

## RESPUESTA DE *CORETHRON CRIOPHILUM* (BACILLARIOPHYCEAE) A DIFERENTES CONDICIONES DE ILUMINACION

GUSTAVO A. FERREYRA

*Departamento de Ciencias Biológicas, Instituto Antártico Argentino. Cerrito 1248, (1010) Capital Federal, Argentina.*

EUGENIA A. SAR y MARTHA E. FERRARIO

*Departamento Científico Ficología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Paseo del Bosque s/n, 1900 La Plata, Argentina.*

**ABSTRACT:** Ferreyra, G. A., Sar, E. A. and Ferrario, M. E. 1993. Response of *Corethron criophilum* (Bacillariophyceae) to different light conditions. *Darwiniana* 32: 293-298.

*Corethron criophilum* Castracane was grown under different conditions of daylength and light intensity in order to analyse the species response in terms of duplication rate, cell volume and the ratio surface/volume (S/V). The species was isolated from net samples collected in Bahía Paraíso (64° 48' S - 62° 23' W) Antarctica, during March 1989.

Differences in the duplication rate were evident between the three photoperiods selected at higher light intensities (60 and 140  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ ). At low intensities (0,35  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ ) we did not observe differences in growth between the photoperiods, and the duplication rate was close to zero.

Data on cell volume and S/V ratio of the cell population under different growth conditions are presented. An increment in the higher relative surface (S/V) population fraction, in coincidence with shorter photoperiods was observed. On this basis, the following hypothesis to be tested is proposed: If the light conditions become worse, the population reacts producing a differential growth of the cells having a smaller volume and a bigger relative surface.

### INTRODUCCION

*Corethron criophilum* Castracane es una especie planctónica cosmopolita (Fryxell y Hasle, 1971), de muy amplia distribución geográfica (Hendey, 1937; Hart y Currie, 1960) con diferentes expresiones morfológicas (Hendey, 1937). En las áreas tropicales las poblacionales son monomórficas y casi esféricas, mientras que las poblaciones antárticas son pleomórficas y básicamente cilíndricas (Wood, 1964; Hendey, 1937).

Buena parte de la literatura sostiene que las mayores densidades poblacionales se dan en aguas antárticas, no obstante Clemons y Miller (1984) señalaron que los datos del Mar de Weddell de Fryxell y Hasle (1971), en términos de células por litro, no son sustancialmente mayores que los hallados por ellos en floraciones producidas en el Pacífico subártico.

Esta especie de tan amplia distribución geográfica, hallada en el hielo y en la columna de agua relacionada con el borde de hielo (Garrison, Buck y Fryxell, 1987; Fryxell, 1989), plantea un interesante interrogante en cuanto a su tolerancia a diferentes condiciones de luz, temperatura y nutrientes, entre otros factores que controlan el crecimiento.

Considerando que las aguas antárticas en general presentan altas concentraciones de nutrientes (Mitchell y Holm-Hansen, 1991) y que los procesos de producción primaria están controlados en mayor medida por la disponibilidad de luz (Tilzer y Dubinsky, 1987) fue diseñada una experiencia cultivando a *C. criophilum* bajo diferentes condiciones de iluminación.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la respuesta de esta especie a determinadas condiciones de fotoperíodo e intensidad luminosa, en

términos de la tasa de duplicación y del comportamiento de parámetros morfométricos seleccionados.

#### MATERIALES Y METODOS

En marzo de 1989 se realizó una pesca de plancton, con red de 30  $\mu\text{m}$  de apertura de malla, en Bahía Paraíso (64° 48' S - 62° 23' O) Antártida. El material obtenido presentó a *Corethron criophilum* como dominante absoluto.

A partir de este material se logró el aislamiento de un monocultivo madre, mediante el método de dilución, en Erlenmeyers de 250 ml. Este cultivo fue mantenido durante dos semanas a 2°C y 75  $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$  en agua de mar filtrada (filtro 0,45  $\mu\text{m}$  de poro) sin enriquecer. La fuente de luz estuvo constituida por tubos de cultivo fluorescentes Grolux de 40 W.

A los efectos de analizar las respuestas de la especie a diferentes condiciones de iluminación, se hizo un diseño experimental de dos factores, considerando como tales a la intensidad de la luz y al fotoperíodo. Las intensidades utilizadas fueron: 0,35, 60 y 140  $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$  y los fotoperíodos 4:20, 12:12 y 20:4 horas día: noche (D:N), simulando condiciones de verano, intermedias e invernales. La intensidad de la luz, expresada en términos de radiación fotosintéticamente activa (RFA), fue medida con un radiómetro LI-COR LI185B.

Para cada combinación de intensidad luminosa y fotoperíodo (nueve en total), se utilizó una placa de cultivo esterilizada con doce camarillas independientes de 5 ml cada una, en las que fueron sembrados 100  $\mu\text{l}$  del cultivo madre en 5 ml de agua de mar filtrada, resultando una concentración de  $11 \pm 2,8 \text{ cel} \cdot \text{ml}^{-1}$ .

Las incubaciones se realizaron a 2° C durante siete días, luego de verificarse que en dicho intervalo, y bajo las condiciones impuestas, *C. criophilum* alcanzaba la fase exponencial de crecimiento.

Los recuentos de células se llevaron a cabo al comienzo del experimento, al tercer día y al séptimo, contándose en cada oportunidad cuatro réplicas para cada combinación de condiciones experimentales, mediante el uso de un microscopio invertido. Las observaciones acerca del estado fisiológico de los organismos fueron hechas con microscopio de epifluorescencia.

Las cálculos de la tasa de duplicación se realizaron según la fórmula de Guillard (1973).

$$D = \log (Nt/No) * (3,322/dt)$$

siendo D el número de divisiones por día, No el número inicial de células, Nt el número de células al tiempo t, y dt el intervalo de tiempo considerado.

Los parámetros morfométricos analizados fueron: largo mayor de la célula, diámetro, volumen celular (V) (interpretando a la célula como un cilindro), y relación superficie/volumen (S/V). Las mediciones fueron realizadas con microscopio invertido, sobre el material previamente utilizado en los recuentos.

Los métodos estadísticos aplicados fueron: análisis de la varianza de dos factores con repeticiones y análisis de la covarianza. La normalidad de los datos fue constatada mediante un Test de  $X^2$  ( $P < 0,05$ ), y la homoscedasticidad por aplicación del Test de Bartlett ( $P < 0,05$ ) (Sokal y Rohlf, 1979).

#### RESULTADOS Y DISCUSION

##### Crecimiento

La tasa de duplicación (D) de la especie mostró una tendencia creciente en respuesta al incremento de las condiciones de iluminación. En la Fig. 1 se presentan los valores medios de D, con los correspondientes errores standard, obtenidos a partir de las diferentes combinaciones de iluminación y fotoperíodo del experimento.

En la bibliografía relevada no fueron encontrados datos acerca de la tasa de duplicación de *C. criophilum*. Sakshaug y Holm-Hansