Reproduce"

Es tracta del sub-model que simula la reproducció de les algues en el medi simulat. S'assumeix que les algues es reproduïxen per bipartició, resultant dues cèl·lules filles amb massa i longitud aproximadament iguals a la meitat de les de la cèl·lula progenitora. A la Figura 21 adjunta es mostra el codi de programació d'aquest conjunt. Aquesta rutina només s'executa si la seva massa instantània es, almenys, el doble de la massa mínima reproductiva. A partir de dues variables esmentades a la Figura 20 com *repartiment-m* i *repartiment-p* de valors 0.5 en ambdós casos [18], es defineix un coeficient de repartiment de massa i un altre de repartiment de fòsfor des de la cèl·lula mare a les dues descendents. Aquests coeficients es defineixen a partir de dues distribucions normals. Per ambdós coeficients s'imposen dues correccions de valors que assignen el valor 0.5 si, per al cas del repartiment de massa, la proporció és superior al 75% o inferior al 25% i, per al cas del repartiment de fòsfor, les proporcions obtingudes són superiors al 85% o inferiors al 15%.

```
to reproduce
  if mass > 2 * m0-repro
    [ let repartiment-m abs ( random-normal 0.5 0.05 )
      let repartiment-p abs ( random-normal 0.5 0.375 )
      if repartiment-m > 0.75 or repartiment-m < 0.25 [ set repartiment-m 0.5 ]
      if repartiment-p > 0.85 or repartiment-p < 0.15 [ set repartiment-p 0.5 ]

      set age 0 set mass repartiment-m * mass set internal-P repartiment-p * internal-P
      set alength ( mass / ( ro * PI * ( ( diameter / 2 ) ^ 2 ) ) ) set m0-repro abs
      ( random-normal m0 devm0 ) set volum alength * PI * ((diameter / 2) ^ 2)
      hatch 1 [ set age 0 set mass (1 - repartiment-m) * mass set internal-P ( 1 - repartiment-p ) * internal-P
      set alength ( mass / ( ro * PI * ( ( diameter / 2 ) ^ 2 ) ) ) set m0-repro abs
      [ random-normal m0 devm0 ) set volum alength * PI * ((diameter / 2) ^ 2) ] ]
end
```

Figura 21: Seqüència d'ordres del conjunt "reproduce" implementada en el simulador SimThalasLogo.

Un cop obtingudes i normalitzades aquestes proporcions, a les cèl·lules que compleixen les primeres dues condicions se'ls assigna edat zero i una massa igual al producte de la massa instantània per el coeficient de repartiment obtingut prèviament, realitzant-se el mateix procediment per al fòsfor. Seguidament, es determinen els nous valors de longitud, volum i massa reproductiva de la mateixa forma que s'apliquen al principi de la simulació. Seguidament apareix un nou individu al medi que resulta de la partició de l'anterior al qual s'assigna edat zero per iniciar el cicle cel·lular, valors de massa i concentració de fòsfor utilitzant el procediment emprat per la cèl·lula anterior amb els valors restants de les proporcions determinades ( $1 - \text{"repartiment-p"}$  i  $1 - \text{"repartiment-m"}$ ) i nous valors de longitud i volum cel·lular amb les fórmules de geometria cilíndrica.

#### "Excretion"

Aquest sub-model és un procediment que només s'aplica a les algues, tant siguin algues mortes o algues vives. A la Figura 22 adjunta es mostra el codi de programació d'aquest procediment.

```
to excretion
  let kw-n abs ( random-normal kw devkw )
  if kw-n > 1 [ set kw-n kw ]
  let excreted ( kw-n * internal-P * days-per-tick )
  set internal-P internal-P - excreted
  set local-P local-P + excreted
end
```

Figura 22: Seqüència d'ordres del conjunt "excretion" implementada en el model SimThalasLogo.

Primerament s'obté el valor de la constant d'excreció a partir d'una distribució normal que té per mitjana el valor seleccionat a l'*slider* de la interfície i de desviació típica el producte d'aquesta mitjana pel coeficient de variació. Seguidament s'aplica una correcció numèrica en cas de que el valor retornat sigui major que la unitat i es calcula la taxa d'excreció mitjançant la fórmula especificada al sub-model "uptake-metab-excretion-P" [18]. Finalment s'actualitzen els valors de la concentració interna de fòsfor i la concentració de fòsfor a cada *patch* restant i sumant, respectivament, el valor resultant del càlcul de la taxa d'excreció als valors de l'instant previ.

### “Move-down”

Es tracta d'un sub-model només aplicable a les cèl·lules mortes en els modes del reactor “batch” i “fed-batch” que simula l'efecte de la sedimentació en un medi líquid per efecte de la gravetat. El codi de programació d'aquest conjunt es mostra a la Figura 23 adjunta.

```
to move-down
  set heading 45 + random 270
  forward random-float 0.025
end
```

*Figura 23: Seqüència d'ordres del conjunt “move-down” implementada en el simulador SimThalasLogo.*

La cèl·lula triada s'orienta en aplicar un gir aleatori entre 45 i 315 ° i finalitzat aquest gir s'aplica un desplaçament aleatori en el sentit positiu de la direcció fixada d'entre 0 i 0.025 unitats.

### “Update-medium”

A cada pas de programa, aquest sub-model, que s'aplica primer sobre cada una de les cel·les espacials, distribueix de forma equitativa el 75% del contingut de fòsfor de la cel·la a les seves 8 cel·les veïnes immediates que l'envolten. Aquest procediment simple permet acostar a la realitat el procés de difusió de substàncies dissoltes en un líquid. Inclou, a més, dos procediments alternatius d'actualització per als protocols “fed-batch” i “continuous”, que es poden triar a la interfície del model computacional mitjançant el selector corresponent.

A la Figura 24 adjunta es mostra el codi de programació d'aquest conjunt.

```
to update_medium
  diffuse local-P 0.75
  if (Bioreactor = "Fed-batch")
  [
    if ticks-hours mod length-time-feed = 0
    [ let fed-P-superficial fed-P / world-width
      ask patches with [ pycor = max-pycor ] [ set local-P local-P + fed-P-superficial ]
      set total-P sum [local-P] of patches ]
    ]
  if Bioreactor = "Continuous"
  [
    ask turtles [ if live? = false [ move ] ]
    set total-P total-P - in-out-percent * total-P * hours-per-tick
    set total-P total-P + in-out-percent * out-reservoir-P * hours-per-tick

    let temp1 total-P / ( world-width * world-height )
    ask patches [ set local-P temp1 ]

    let temp2 floor ( in-out-percent * count turtles * hours-per-tick )
    if temp2 > 1 [ ask n-of temp2 turtles [ die ] ]

    set total-biomass sum [ mass ] of turtles
  ]
end
```

Figura 24: Seqüència d'ordres del conjunt "update-medium" implementada en el simulador SimThalasLogo.

En el protocol "fed-batch", a més del procés de difusió, el sistema aplica un cicle temporal en el que ocorre el restabliment del medi ("length-time-feed") i una comanda de reposició de medi de cultiu ("fed-P-superficial" i "fed-P") que simulen un reactor amb alimentació periòdica però del qual no s'extreu medi de cultiu en cap moment. Per simular la introducció de medi fresc s'ha assumit que el nutrient es distribueix uniformement per la superfície del medi. Això s'aconsegueix dividint la quantitat de fòsfor que s'introdueix ("fed-P") entre l'amplada del sistema simulat ("world-width"). Amb aquest conveni, només els *patches* situats a la superfície del medi (el valor de la coordenada y és el màxim possible, "max-pycor") veuen augmentada la seva concentració de fòsfor en el valor resultant de la divisió anterior, actualitzant-se també la concentració total de fòsfor. Aquesta rutina, però, només s'activa si el temps és múltiple del període establert per la alimentació.

En el protocol "continuous" s'apliquen dues variables addicionals: un flux d'introducció i extracció ("in-out-percent") i un límit de reserva de nutrient en el medi ("out-reservoir-P") que evita que la quantitat de fòsfor en el medi de cultiu no sobrepassi la xifra fixada al *slider* de l'interfície. En aquest cas, el model simula un bioreactor en règim continu en el que s'extreu i s'introdueix medi de cultiu de forma constant. La primera comanda de la subrutina assigna el moviment de les algues vives a les mortes per simular l'agitació del medi. A cada pas de programa, es resta a la concentració de fòsfor el producte del cabal d'extracció, la concentració de fòsfor total i el nombre d'hores per pas de programa i, seguidament, es suma el producte entre el cabal d'extracció, el reservori de fòsfor i el nombre d'hores per pas de programa. Seguidament s'assumeix que la distribució de nutrient al medi és uniforme (cada *patch* té la mateixa quantitat), la qual cosa es simula dividint la concentració total de fòsfor entre el producte de l'amplada i l'alçada del reactor simulat. Seguidament s'arrodoneix el producte entre el cabal d'extracció, el nombre d'individus i el nombre d'hores per pas de programa a un nombre enter més petit que el decimal obtingut. Si aquest nombre és major que la unitat, es pren aquest nombre d'algues i sel's canvia de l'estat viu

al mort. Finalment, es suma la massa de tots els individus presents, actualitzant-se la variable de biomassa del sistema.

#### “Do-plotting”

Aquest darrer conjunt de instruccions o comandes tècniques i pròpies de l'entorn de programació permet la confecció de diferents tipus de representacions gràfiques per poder observar, de forma més directa e immediata, com evoluciona el sistema simulat. En aquest cas, aquest conjunt només ordena la confecció d'histogrames ja que la resta de gràfics de la interfície es programen directament a partir de les opcions de l'element o botó “plot”. Les comandes comencen assignant, al corresponent gràfic, el nom que ha de tenir. Seguidament, s'assigna la variable que es vol representar durant la simulació. Els histogrames són molt útils per observar la distribució de valors que prenen les diferents variables representades en referència al seu valor mitjà o tendència central, a quina és la seva dispersió i a la forma de la distribució que pot anar canviant a mesura que avança l'evolució.

A la Figura 25 adjunta es mostra la seqüència d'ordres d'aquest conjunt implementada en el simulador SimThalasLogo.

```
to do-plotting

  set-current-plot "Mass distribution"
  set-current-plot-pen "mass_distribution"
  histogram [mass] of turtles

  set-current-plot "Mass distribution of live algae"
  set-current-plot-pen "mass_distribution_live_algae"
  histogram [mass] of turtles with [live? = true]

  set-current-plot "Length distribution"
  set-current-plot-pen "length_distribution"
  histogram [alength] of turtles

  set-current-plot "Internal-P distribution"
  set-current-plot-pen "internal-P_distribution"
  histogram [internal-P] of turtles

  set-current-plot "Internal-P distribution of live algae"
  set-current-plot-pen "internal-P_distribution_live_algae"
  histogram [internal-P] of turtles with [live? = true]

  set-current-plot "Age distribution of live algae"
  set-current-plot-pen "Age_distribution"
  histogram [age] of turtles with [live? = true]

  set-current-plot "Volum distribution"
  set-current-plot-pen "Volum_distribution"
  histogram [volum] of turtles

end
```

Figura 25: Seqüència d'ordres del conjunt “do-plotting” implementada en el simulador SimThalasLogo.

## 5. Resultats de la simulació i discussió

### 5.1. Simulació de diferents protocols de maneig del cultiu

El simulador està preparat amb uns valors determinats per la bibliografia consultada i altres que han estat prefixats sense cap referència prèvia. Cadascuna de les variables o paràmetres implicats en el model de referència poden ser canviats des del codi o be ser ajustables mitjançant l'ús dels botons de l'interfície. A la Taula 3 adjunta es llisten aquestes variables. Els valors referents a la quantitat inicial d'algues i a la concentració inicial de fòsfor no tenen origen bibliogràfic (han estat triats de forma que les corbes de creixement i els ordres de magnitud dels resultats siguin semblants als presentats per altres microorganismes planctònics) i la resta es corresponen al treball de Frederick i coautors [18].

Taula 3: Valors per defecte de les variables ajustables mitjançant "sliders" i les seves unitats.

VARIABLE	VALOR (CV)	UNITATS
initial-algae	200	
initial-P	100000	$mmol P / m^3$
yieldPmax	1.60 (0.4)	$dia^{-1}$
yieldRmax	0.15 (0.5)	$dia^{-1}$
m0	0.20 (0.05)	$pmol C / cèl$
base-death-rate	0.20 (0.4)	$dia^{-1}$
qD	16 (0.45)	$mmol P / mol C$
q0P	1.52 (0.5)	$mmol P / mol C$
qmaxP	15 (0.55)	$mmol P / mol C$
uptake-P	2.64 (0.4)	$fmol P / \mu m^2 / dia$
minutes-per-tick	15	min
kw	0.5 (0.6)	$dia^{-1}$
km	0.6 (0.45)	$mmol P / m^3$
CV	0.5	
diameter	4.13	$\mu m$
ro	0.025	$pmol C / \mu m^3$

A la Figura 26 es mostra la interfície del simulador SimThalasLogo en mode "Batch" on es poden veure els botons que permeten a un usuari modificar els valors dels paràmetres implicats i els diferents tipus de resultats assolits (a nivell de població i a nivell individual d'alga), així com les sortides gràfiques i numèriques corresponents a dos instants de temps diferents de l'evolució temporal de la població d'algues

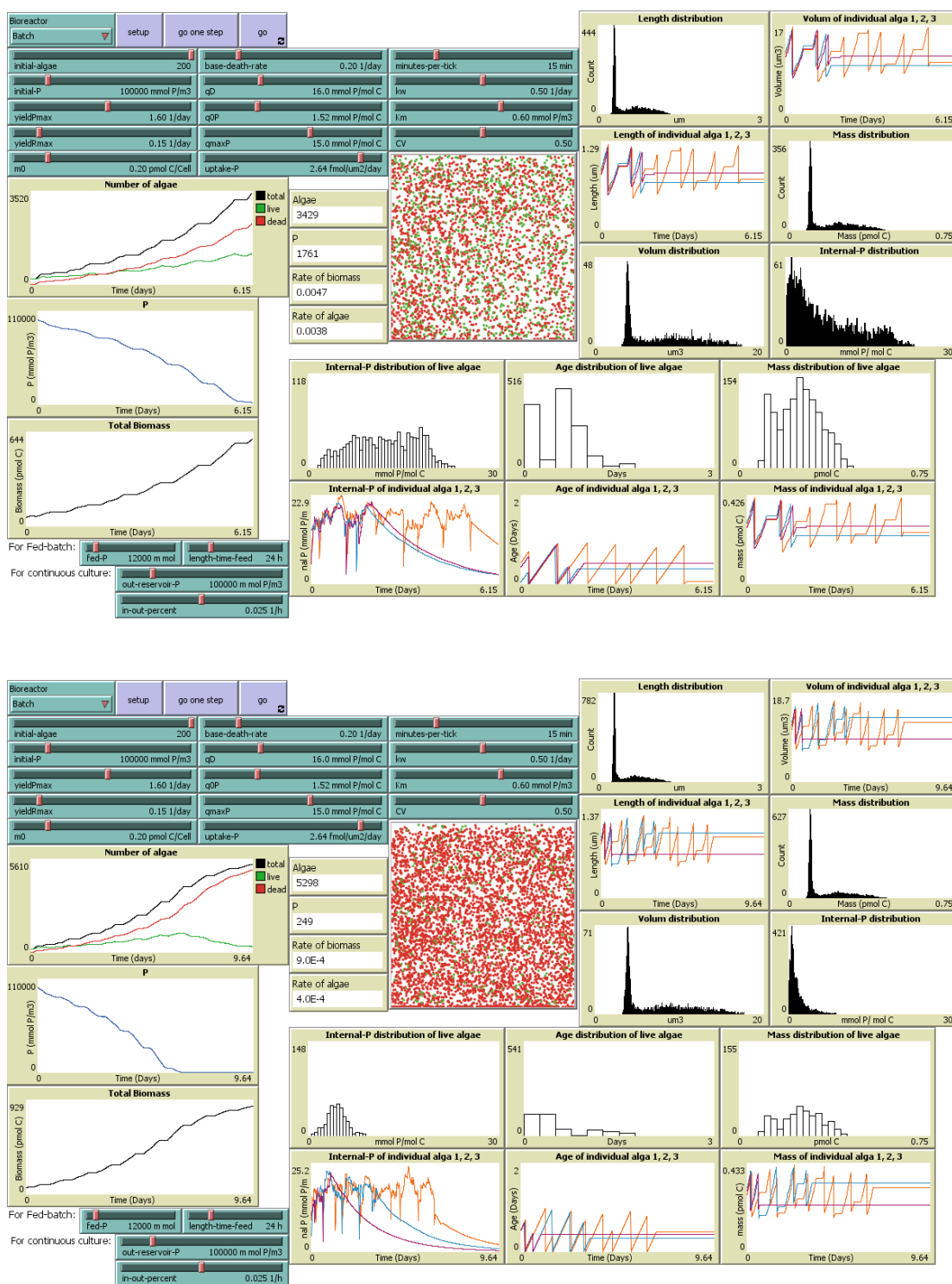
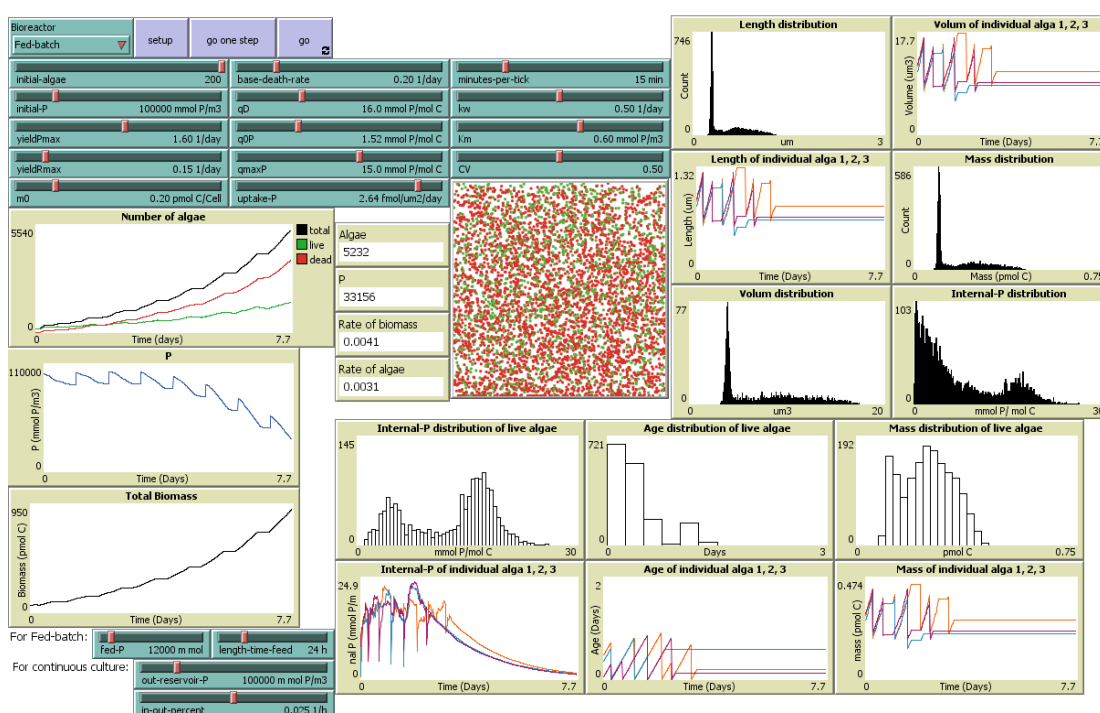


Figura 26: Captures de pantalla que mostren, en el software NetLogo, la interfície del model SimThalasLogo operant amb el protocol "Batch", a) imatge superior amb els primers sis dies de simulació, i b) imatge inferior amb els deu dies després d'iniciar la simulació.



Si el reactor opera en mode "batch", s'observa un augment constant de la biomassa gairebé proporcional a la disminució del fòsfor, succés visible a la Figura 26a. Quan la quantitat de nutrient disminueix per sota de, aproximadament, 7500 milimols de fòsfor per metre cúbic, s'observa una disminució progressiva de la quantitat d'algues vives a partir de la línia verda de la gràfica "Number of algae", tal com es pot veure a la Figura 26b. La quantitat de fòsfor es manté estable al voltant de 200 milimols per metre cúbic degut al degoteig de nutrient que van perdent les algues mortes, cada cop més nombroses, el que s'equilibra amb la ingestió que realitzen les vives, cada cop més escasses. A la Figura 26b pot apreciar-se que el nombre d'algues vives arriba a ser zero degut a la impossibilitat d'alimentar-se degut a la poca quantitat de nutrient. Quan totes les algues són mortes, i després d'un cert temps, la concentració de fòsfor no augmenta ja que tot el nutrient que conserven al seu interior ha estat expulsat.

A la Figura 27 es mostra la interfície del model SimThalasLogo en mode d'operació "fed-batch".



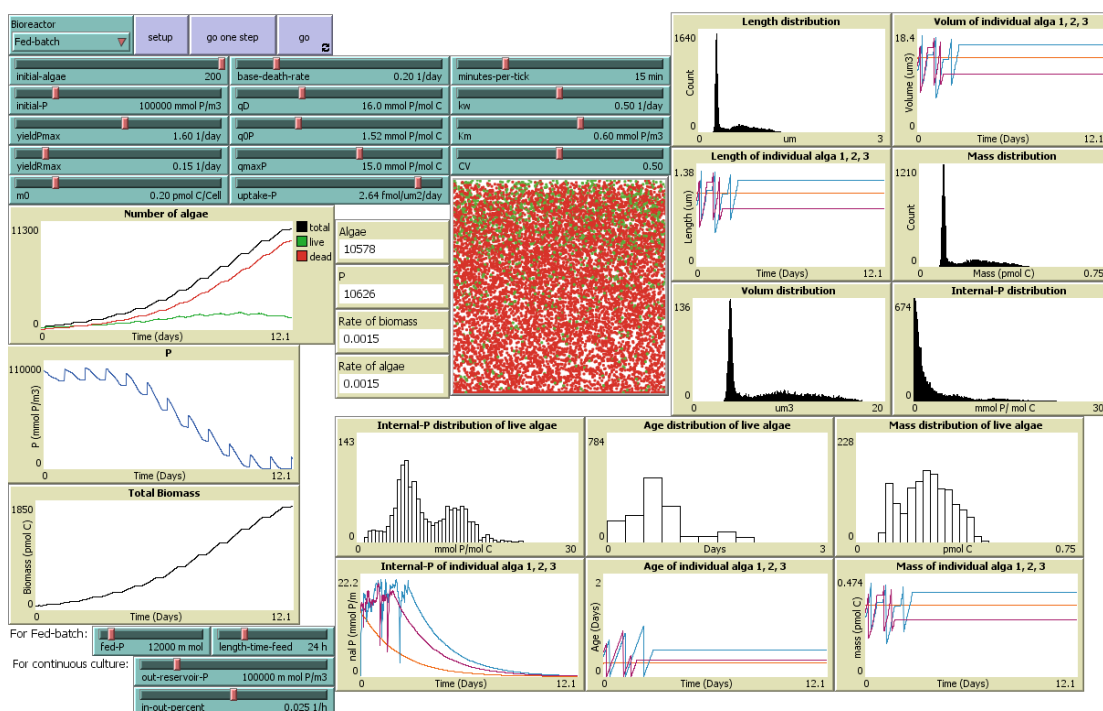


Figura 27: Captura de pantalla que mostra, en el software NetLogo, la interfície del model SimThalasLogo operant amb el protocol “Fed-batch” en els primers 8 dies de simulació (a) i en els primers 12 dies (b).

Als primers instants temporals de la simulació, il·lustrats a la Figura 27a, s’observa un creixement gairebé idèntic al cas del protocol “batch”, però difereix amb aquest en que la concentració de fòsfor presenta augments puntuals de 12000 milimols de fòsfor cada 24 hores, moment en el que es realitza l’aportació des de l’exterior de nutrient al medi de cultiu. La raó d’haver triat 12000 milimols com a quantitat a afegir rau en el fet que, en 24 hores, les algues han ingerit, aproximadament, uns 12000 milimols de fòsfor (observat durant els primers passos de programa). L’evolució que segueix la població d’algues, tot i així, segueix la tendència de creixement del protocol “batch”. A mesura que augmenta el nombre d’individus vius, la quantitat de fòsfor ingerida per dia és cada cop més gran, per la qual cosa la quantitat de nutrient va disminuint de forma sensible a mesura que avança el temps. Tot i així, amb aquest protocol d’operació s’obté més biomassa en la mateixa quantitat de temps que en el mode “batch”, i, tal com s’il·lustra a la Figura 27b, el cultiu mai arriba a esgotar-se ja que, per sota de 200 milimols per metre cúbic, la concentració s’estabilitza per les pèrdues de les algues mortes i la constant addicció de 12000 milimols cada 24 hores.

A la Figura 28 es mostra la interfície del model SimThalasLogo en mode d’operació “continuous”.

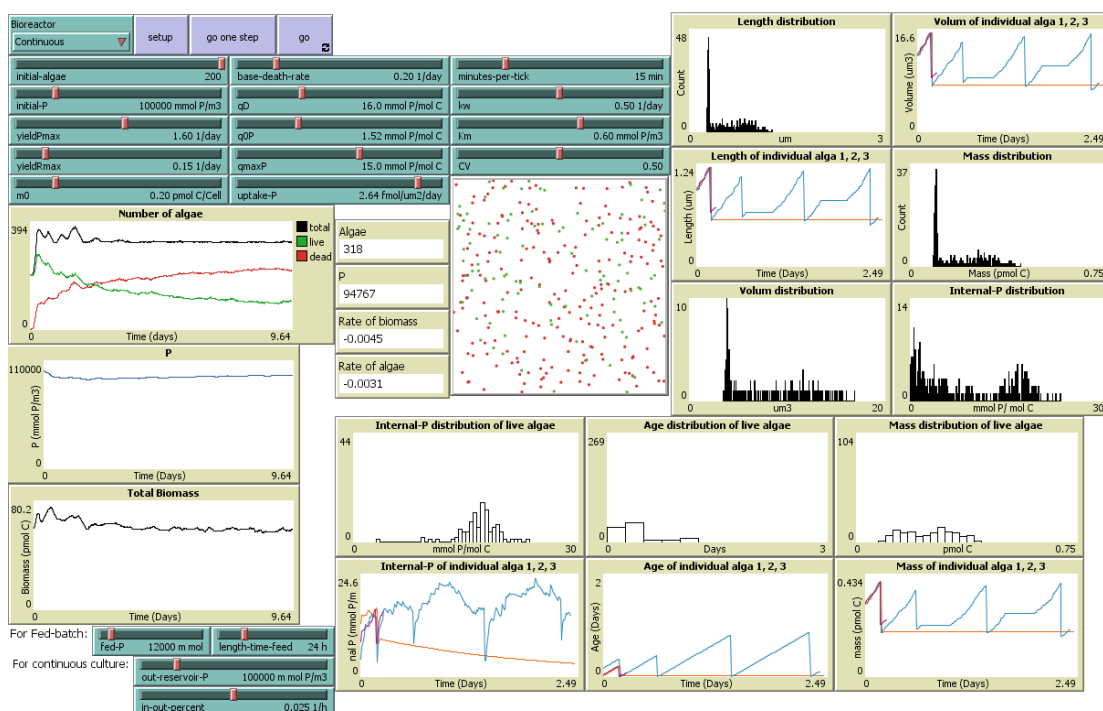


Figura 28: Captura de pantalla que mostra, en el software NetLogo, la interfície del model SimThalasLogo operant amb el protocol “Continuous”.

En aquest mode d'operació, la concentració de fòsfor total romandrà constant en funció del valor assignat a l'slider “out-reservoir-P” i el percentatge de medi que s'extreu constantment (“in-out-percent”). Amb els valors paramètrics prefixats, La població d'algues amb els valors prefixats inicials comença creixent de forma exponencial durant un període de 0,3 dies aproximadament per després disminuir progressivament fins a establir-se en un valor al voltant de 130 cèl·lules vives. A l'existir una extracció de medi (que conté nutrient no consumit i algues), i una introducció de medi fresc amb nutrient de forma constant, de forma continua, el cultiu no s'esgota mai, i l'estat estacionari assolit roman invariable sempre que no es modifiquin les condicions ambientals, cas en el qual s'assoleix un estat estacionari diferent a l'inicial. Cal tenir en compte que, com més petit sigui el nombre inicial d'algues, més temps es triga a assolir l'estat estacionari. En cas contrari, com més gran és el nombre inicial d'algues, el temps necessari per assolir l'estat estacionari és menor.

## 5.2. Anàlisi de sensibilitat unifactorial

El model SimThalasLogo treballa amb varis paràmetres els valors dels quals poden fixar-se mitjançant diversos sliders presents a la interfície del software NetLogo. L'anàlisi de sensibilitat unifactorial consisteix en avaluar, per cadascun d'aquests paràmetres, com canvia la dinàmica de poblacions en el sistema simulat, la qual cosa permet, a més de deduir quin o quins paràmetres presenten una major sensibilitat, explicar, de forma aproximada, alguns fenòmens que poden tenir lloc en el dia a dia d'un laboratori d'investigació.

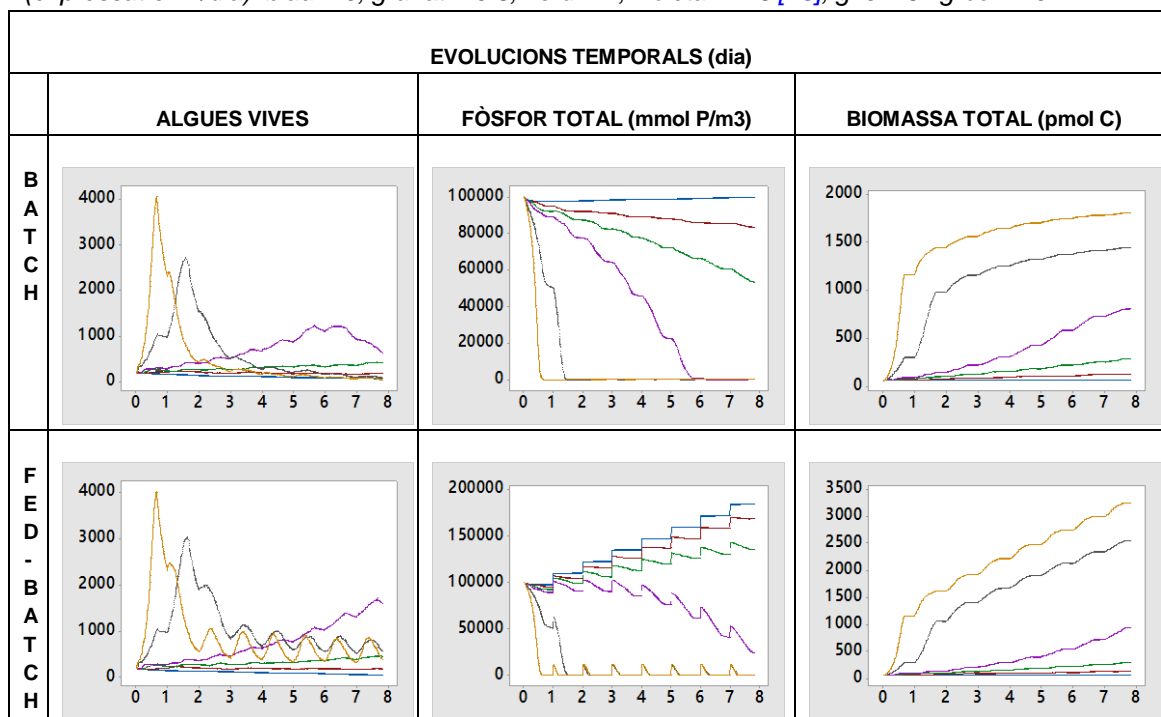
A continuació es presenta un anàlisi de l'evolució de la dinàmica de poblacions del model SimThalasLogo en els tres models d'operació o maneig de cultiu presentats anteriorment ("batch", "fed-batch" i "continuous") quan es fan variar els valors de certs paràmetres. Els valors de referència utilitzats en les simulacions anteriors, ara seran modificats, considerant valors majors i valors menors, per tal de poder examinar els canvis que mostra la dinàmica de la població d'algues en front d'aquests nous valors. És important identificar els motius o possibles explicacions de les causes que provoquen canvis notables en l'evolució poblacional, si es que aquests canvis succeeixen. Al mateix temps, s'intenta donar una explicació factible que assimili a la realitat el per què d'aquests canvis.

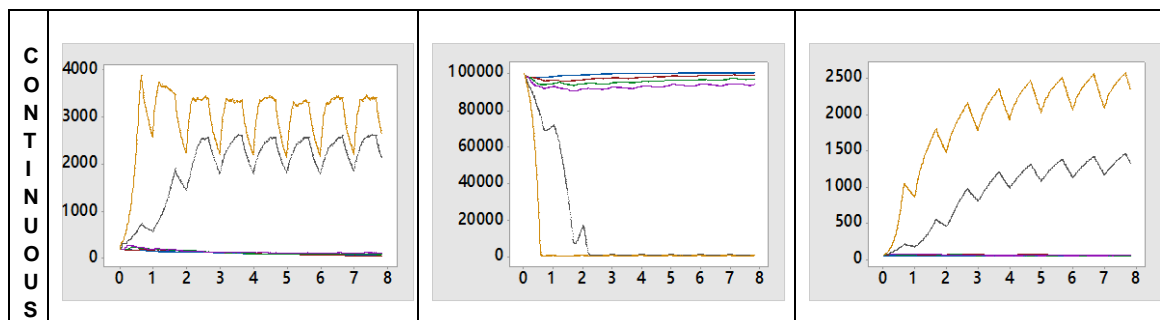
L'anàlisi s'ha realitzat sobre l'evolució del nombre d'algues vives, la biomassa total i la concentració total de fòsfor.

#### Índex fotosintètic màxim

A la Taula 4 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el paràmetre índex fotosintètic màxim ("yieldPmax").

*Taula 4: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de l'índex fotosintètic màxim (expressat en 1/dia): blau = 0, granat = 0.5, verd = 1, violeta = 1.6 [18], gris = 5 i groc = 10.*





En aquestes gràfiques es pot veure que un augment del valor de l'índex fotosintètic màxim induïx una activitat fotosintètica més elevada, permetent a les algues obtenir més energia a partir de la ingestió de fòsfor i, per tant, aconseguir una taxa de creixement i reproducció més elevada. Com que s'obté un nombre de descendents més gran en el mateix període de temps, la biomassa presenta una evolució igualment ràpida, obtenint-se un rendiment molt més elevat en el mateix interval de temps.

Per contra, aquest elevat valor de l'índex fotosintètic màxim produeix una davallada molt acusada de la concentració total de fòsfor en un període curt de temps, la qual cosa comporta un esgotament prematur del cultiu. Aquest fet condiciona haver de renovar el cultiu amb més freqüència que si hi ha un valor més baix de l'índex fotosintètic màxim. Realment, però, no és possible modificar aquest paràmetre biològic amb la mateixa facilitat que en el model.

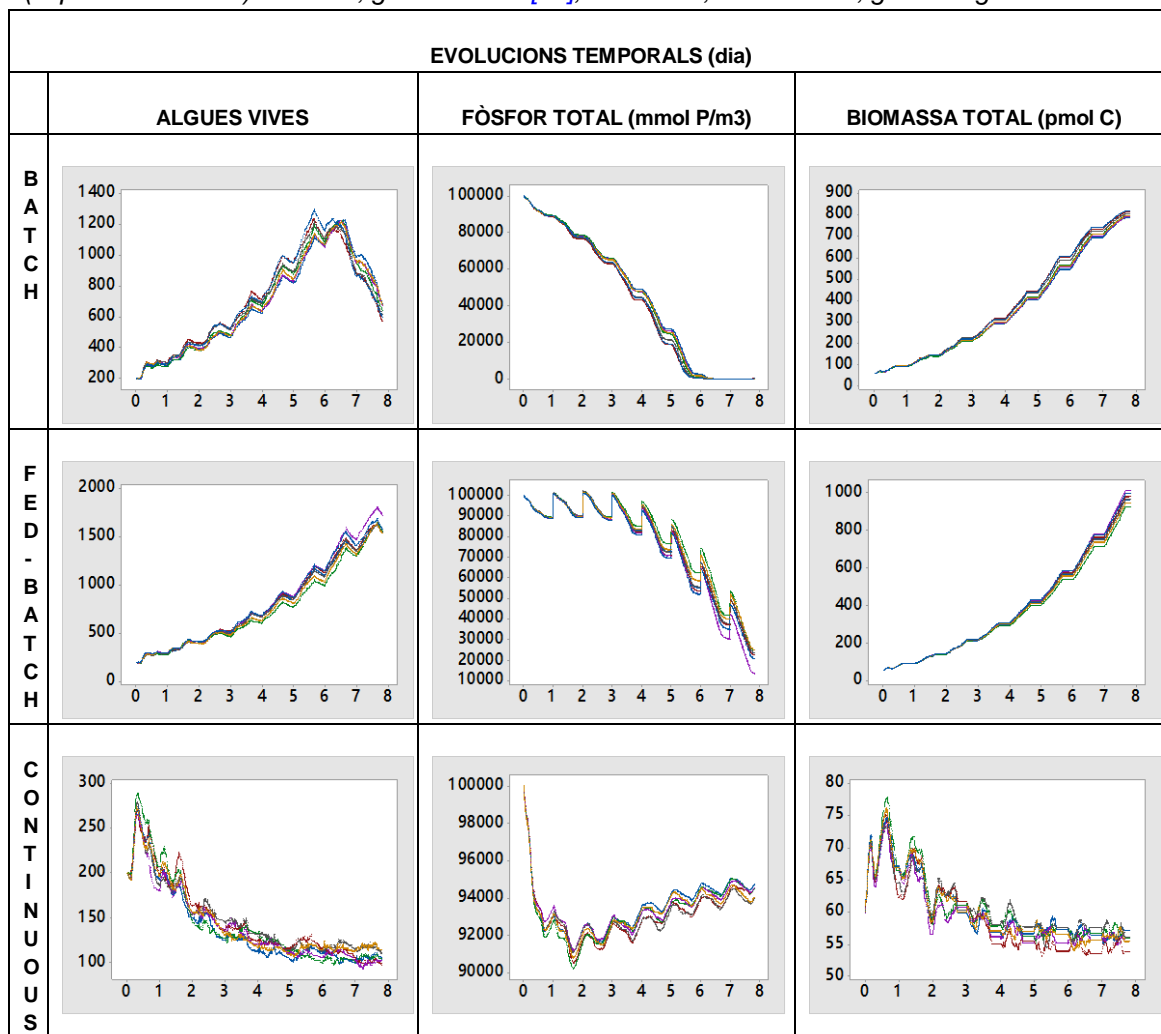
En el mode "Fed-Batch", la concentració de fòsfor presenta una evolució similar, però per valors molt baixos de l'índex fotosintètic, es dona un augment progressiu del nombre d'individus vius ja que les algues no poden realitzar la fotosíntesi amb valors de l'índex molt baixos, que impedeixen la captació de nutrients. Els graons que s'observen en les gràfiques representen les introduccions periòdiques de medi fresc. En qualsevol altre cas, la duració del cultiu es perllonga ja que s'introdueix de forma periòdica més quantitat de fòsfor.

En el cas d'un bioreactor en mode "continuous", donat que el cultiu mai s'esgota, el que més interessa és determinar els valors de les tres variables rellevants en l'estat estacionari, quan la població d'algues vives es manté en equilibri amb la concentració de nutrient. En el cas de l'índex fotosintètic màxim, aquests valors són majors com més gran és aquest índex. Així, mentre que, per valors molt baixos, la població d'individus a l'equilibri presenta valors molt inferiors a 500, per valors molts alts la població adquireix valors en l'entorn de 3000. Aquest mateix raonament és vàlid per la quantitat de biomassa. Per valors molt baixos de l'índex, la quantitat de biomassa s'estabilitza en nivells molt inferiors a 500 picomols de carboni, mentre que per valors molt alts de l'índex, la quantitat de biomassa s'estabilitza entre 2000 i 2500 picomols de carboni. En el cas del fòsfor, la concentració en l'estat estacionari depèn, a més del valor de l'índex, del valor del reservori de fòsfor a l'interior del reactor i de la proporció de medi que s'extreu constantment, assolint-se un nivell menor com més alt és el valor de l'índex, més proper és el valor del reservori a la quantitat inicialment present en el reactor i més alta és la proporció de medi extret. Tot i així, si el valor de l'índex és massa alt, les algues ingereixen una quantitat molt gran de fòsfor que no permet mantenir el valor del reservori inicialment establert (sempre que la proporció de medi extret sigui baixa), la qual cosa provoca que les reserves de nutrient siguin sempre molt baixes a l'interior del sistema.

Índex de respiració màxim

A la Taula 5 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar l'índex de respiració màxim ("yieldRmax").

Taula 5: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de l'índex de respiració màxim (expressat en 1/dia): blau = 0, granat = 0.15 [18], verd = 0.7, violeta = 1.5, gris = 3 i groc = 5.



En aquest cas, l'índex de respiració no influeix en l'evolució del nombre d'algues vives a diferència de la gran influència que presenta l'índex fotosintètic. La variabilitat que s'observa en les corbes pot ésser ocasionada per fenòmens d'aleatorietat entre els diversos experiments.

La concentració de fòsfor no presenta una variació significant amb el pas del temps ja que l'índex de respiració no influeix en la presa de nutrients (com si fa la fotosíntesi) i, per tant, la variació que

es pot veure a la gràfica pot ésser ocasionada per fenòmens d'aleatorietat que es donen en els diferents experiments.

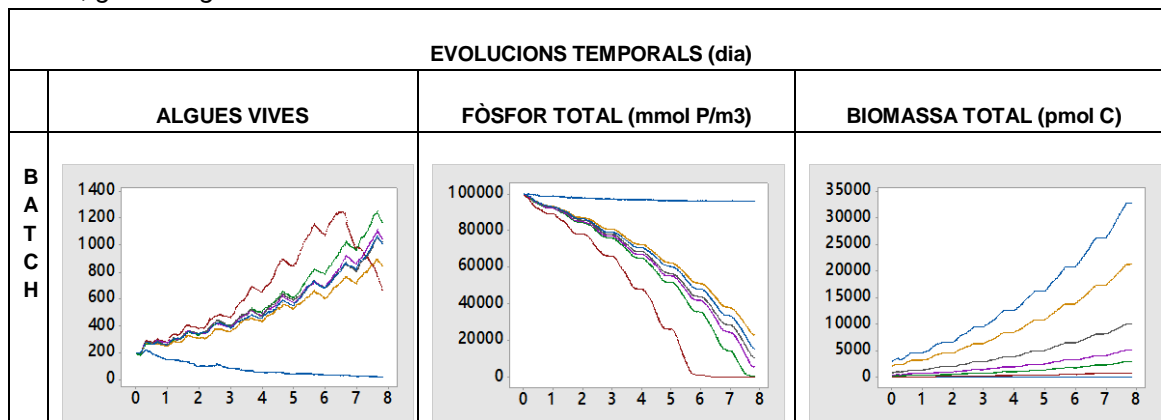
Respecte de la quantitat de biomassa, tampoc s'observa una variació massa rellevant donat que, en realitat, no s'està modificant cap variable que impliqui la reproducció cel·lular, per la qual cosa la variació que presenta en aquest valor és pràcticament inexistent o irrellevant sigui quin sigui el valor de l'índex de respiració. Com en el cas de la concentració de fòsfor, la diferència entre les corbes es deu a fenòmens d'aleatorietat igual que succeeix en el nombre d'algues vives.

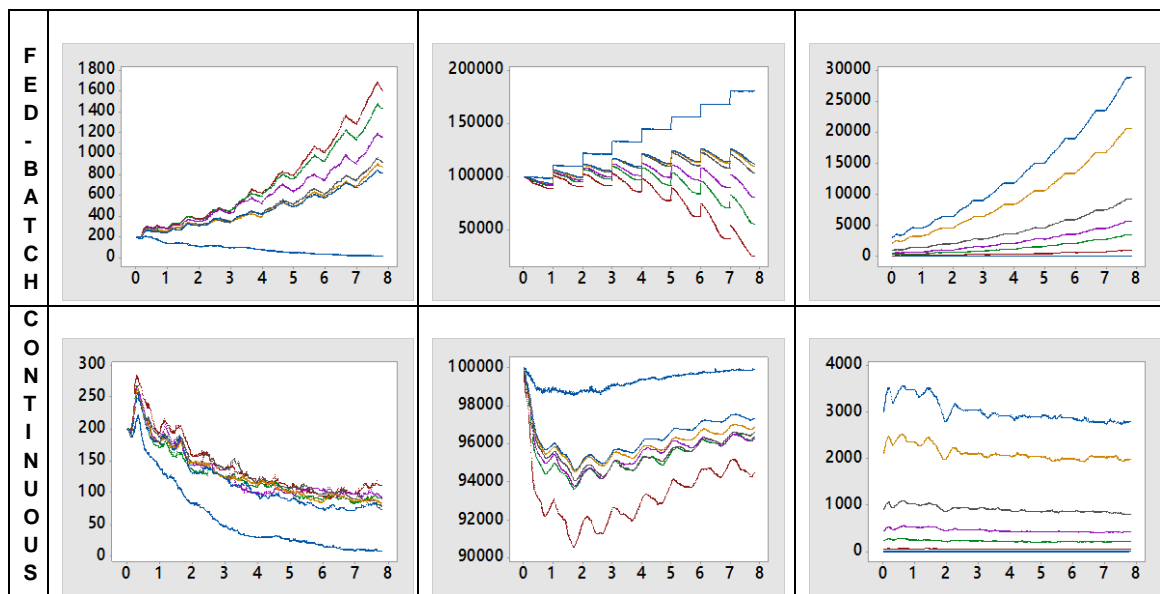
En el cas dels modes d'operació "fed-batch" i "continuous", la modificació de l'índex de respiració no comporta una influència significativa sobre l'evolució de les tres variables característiques estudiades. En el sistema continu, els valors de les tres variables en l'estat estacionari son iguals en cada cas i les variacions entre les diferents corbes representades poden deure's a fenòmens d'aleatorietat dels experiments, ja que en una població amb un nombre petit d'algues es fa més evident la variabilitat que en una població amb un gran nombre d'algues, on no la magnitud de la variabilitat no és tan rellevant.

### Massa reproductiva

A la Taula 6 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la massa mínima de supervivència ("m0").

*Taula 6: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la massa reproductiva (expressada en picomols de carboni per cèl·lula): blau = 0.01, granat = 0.2 [18], verd = 0.8, violeta = 1.5, gris = 3 i groc = 7 i cian = 10.*





Es visible que, a mesura que el valor de la massa reproductiva s'acosta a zero no és possible la reproducció. Això es deu al fet que, com més petita és la massa reproductiva, més petites han de ser les algues per poder reproduir-se, la qual cosa comporta una disminució de la superfície externa cada cop major de forma que, finalment, no és possible alimentar-se i, en conseqüència, no és possible ni el manteniment ni la reproducció.

Quan la massa reproductiva té valors molt inferiors al de referència no hi ha reproducció ni augment del nombre d'individus i, en conseqüència, no hi ha consum de nutrient ni cap procediment vital associat a les cèl·lules vives, ja que totes moren al cap de poc temps. Donat que, a l'augmentar el valor de la massa reproductiva hi ha menys reproducció, hi ha cada cop menys individus vius per consumir nutrient, per la qual cosa la concentració de fòsfor presenta un comportament invers al de les algues vives, és a dir, la quantitat de fòsfor és més gran en el sistema com més petit és el valor de la massa reproductiva.

Si la massa reproductiva és molt inferior al nivell de referència no hi ha reproducció i, novament, no hi ha cap augment de la quantitat de biomassa al no generar-se nous individus. Si el valor de la massa reproductiva augmenta, la quantitat de biomassa va augmentant també ja que, com més tard succeeix la reproducció, més massa tenen les algues presents en el reactor. Per contra, quan hi ha molta reproducció, les algues es reproduïxen amb poca massa, la qual cosa comporta un conjunt amb menys biomassa.

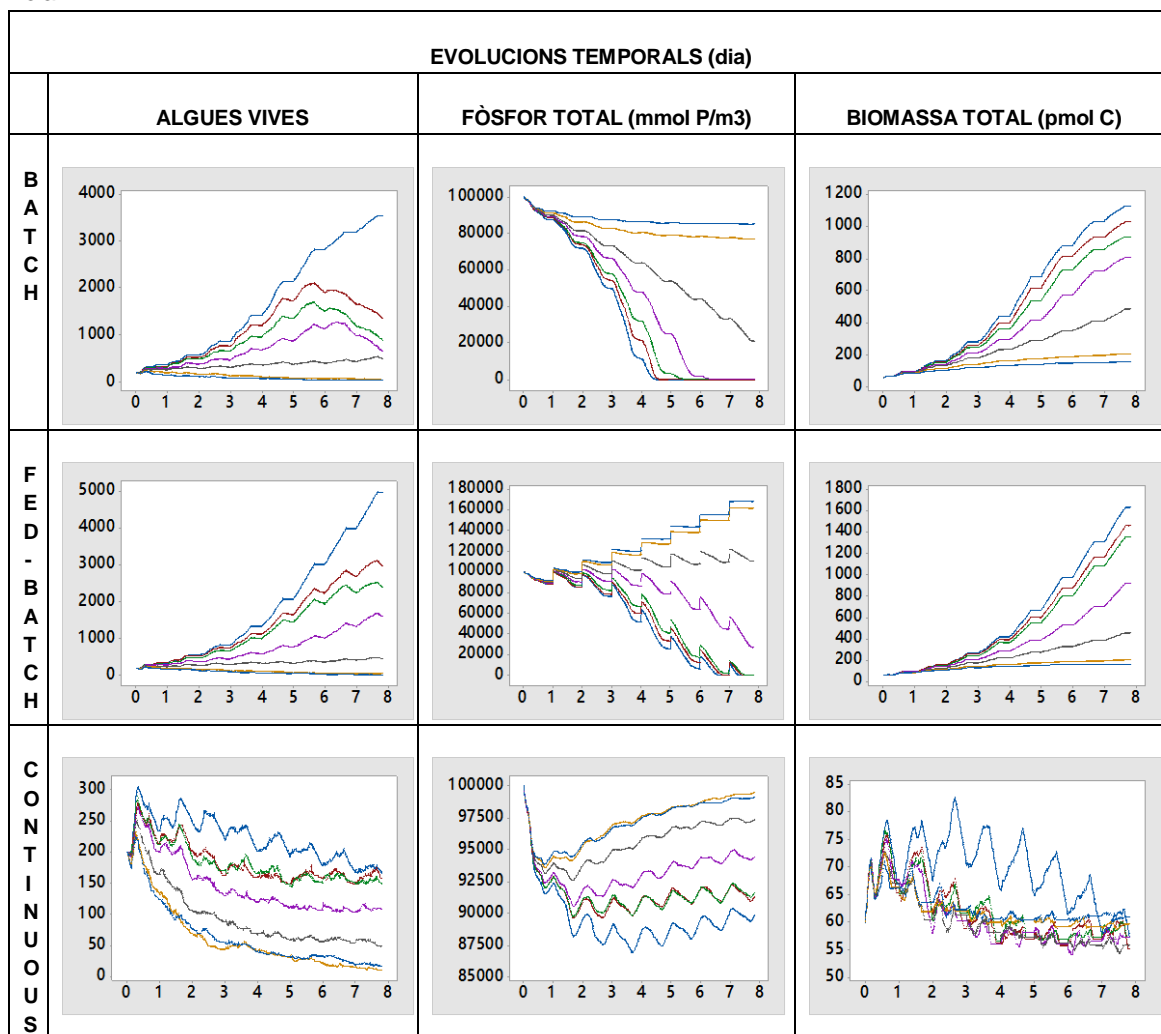
En el cas particular del reactor en mode "continuous", l'estat estacionari s'assoleix variant els valors dels paràmetres en l'esmentat estat. En el cas de les algues vives, al no existir manteniment ni creixement, no hi ha lloc per a la reproducció. El seu nombre disminueix constantment fins a arribar a ser zero, assolint-se un comportament propi d'un reactor en mode "Batch".

#### Taxa de mortalitat

A la Taula 7 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la taxa de mortalitat ("base-death-rate").



Taula 7: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la taxa de mortalitat (expressada en 1/dia): blau = 0, granat = 0.05, verd = 0.1, violeta = 0.2 [18], gris = 0.4 i groc = 0.7 i cian = 1.



La taxa de mortalitat expressa la probabilitat de morir. Si el seu valor és zero, es redueix la mortalitat de les algues per l'efecte d'aquesta variable sobre el cicle biològic, però no intervé en l'efecte de la massa i de la concentració mínima de fòsfor vital, que segueixen actuant amb normalitat. Valors molt alts d'aquesta probabilitat impliquen una mortalitat molt elevada que provoca que la població d'algues vives no pugui desenvolupar-se per manca de temps per realitzar les seves funcions vitals, i que es suma a l'efecte de la mortalitat derivat de la massa i del fòsfor mínim.

De la mateixa manera, la concentració de fòsfor experimenta una davallada més gran com menor és el valor de la taxa de mortalitat. Per valors molt alts d'aquesta taxa, la ràpida mortalitat de les cèl·lules no permet el consum de nutrient, la concentració del qual disminueix més lentament com major és el valor de la taxa.

Per la seva part, la quantitat de biomassa presenta el mateix comportament ja que, com que la mortalitat es redueix, les cèl·lules es reproduïxen constantment i generen nous individus la massa dels quals és molt més gran. Si aquesta taxa té un valor elevat, les cèl·lules moren molt abans i no es genera una població d'algues vives que pugui mantenir el cultiu en funcionament

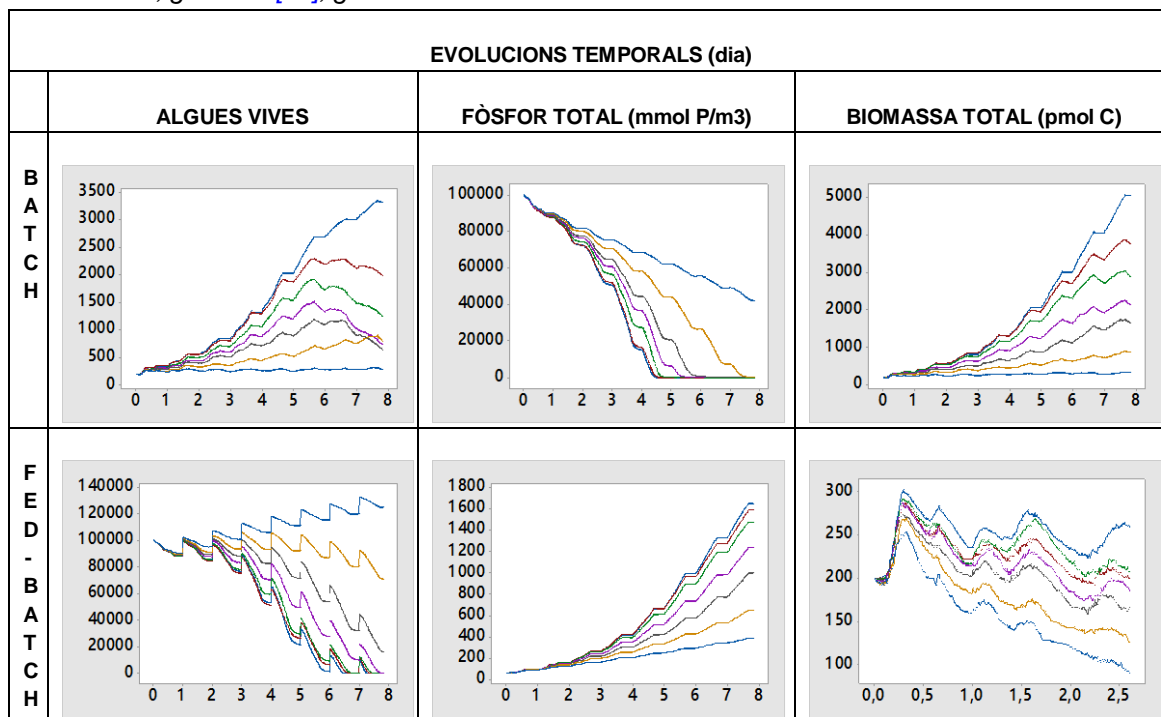
En el cas del reactor en mode "fed-batch", valors molt alts de la taxa de mortalitat tenen el mateix efecte en la població d'algues que en el cas del mode "batch", però la concentració de fòsfor augmenta constantment ja que no es consumeix nutrient al estar totes les algues mortes. Tot i així, la concentració de nutrient disminueix més ràpidament com menor és el valor de la taxa per la mateixa raó explicada al segon paràgraf.

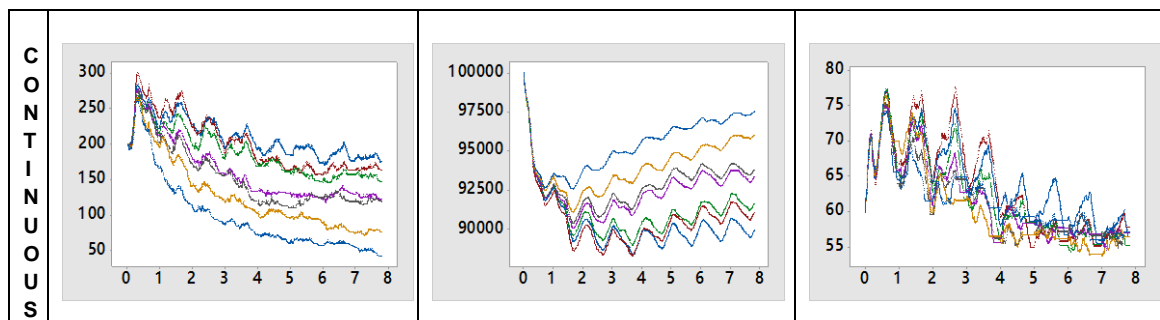
Aquest paràmetre influeix en els valors dels tres paràmetres rellevants en l'estat estacionari. En el cas de les algues vives i la biomassa, l'augment de la taxa de mortalitat provoca el descens d'aquestes variables, mentre que, en el cas de la concentració de fòsfor, l'augment de la taxa produeix un augment d'aquesta variable en l'estat d'equilibri.

### Concentració interna de fòsfor vital

A la Taula 8 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la concentració interna de fòsfor vital ("qD").

*Taula 8: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la concentració mínima de fòsfor vital (expressada en milimols de fòsfor per mol de carboni): blau = 0, granat = 2, verd = 5, violeta = 10, gris = 16 [18], groc = 25 i cian = 35.*





Si el valor de la concentració mínima de fòsfor vital és molt baix, les cèl·lules no tenen cap limitació vital a part de la taxa de mortalitat i l'efecte de la massa reproductiva, la qual cosa vol dir que poden sobreviure sense nutrient intracel·lular i realitzar les seves funcions vitals sense patir els efectes que provoca una limitació inferior de nutrient, per la qual cosa la població d'algues experimenta un augment constant, el valor màxim del qual és més alt com menor és el valor de la concentració mínima ja que una limitació inferior de nutrient implica que hi ha molt més marge de nutrició sense haver d'arribar a un mínim. Quan aquest paràmetre té un valor cada cop més elevat, les cèl·lules necessiten cada vegada més quantitat de nutrient degut a l'augment de les necessitats mínimes per sobreviure. Això provoca que cada cop més algues no aconseguixin arribar a la concentració mínima abans de finalitzar el seu cicle i, per tant, morin sense reproduir-se.

Respecte de la concentració de fòsfor, el comportament és el mateix que en el cas de la taxa de mortalitat, presentant una disminució cada cop més imperceptible com més gran és el valor de la concentració mínima vital.

La quantitat de biomassa presenta el mateix comportament que en el cas de la taxa de mortalitat, però de forma menys acusada, presentant una evolució cada cop més insignificant com més gran és la concentració mínima vital.

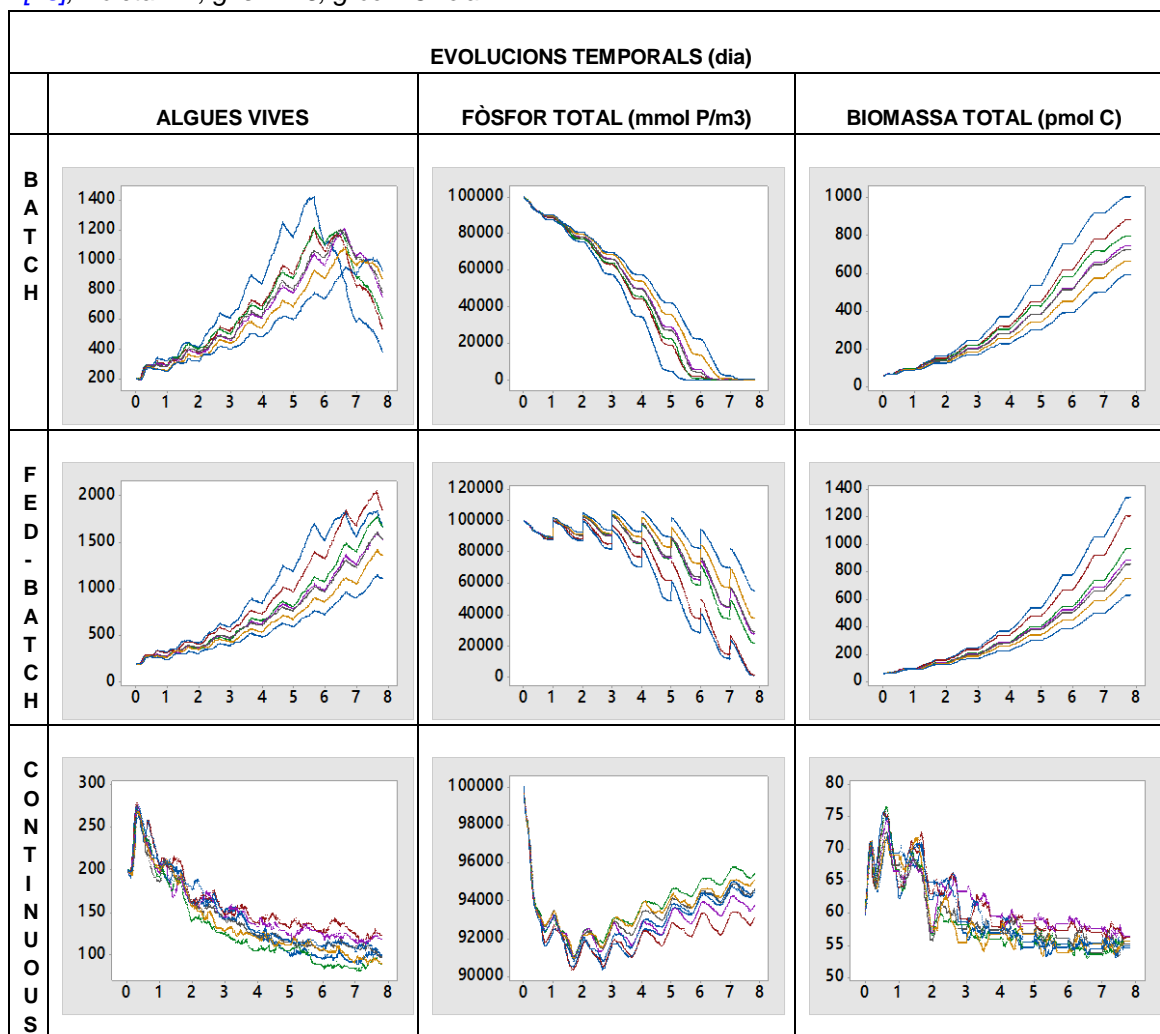
En el cas del reactor en mode "fed-batch", passa el mateix que en el cas de la taxa de mortalitat, ja que, a valors molt alts de la concentració mínima vital, les algues moren abans i, per tant, no es consumeix el fòsfor necessari per mantenir un equilibri.

Respecte del mode "continuous", aquest paràmetre no influeix en el temps necessari per assolir l'estat estacionari, però sí que presenta una gran influència en els valors dels tres paràmetres estudiats en l'esmentat estat, sent menors com major és el valor de la concentració mínima vital.

#### Concentració inicial de fòsfor individual

A la Taula 9 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la concentració inicial de fòsfor individual ("q0P").

Taula 9: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la concentració inicial de fòsfor (expressada en milimols de fòsfor per mol de carboni): blau = 0, granat = 0.5, verd = 1.52 [18], violeta = 2, gris = 2.5, groc = 3 i cian = 4.



La concentració inicial de fòsfor intracel·lular presenta una modificació en els processos de nutrició i fotosíntesi de les cèl·lules que, al començar la simulació, han d'ingerir menys quantitat de nutrient com més gran és el valor de la concentració inicial. Això permet deduir que, a l'instant inicial, les algues disposen d'una generosa quantitat de recursos per començar ràpidament la reproducció sense iniciar la presa de nutrients al començar la simulació, la qual cosa comporta un augment més ràpid del nombre d'algues vives. En cas contrari (es a dir, si la concentració inicial és baixa) les algues han d'ingerir nutrient desde el primer moment per arribar a les condicions reproductives, produint un retard en l'inici de la reproducció i, en conseqüència, un augment més lent del nombre d'individus. Aquest valor duu incorporat un component d'aleatorietat en forma de distribució normal que permet que, a cada pas de programa, el seu valor experimenti un lleuger canvi en funció del que s'hagi fixat a l'*slider* de la interfície del simulador.

Passa el mateix amb la concentració de fòsfor, la disminució de la qual és més lenta com més gran és el valor de la concentració intracel·lular inicial degut, com en el cas del nombre d'algues vives, a la menor necessitat inicial que tenen les algues. Aquest fet pot veure's en les gràfiques dels modes "batch" i "fed-batch" de la Taula 9.

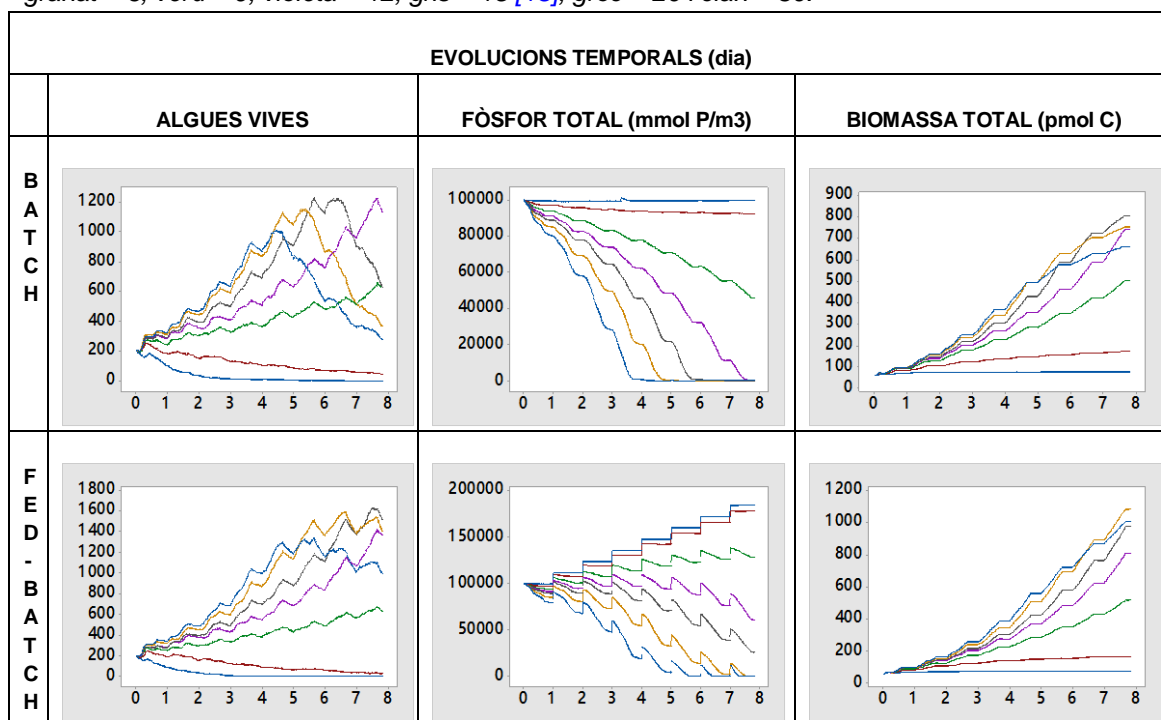
Degut a aquest motiu, la concentració de biomassa experimenta un augment cada cop més lent com més gran és el valor de la concentració intracel·lular inicial.

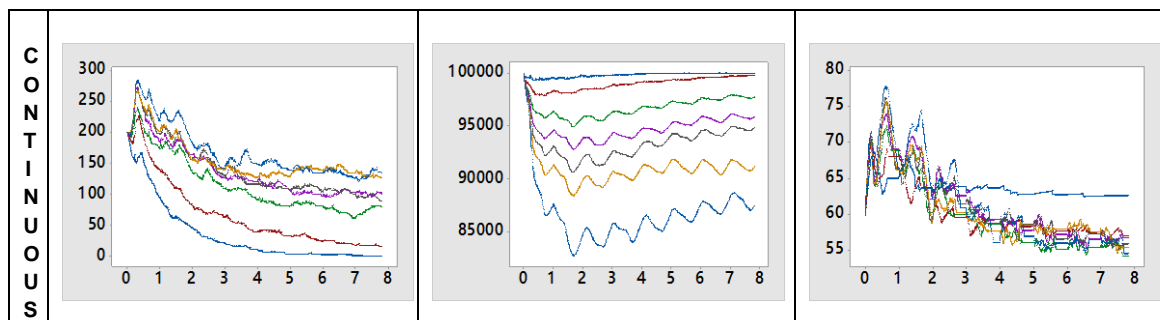
Tant en mode "fed-batch" com en el mode "continuous", el comportament de les tres variables estudiades és el mateix. En el cas concret del mode "continuous", un cop més, la variació del valor de la concentració intracel·lular inicial influeix en els valors d'aquestes variables en l'estat estacionari, sent majors com major és el valor de la concentració intracel·lular inicial.

#### Concentració de fòsfor màxima admissible per individu

A la Taula 10 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la concentració de fòsfor màxima admissible per individu ("q<sub>maxP</sub>").

*Taula 10: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la concentració de fòsfor màxima admissible per individu (expressada en milimols de fòsfor per mol de carboni): blau = 4, granat = 6, verd = 9, violeta = 12, gris = 15 [18], groc = 20 i cian = 30.*





A mesura que el valor de la concentració màxima admissible augmenta, les algues tenen més espai intern per emmagatzemar el nutrient, per la qual cosa cobreixen les seves necessitats vitals amb més facilitat i poden reproduir-se cada cop més ràpid, la qual cosa afavoreix un augment ràpid del nombre d'individus. Valors molt baixos d'aquest paràmetre presenten un efecte contrari al dificultar la ingestió d'una quantitat suficient de fòsfor per poder realitzar el procés de reproducció i, per tant, influint negativament en el nombre d'individus. Per solucionar aquest problema es pot intentar reduir el valor de la massa mínima de supervivència ( $m_0$ ) per tal que el seu valor quedi per sota de la quantitat màxima de fòsfor admissible, la qual cosa permet anul·lar l'efecte de  $m_0$ .

El comportament de la concentració de fòsfor és semblant, però en aquest cas, aquesta variable presenta una disminució cada cop més evident degut a la capacitat d'emmagatzematge de les cèl·lules. A mesura que aquesta capacitat d'emmagatzematge augmenta, la ingestió de nutrient és cada cop major, i el fòsfor s'esgota cada cop abans.

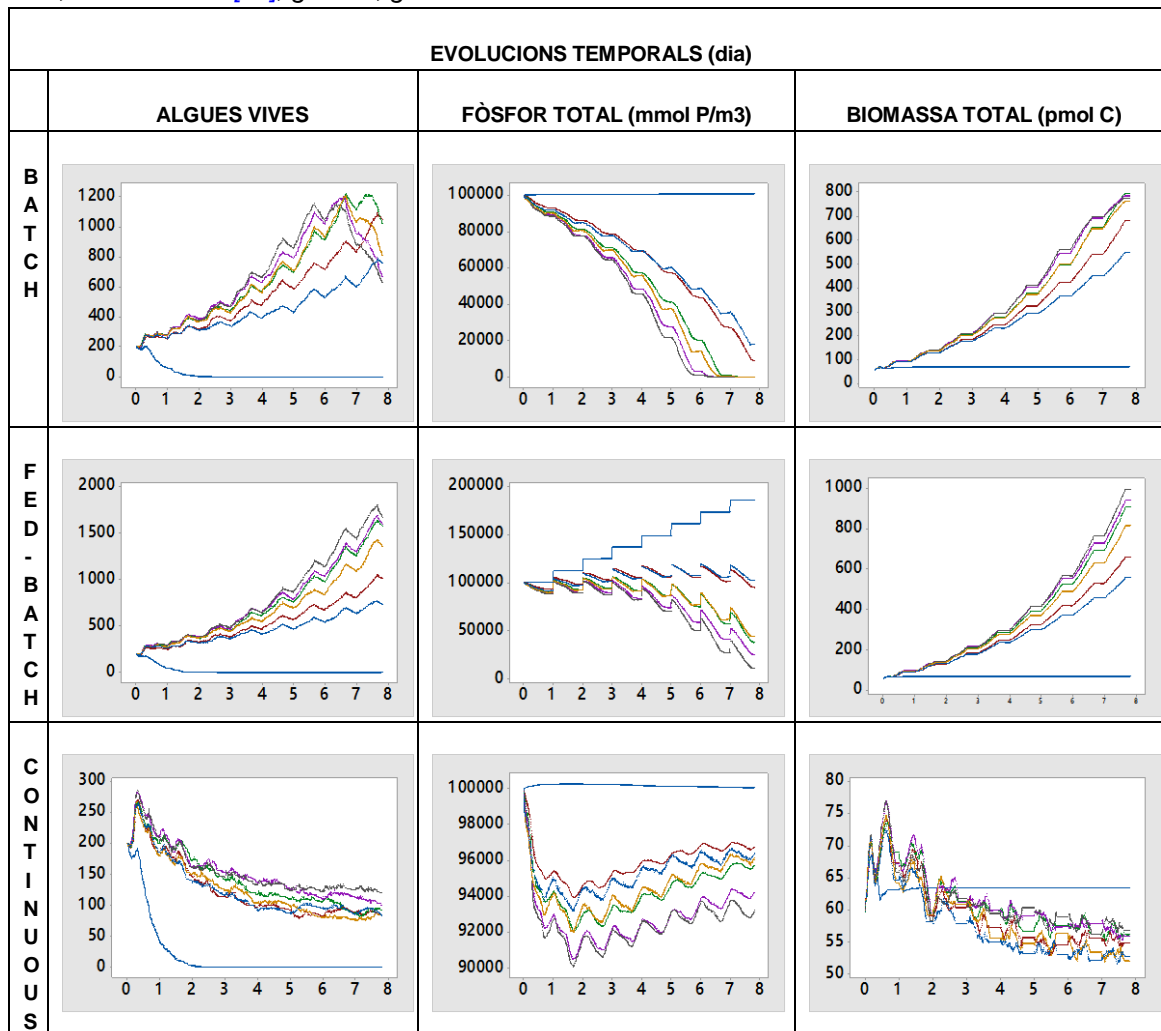
Aquest mateix raonament és vàlid per la quantitat de biomassa, l'augment de la qual és cada cop més evident com més gran és la concentració de fòsfor màxima admissible.

En el cas dels reactors en mode "fed-batch" i "continuous", la dinàmica dels tres paràmetres és la mateixa, però en el primer cas, per valors de concentració màxima inferiors al de referència, la concentració de fòsfor presenta un augment cada cop més gran com més s'apropa la màxima admissible a zero. En el mode "continuous" aquesta variable influeix en els valors dels tres paràmetres estudiats en l'equilibri. Cal destacar que, en el mode "continuous", les variacions en el nombre d'individus i en la concentració de fòsfor son influenciades per els fluxos d'entrada (quan s'introdueix nutrient) i sortida (quan extreuen algues vives i nutrient sense consumir).

#### Índex d'ingestió de nutrients

A la Taula 11 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de l'índex d'ingestió de nutrients ("uptake-P").

Taula 11: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de l'índex d'ingestió de nutrients (expressada en femtomols per micròmetre quadrat i dia): blau = 0, granat = 0.8, verd = 1.5, violeta = 2.64 [18], gris = 4, groc = 7 i cian = 10.



Quan el valor de l'índex de nutrició és igual a zero no és possible la presa de nutrients però si que ho és la reproducció (ja que tenen una reserva interna de nutrients per poder sobreviure), per la qual cosa el nombre d'algues vives augmenta durant un període molt curt de temps per, seguidament, disminuir abruptament fins arribar a la mort de la població. A mesura que augmenta el valor de l'índex, les algues adquireixen més capacitat de presa de nutrients, la qual cosa propicia un augment cada cop més considerable del nombre d'algues vives.

La concentració de fòsfor varia de la mateixa manera que en el cas de les algues vives, però en sentit invers: a mesura que l'índex de nutrició augmenta, la capacitat cada cop gran de les algues d'alimentar-se esgota cada cop més ràpid la quantitat de nutrient disponible.

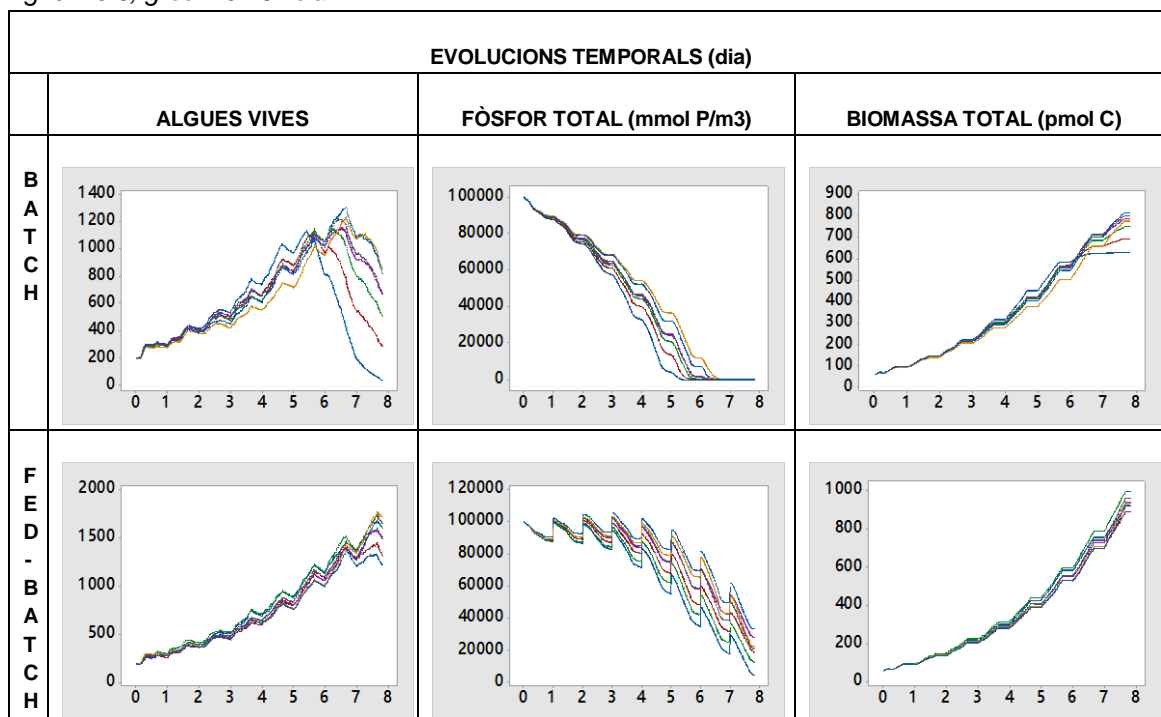
La quantitat de biomassa segueix el mateix camí que les algues vives: augmenta cada cop amb més evidència com major és el valor de l'índex de nutrició, però no augmenta si aquest índex és igual a zero ja que no hi ha nutrició i, en conseqüència, reproducció (exceptuant els primers instants de temps, en els que les reserves nutritives permeten els processos vitals).

Tant en el mode "fed-batch" com en el "continuous", la dinàmica de població segueix els mateixos canvis. En el mode "fed-batch", al no haver nutrició, no hi ha consum de fòsfor, per la qual cosa la seva concentració augmenta contínuament a mesura que s'introdueix medi fresc. En el mode "continuous", aquest índex influeix en els valors dels tres paràmetres estudiats en l'equilibri, presentant, a més a més, la particularitat de que el nombre d'individus vius roman invariable degut a la impossibilitat d'alimentar-se (quan l'índex té valor zero).

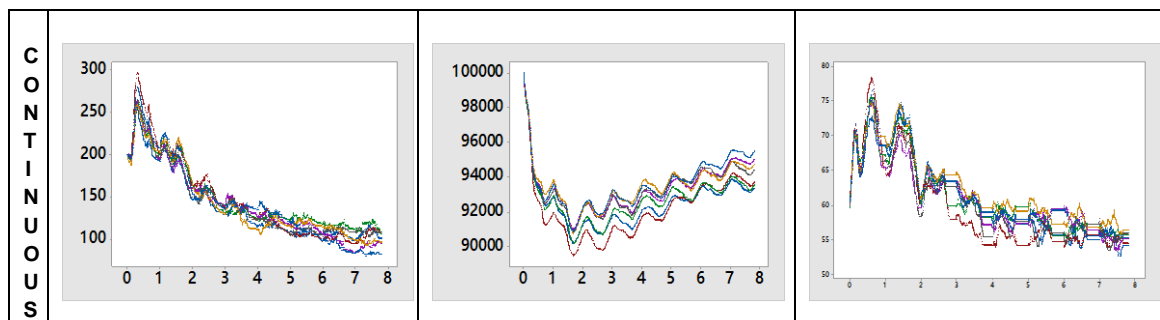
### Constant d'excreció

A la Taula 12 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la constant d'excreció (kw).

*Taula 12: Representacions gràfiques elaborades mitjançant el software matemàtic MiniTab de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la constant d'excreció (expressada en 1/dia): blau = 0, granat = 0.1, verd = 0.25, violeta = 0.5, gris = 0.6, groc = 0.75 i cian = 1.*







Quan la constant d'excreció té valor zero, les algues vives no expulsen fòsfor a l'exterior, per la qual cosa poden aprofitar molt més nutrient per realitzar funcions vitals. Així, el nombre d'algues vives augmenta molt ràpidament degut a que el que s'hauria d'expulsar és disponible per realitzar el procés reproductiu, obtenint-se més descendents en poc temps que, al seu torn, assolixen ràpidament la massa necessària per reproduir-se ja que tampoc expulsen nutrient. Aquest fet però, esgota la concentració de fòsfor amb molta rapidesa ja que, al no expulsar nutrient, depenen totalment del que es troba a l'exterior, tot i que la ingestió s'atura quan s'arriba al valor màxim de fòsfor admissible fixat a l'*slider* corresponent. Aquest valor, però, pot augmentar-se per permetre més ingestió de fòsfor. A mesura que la constant d'excreció augmenta, la quantitat de fòsfor expulsat també augmenta, per la qual cosa les algues perden una part de nutrient per excreció disminuint el que és disponible per reproduir-se i, en conseqüència, l'evolució del nombre d'algues vives és més lenta.

La quantitat de fòsfor presenta una disminució més acusada per valors baixos de la constant d'excreció, ja que el fòsfor que s'ingereix no és substituït per el que s'ha excretat. La velocitat de la disminució depèn, tot i això, del valor màxim de fòsfor admissible fixat a l'*slider* corresponent: és més elevada quan aquest paràmetre té valors alts i és més baixa si la concentració màxima admissible és baixa. Per contra, valors elevats d'aquesta constant afavoreixen una excreció de nutrient elevada, sent menys acusada la disminució de la concentració de fòsfor.

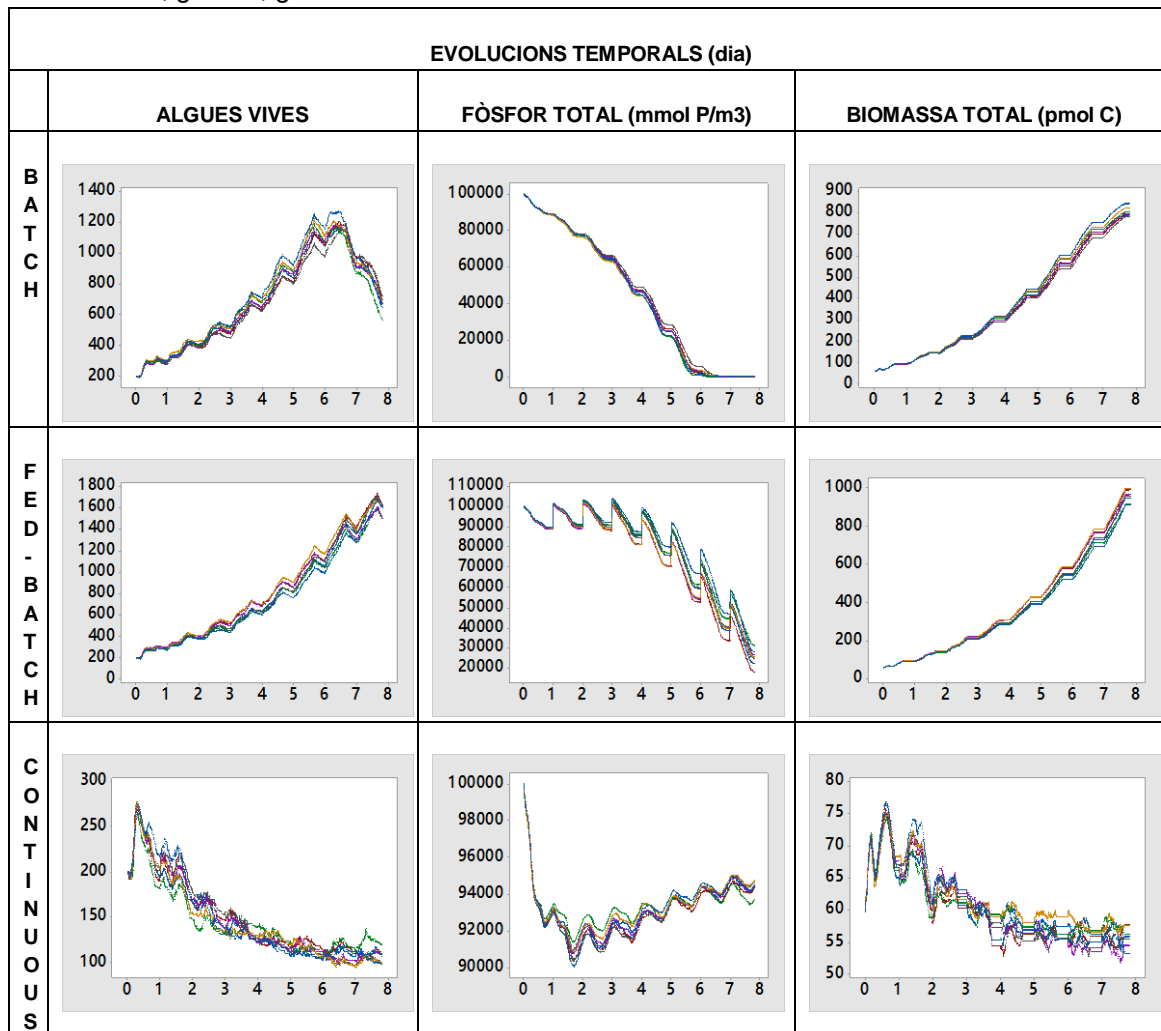
La quantitat de biomassa experimenta un augment notable per valors baixos de la constant d'excreció degut a que s'utilitza molta més quantitat de nutrient per reproduir-se i augmentar la massa, la qual cosa genera més biomassa algal en menys temps que per valors alts de la constant.

En el mode "fed-batch", la concentració de fòsfor segueix una disminució molt acusada per valors baixos de la constant pel motiu esmentat anteriorment, tot i que el cultiu dura més temps ja que s'afegeix medi fresc periòdicament però en quantitat insuficient per mantenir l'equilibri. Per contra, valors molt alts de la constant d'excreció, juntament amb l'aportació periòdica de medi fresc, provoquen que la concentració de fòsfor augmenti considerablement i es mantingui en valors elevats durant més temps abans de disminuir per esgotament del medi i la presència d'algues mortes. En el mode "continuous", de nou, el valor de la constant d'excreció provoca una diferència basant acusada en els valors dels paràmetres estudiats en l'estat estacionari.

### Constant de Michaelis-Menten

A la Taula 13 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la constant de Michaelis-Menten ( $k_m$ ).

Taula 13: Representacions gràfiques de l'evolució temporal tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en milimols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent de la constant de Michaelis-Menten (expressada en milimols de fòsfor per metre cúbic): blau = 0, granat = 0.3, verd = 0.6, violeta = 1.5, gris = 3, groc = 7 i cian = 10.

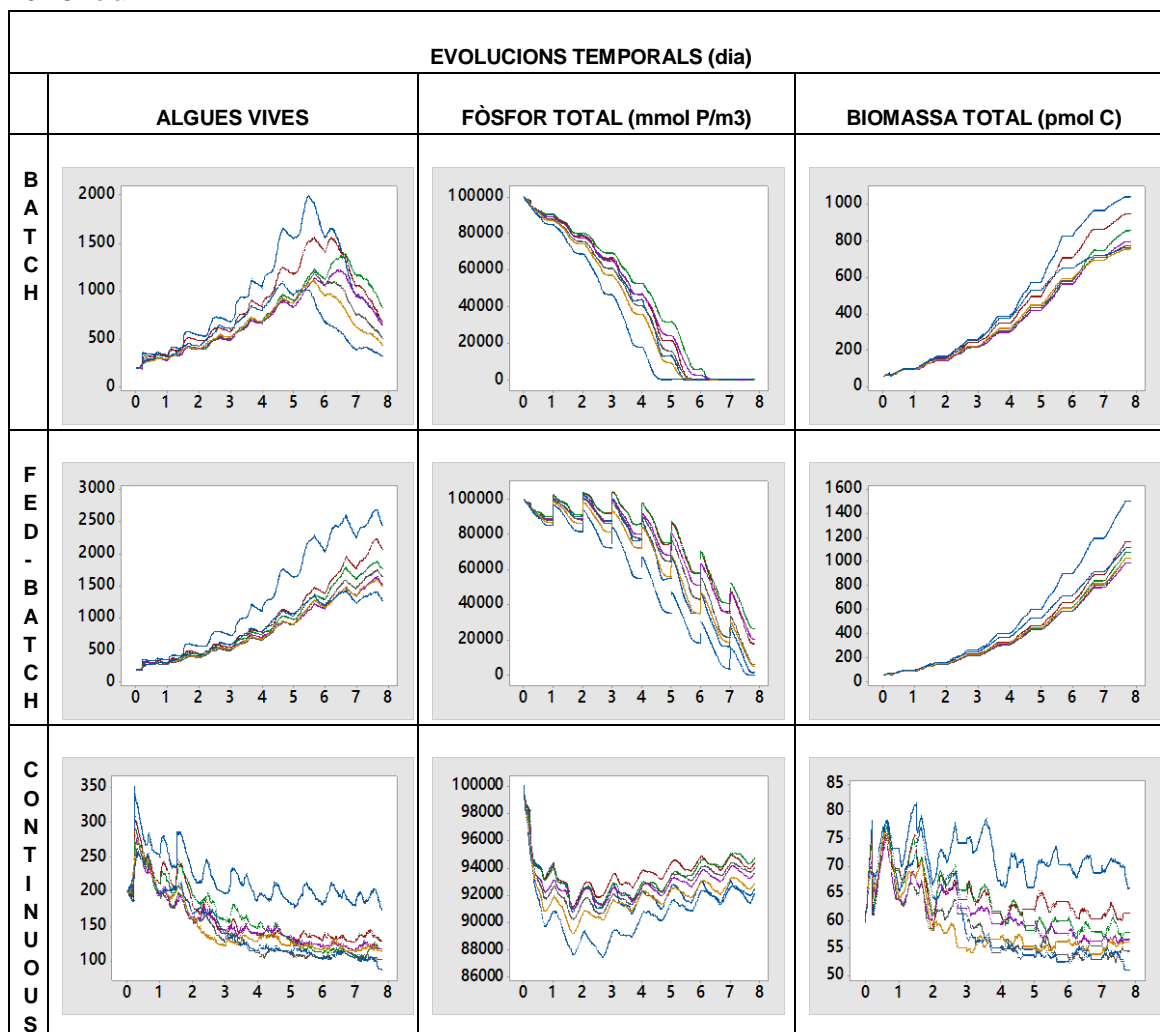


En aquest cas, aquest paràmetre no presenta cap influència destacable sobre cap dels tres paràmetres estudiats en cap mode d'operació.

#### Coeficient de variació

A la Taula 14 es mostren imatges de les representacions gràfiques escollides de tres variables rellevants del sistema en funció del temps en els tres modes d'operació implementats fent variar el valor de la constant del coeficient de variació (CV).

Taula 14: Representacions gràfiques de l'evolució temporal de tres variables rellevants (evolució del nombre d'algues, de la concentració total de fòsfor en mil·limols de fòsfor per metre cúbic i de la quantitat de biomassa en picomols de carboni) en funció del temps (expressat en dies) en els tres modes d'operació possibles. Cada línia representa un valor diferent del coeficient de variació (expressat en tant per u): blau = 0, granat = 0.15, verd = 0.25, violeta = 0.5 [18], gris = 0.65, groc = 0.75 i cian = 1.



Com es pot veure a la taula anterior, el coeficient de variació presenta una influència considerable en el canvi de les tres variables rellevants estudiades. La missió d'aquest paràmetre consisteix en introduir aleatorietat en l'assignació dels valors inicials de cada variable relativa a les algues, sent aquesta variabilitat major com més s'acosta a u el valor del coeficient. Per contra, valors propers a zero indiquen un component d'aleatorietat inexistent o insignificant, la qual cosa no afecta a la resta de components d'atzar implementats en el simulador (com les distribucions normals).

Es difícil valorar de quina forma influeix el valor del coeficient de variació en el canvi de les evolucions temporals anteriorment il·lustrades ja que no li pot ser assignada cap funció biològica, tenint una funció estrictament numèrica que afecta a tots els processos biològics del simulador elaborat. El coeficient de variació és una manera de representar el grau de variabilitat que s'assumeix en l'execució de les accions individuals o en l'assignació de les característiques

individuals, considerant que en la població d'essers vius sempre hi ha una certa heterogeneïtat. Ni els individus son exactament iguals entre ells ni actuen exactament igual en cada moment. Una altra possible explicació per mostrar els resultats a partir de valors grans de coeficients de variació podria ser relacionar aquest canvi de comportament o caracterització amb un percentatge o probabilitat de mutació o alt rasió genètica que provoca canvis importants en les funcions vitals..

Aquest raonament, però, es mostra únicament amb finalitats conceptuals, ja que no ha estat possible trobar referències bibliogràfiques on es descriguin les condicions ideals per cadascuna de les variables implementades i estudiades.

Per entendre la variabilitat que representa e introdueix aquest paràmetre també és molt útil la Figura 29 que mostra diferents rèpliques o repeticions d'un experiment de simulació.

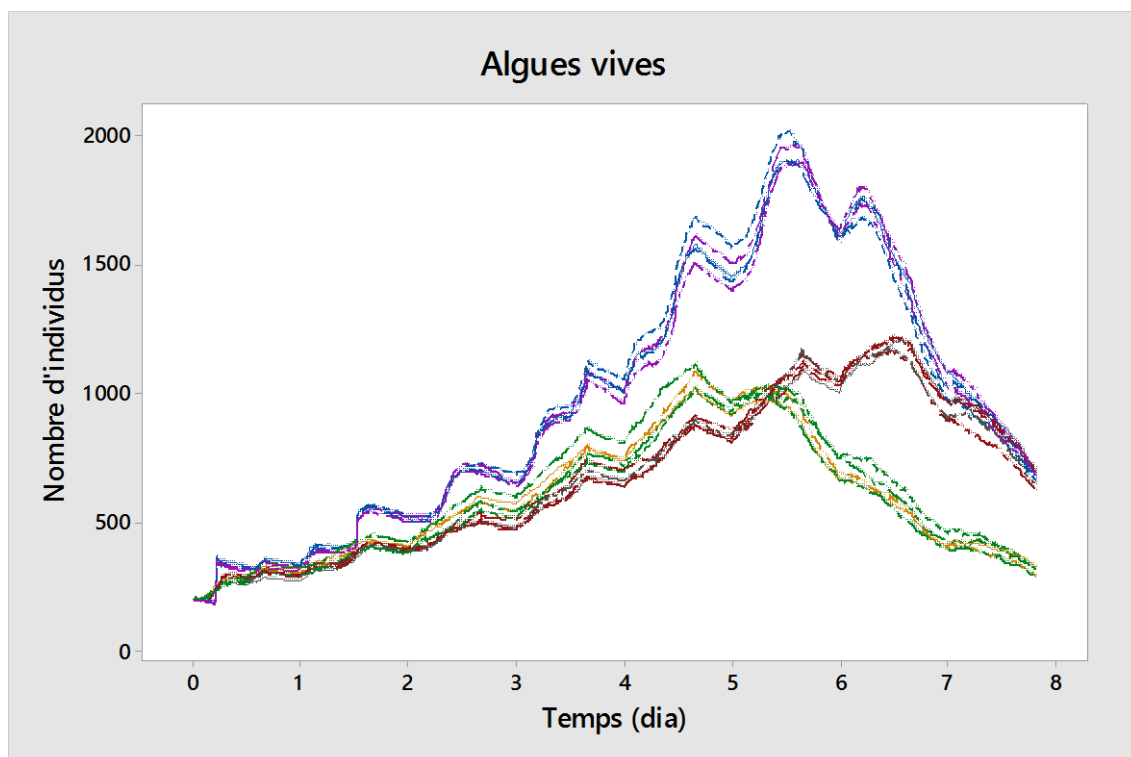


Figura 29: Representació gràfica de l'evolució temporal del nombre d'algues vives en un bioreactor en mode "batch". Els grups de línies representen valors diferents del coeficient de variació: 0 per les línies blaves i porpres, 0.5 per les vermelles i grises i 1 per les grogues i verdes. Cada grup consta de cinc línies, que representen les repeticions efectuades.

Tal com mostra la Figura 29, el coeficient de variació produeix variacions evidents entre repeticions, ja que preveu un component d'aleatorietat genèric que afecta a totes les variables i processos implicats en el simulador, per la qual cosa s'obtenen resultats més diversos que si l'atzar afecta només a una sola variable. Tot i així, els resultats en els tres casos poden compararse de forma més o menys exitosa durant els primers 1.5 dies des de l'inici de la simulació ja que totes les corbes son bastant juntes. La dispersió o canvi amb les evolucions entre diferent coeficients, però no entre rèpliques, augmenta amb el temps ja que les corbes de les evolucions temporals de les poblacions amb tenen un inici similar i es van separant a mesura que s'assoleix

el màxim de la població, mostrant un comportament diferent. No obstant, malgrat aquests canvis en el creixement i decreixement de la població, la tendència final d'esgotament de nutrient i mort de la població és comuna com correspon a un cultiu batch..

### 5.3. Consideracions generals de la simulació

En aquest projecte s'han realitzat simulacions considerant únicament factors biològics relacionats amb les algues i el medi on es cultiven. Tot i així, el simulador pot utilitzar-se (directament o amb alguna adaptació en el codi) convenientment per tal d'imposar condicions adverses que no vénen donades per les característiques del medi ambient ni de les algues, si no de problemes relacionats amb diverses variables de caire operacional (com l'equipament emprat per dur a terme els experiments). Tals problemes poden definir-se de varies maneres:

- Un error en l'equip d'il·luminació que provoqui la disminució del nombre d'hores de llum.
- Errors de preparació del medi de cultiu, donant lloc a un medi amb excés o defecte de nutrient.
- Dificultats de maneig del cultiu que desemboquen en condicions allunyades de les considerades òptimes i que, per tant, influeixen en els valors dels paràmetres biològics dels individus de l'espècie que es cultiva i que depenen, en gran part, de les condicions ambientals (índexs de fotosíntesi, respiració i mortalitat, per exemple).
- Mala dosificació de l'inòcul d'algues, de forma que s'introdueix un nombre massa gran (o petit) d'individus inicialment.
- Baix nivell de variabilitat genètica en l'inòcul inicial, població molt homogènia, la qual cosa influeix en el valor del coeficient de variació, el valor del qual és més baix com menys variabilitat genètica hi ha, com menys heterogeneïtat es pot assumir en la població.
- Per al protocol "fed-batch" poden succeir errors a l'hora de determinar la quantitat de medi de cultiu que s'ha d'anar entrant i el període de temps que transcorre entre entrades. En el cas particular del protocol "continuous", els problemes apareixen quan no s'equilibren l'extracció i la introducció de medi de cultiu, la qual cosa produeix un empobriment constant del medi (si hi ha més extracció) o un enriquiment constant (si hi ha més introducció).

El simulador SimThalasLogo treballa únicament amb un nutrient, però poden incorporar-se, mitjançant les comandes de programació adients, més nutrients com el nitrogen, el carboni i l'oxigen per complementar-lo i poder simular, de forma més acurada i factible, un medi de cultiu on es dosifiqui un ampli ventall de nutrients per tal d'assegurar bons rendiments.

Alguns d'aquests nutrients resulten tòxics en concentracions elevades, i poden afectar al rendiment del cultiu i, fins i tot, disminuir-ne la duració en casos molt excepcionals. L'oxigen és un exemple de nutrient que, a concentracions elevades, resulta mortal, la qual cosa permet la imposició d'una o varies condicions de toxicitat que afectin sensiblement el cultiu que es vol simular. La inhibició o deteriorament que pot sofrir l'alga per la presència excessiva d'un determinat element nutritiu en el medi es pot modelitzar i implementar també en el codi del simulador.

El present projecte només té present la investigació de la dinàmica poblacional de l'alga *Thalassiosira pseudonana*, assumint-se que certs paràmetres numèrics orientats a l'àmbit industrial (com el cost econòmic d'instal·lació i manteniment) no interfereixen en el simulador. Tot i així, és totalment factible la construcció d'un model basat en el que aquí s'explica per tal d'elaborar,

a partir de documents informatius de costos d'instal·lació, explotació i manteniment, una fitxa de preus destinada a la divulgació informativa sobre qualsevol projecte d'explotació basat en bioreactors. El present projecte no ha de considerar-se com una afirmació de l'evolució de la dinàmica poblacional de *Thalassiosira pseudonana*, si no com una aproximació a la forma real que pren la seva corba de creixement en unes condicions determinades. Per aquest motiu, la corba obtinguda en aquest cas pot comparar-se amb altres espècies de diatomees i altres organismes planctònics per tal de verificar els experiments virtuals aquí obtinguts. També la possibilitat de disposar de experiments propis o dades experimentals més completes a nivell individual o de població (o cultiu) per poder comparar valors observats amb valors simulats és fonamental per a seguir avançant en aquest projecte de modelització i simulació de l'alga *Thalassiosira pseudonana*.

## 6. Conclusions

Mitjançant la modelització basada en agents i la seva implementació en la plataforma de programació NetLogo ha estat possible simular com evoluciona una població d'algues diatomees de l'espècie *Thalassiosira pseudonana*, obtenint-se corbes de creixement diverses en diferents protocols de maneig experimental que s'utilitzen avui en dia per a la producció e investigació del creixement d'algues. Els resultats obtinguts per als diferents protocols de cultiu incorporats en el simulador, cultiu "batch", cultiu "fed-batch" i cultiu "continuous", reflecteixen el que indica la bibliografia, que hi ha una relació important entre els diferents elements que componen el sistema aquí simulat. S'ha mostrat com un cultiu d'algues pot ser representat per un sistema virtual en el que es poden variar les condicions i valors de determinats paràmetres a través d'una interfície "amigable" que comunica amb el codi de programació desenvolupat.

Observant les gràfiques que representen com varia el nombre d'algues vives, el fòsfor present en el cultiu i la biomassa algal total, obtingudes fent un primer anàlisi de sensibilitat unifactorial es pot confirmar que el mode d'operació triat influeix severament en els canvis que presenta la població d'algues resultant. Aquestes evolucions temporals permeten, a més a més, estimar la idoneïtat d'un sistema de cultiu en funció de l'ús que es necessiti fer-ne.

Mitjançant l'anàlisi de sensibilitat efectuat, es pot afirmar que, d'entre tots els paràmetres que intervenen en el funcionament del simulador, n'hi ha que presenten una influència molt important sobre la dinàmica poblacional de l'alga estudiada, com són l'índex fotosintètic màxim (yieldRmax), la massa mínima de supervivència (m0), la taxa de mortalitat (base-death-rate), la concentració de fòsfor mínima vital (qD), la concentració individual de fòsfor màxima admissible (qmaxP), l'índex d'ingestió de nutrients (uptake-P). En aquests casos, variacions en els valors d'aquests paràmetres provoquen canvis importants en la dinàmica poblacional, fent que disminueixi o augmenti la capacitat reproductiva de les algues i, per tant, provocant una ralentització o acceleració del comportament de la població i la seva biomassa algal total. Per contra, els paràmetres que menys influeixen en la dinàmica poblacional són l'índex de respiració màxim (yieldRmax), la constant de Michaelis-Menten (km), i la constant d'excreció (kw) que no produeixen variacions rellevants en la dinàmica poblacional.

El simulador construït està disponible per afavorir l'aprenentatge i facilitar la investigació d'aquestes poblacions d'algues en un entorn acadèmic, simulant cultius virtuals sota condicions de laboratori diverses i controlades. Al mateix temps, aquest treball és una de les bases per a futurs projectes de recerca en aquest context de control i aprofitament de l'alga *Thalassiosira pseudonana*.

## 7. Bibliografia

- [1] Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E. i Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Fitotecnía Mexicana*, 35 (1), 9-21.
- [2] Aguirre, C., Chávez, T., García, P. i Raya, J. C. (2007). El silicio en los organismos vivos. *Interciencia*, 32 (8), 504-509.
- [3] A. Gireg, Maître-Allain, T i Rheim, Y. (2002). *Atlas ilustrado del acuario*. Madrid. Susaeta.
- [4] Alverson, A. J., Bestzeri, B., Julius, M. L. i Theriot, E. C. (2011). The model marine diatom *Thalassiosira pseudonana* likely descended from a freshwater ancestor in the genus *Cyclotella*. *BMC evolutionary biology*, 11, 125.
- [5] Armbrust, E. V., Berges, J., Bowler, C., Green, B. R., Martínez, D., Putnam, N. H., Zhou, S., allen, A. E., Apt, K. E., Bechner, M., Brzezinski, M. A., Chaal, B. K., Chiovitti, A., Davis, A. K., Demarest, M. S., Detter, J. C., Glavina, T., Goodstein, D., Haidi, M. Z., Hellsten, U., Hildebrand, M., Jenkins, B. D., Jurka, J., Kapitonov, V. V., Kröger, N., Lau, W. W. Y., Lane, T. W., Larimer, F. W., Lippmeyer, J. C., Lucas, S., Medina, M., Montsant, A., Obornik, M., Parker, M. S., Palenik, B., Pazour, G. J., Richardson, P. M., Rynearson, T. A., Saito, M. A., Schwartz, D. C., Thamatrakoln, K., Valentin, K., Vardi, A., Wilkerson, F. P. i Rokhsar, D.S. (2004). *The genome of the Diatom Thalassiosira pseudonana: Ecology, Evolution and Metabolism*. Doi 10.1126/science.1101156.
- [6] Béchet, Q., Shilton, A. i Guieysse, B. (2013). Modeling the effects of Light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnology advances*, 31, 1648-1663.
- [7] Benemann, J. i Polle, J. *Photosynthetic Efficiency and Biomass Productivity of Microalgae Mass Cultures*. Recuperat de [http://algaebiomass.org/wp-content/gallery/2012-algae-biomass-summit/2010/06/T1\\_Wed\\_1030\\_JBenemann.pdf](http://algaebiomass.org/wp-content/gallery/2012-algae-biomass-summit/2010/06/T1_Wed_1030_JBenemann.pdf).
- [8] Brand, L. E., Sunda, W. G. i Guillard, R. R. L. (1983). Limitation of marine phytoplankton reproductive rates by zinc, manganese and iron. *Limnology & Oceanography*, 28 (6), 1182-1198.
- [9] Bucci, V., Nunez-Milland, D., Twining, B. S. i Hellweger, F. L. (2011). *Microscale patchiness leads to large and important intraspecific internal nutrient heterogeneity in phytoplankton*. Doi: 10.1007/s10452-011-9384-6.
- [10] Cerón Rincón, L. E. i Aristizábal Guitérrez, F. A. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14 (1), 285-295.
- [11] Contreras Mejía, M. F., Díaz Ruíz, J., Sánchez Gutiérrez, M. A. i Rendón Porfirio, J. A. (2016). *Ciclo del silicio en el mar*. Recuperat de <https://prezi.com/ysmn5k0rp3m/ciclo-del-silicio-en-el-mar/>.
- [12] Edding, M. E., Vásquez, J. A. i Tala, F. (2006). Fotosíntesis, productividad y algas marinas. *Fisiología Vegetal*, 11.

- [13] *El ciclo del nitrógeno.* (s.d.). Recuperat de <https://es.khanacademy.org/science/biology/ecology/biogeochemical-cycles/a/the-nitrogen-cycle>.
- [14] Eugenia Baca, B., Soto Urzua, L. i Pardo Ruiz, M. P. A. (2000). Fijación biológica del nitrógeno. *Elementos*, 38 (7), 43.
- [15] Fabila Martínez, L. (2013). Efecto de la diatomita en las propiedades del suelo para reducir el impacto ambiental causado por el uso de fertilizantes químicos. Recuperat de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/13930/419713.pdf?sequence=1>.
- [16] Fadel Madkour, F., El-Wahab Kamil, A. i Shafik Nasr, H. (2012). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 38, 51-57.
- [17] Font Marques, M. (2016). Models computacionals basats en l'individu per a tractar amb el creixement microbià no planctònic. Recuperat de <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/83107>.
- [18] Frederick, N. D., Berges, J. A., Twining, B. S., Nuñez-Mailland, D. i Hellweger, F. L. (2013). Use Of Agent-Based Modeling To Explore the Mechanisms of Intracellular Phosphorus Heterogeneity in Cultured Phytoplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (14), 4359-4368.
- [19] Frings, P.J., Clymans, W., Fontorbe, G., De La Rocha, C.L., Conley, D.J. (2016). The continental Si cycle and its impact on the ocean Si isotope budget. *Chemical Geology*, 425, 12-36.
- [20] García-Valdecasas Media, J.I. (2011). La simulación basada en agentes: Una nueva forma de explorar los fenómenos sociales. Doi: 10.5477/cis/reis.136.91.
- [21] Garcia, N. S., Bonachela, J. A. i Martiny, A. C. (2016). Interactions between growth-dependent changes in cell size, nutrient supply and cellular elemental stoichiometry of marine *Synechococcus*. *The ISME Journal*, 10, 2715-2724.
- [22] Ginovart, M., Blanco, M., Portell, X. i Ferrer-closas, P. (2010). Modelización basada en el individuo: Una metodología atractiva para el estudio de biosistemas. *Enseñanza de las ciencias*, 30 (2), 93-108.
- [23] González Hernández, C. F., Sol Hernández, M. D. J. i Franco Nava, M. A. (2014). Estimación de Iluminación en un Fotobiorreactor Productor de Biomasa a Partir de Microalgas. *Conciencia Tecnológica*, 47, 29-35.
- [24] Guimarães Carneiro, R., de Carvalho Mendes, I., Lovato, P. E., Moreira de Carvalho, A. i Vivaldi, L. J. (2004). Indicadores biológicos asociados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39 (7), 661-669.
- [25] Grimm, V., Berger, U., Bastiansen, F., Eliassen, S., Ginot, V., Giske, J., Goss-Custard, J., Grand, T., Heinz, S. K., Huse, G., Huth, A., Jepsen, J. U., Jørgensen, C., Mooij, W. M., Müller, B., Pe'er, G., Piou, C., Railsback, S. F., Robbins, A. M., Robbins, M. M., Rossmannith, E., Rüger, N., Strand, E., Souissi, S., Stillman, R. A., Vabø, R., Visser, U. i DeAngelis, D. L. (2006). A standard protocol for describing individual-based and agent-based models. *Ecological Modelling*, 198, 115-126.



- [26] Grimm, V., Berger, U., DeAngelis, D. L., Polhill, J. G., Giske, J. i Railsback, S. F. (2010). The ODD protocol: A review and first update. *Ecological Modelling*, 221, 2760-2768.
- [27] Grimm, V., Railsback, S. F. (2005). *Individual-based, Modeling and Ecology*. Princeton: Princeton University Press.
- [28] Hellweger, F. L. i Kianirad, E. (2007). Accounting for Intrapopulation Variability in Biogeochemical Models Using Agent-Based Methods. *Environmental science & technology*, 41 (8), 2855-2860.
- [29] Hellweger, F. L. i Kianirad, E. (2007). Individual-based modeling of phytoplankton: Evaluating approaches for applying the cell quota model. *Journal of Theoretical Biology*, 249, 554-565.
- [30] Hossam Elden Galal Morsy Mohamed Bakr , 2010. Diatomite: Its Characterization, Modifications and Applications. *Asian Journal of Materials Science*, 2, 121-136.
- [31] Ingaramo, O. E., Paz Ferreiro, J., Mirás Avalos, J. M., Vidal Vázquez, E. (2007). Caracterización de las propiedades generales del suelo en una parcela experimental con distintos sistemas de laboreo. *Cadernos Lab. Xeológico de Laxe*, 32, 127-137.
- [32] Ishii, O., Idei, M., Suzuki, H., Nagumo, T. i Tanaka, J. (2011). Sexual Reproduction and Fine Structure of Auxospore in *Caloneis linearis* (Bacillariophyceae). *The Journal of Japanese Botany*, 87, 96-107.
- [33] Jaramillo, V. J. (2007). El ciclo global del carbono. Recuperat de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/437/jaramillo.html>.
- [34] Jimeno, A. i Ballesteros, M. (2009). *Biología 2*. Barcelona: Grup Promotor Santillana.
- [35] Kroth, P. (2007). Molecular Biology and the Biotechnological Potential of Diatoms. Doi: 10.1007/978-0-387-75532-8\_3.
- [36] López, R (2014). *El ciclo del hierro*. Recuperat de <https://prezi.com/ehix2wzwsuq/el-ciclo-del-hierro/>.
- [37] Masjuan, M. D.; Dou, J. M. i Pelegrín, J. (2005). *Química 1*. Barcelona: Casals.
- [38] Masjuan, M. D. i Pelegrín, J. (2006). *Química 2*. Barcelona: Casals.
- [39] Medina-Reyna, C. E i Cordero-Esquivel, B. (1998). Crecimiento y composición bioquímica de la diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, mantenida en cultivo estático con un medio comercial. *Ciencia y mar*, 2 (6), 19-25.
- [40] Pascual García, C., Burchardt, A. D., Carvalho, R. N., Gilliland, D., António, D. C., Rossi, F i Lettieri, T. (2014). Detection of Silver Nanoparticles inside Marine Diatom *Thalassiosira pseudonana* by Electron Microscopy and Focused Ion Beam. *PLOS one*, 9 (5).
- [41] *Protocolo mineral tierra de diatomeas* (s.d.). Recuperat de <https://www.monografias.com/trabajos-pdf4/insecticida-tierra-diatomeas/insecticida-tierra-diatomeas.pdf>.

[42] Raya Pérez, J. C. i Aguirre Mancilla, C. L. et al. (2012). El Papel del Silicio en los Organismos y Ecosistemas. *Conciencia Tecnológica*, 43, 42-46.

[43] *Resumen del ciclo del fósforo: Etapas e importancia*. (s.d). Recuperat de <https://www.paxala.com/ciclo-del-fosforo/>.

[44] Riebeek, H (2011). *The carbon cycle*. Recuperat de <https://earthobservatory.nasa.gov/Features/CarbonCycle>.

[45] RuBisCO. (s.d.). Recuperat de <https://en.wikipedia.org/wiki/RuBisCO>.

[46] Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S. i Tréguer, P. (2005). Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: A review. *Journal of Sea Research*, 53, 25-42.

[47] Schuler, A. J., Majed, N., Bucci, V., Hellweger, F. L., Tu, Y. i Gu, A. Z. (2011). Is the whole the sum of its parts? Agent-based modelling of wastewater treatment systems. *Water Science & Technology*, 63 (8), 1590-1598.

[48] Tutusaus Arroyo, A (2018). *Modelització basada en agents per a la representació d'interaccions entre individus d'un sistema biològic: Cas d'estudi amb la plataforma d'accés lliure NetLogo*. Recuperat de <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/116828>.

[49] Weisberger, M (2017). *Diatoms Have Sex, and Ammonium Is a Turn-On*. Recuperat de <https://www.livescience.com/59772-diatoms-have-sex-after-all.html>.

[50] Ynga Huamán, G.A. (2011). *Cultivo Masivo de Microalgas en Biorreactores Verticales*. Recuperat de <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/bitstream/handle/123456789/2110/Ynga%20Huam%C3%A1n%2c%20G..pdf?sequence=1>.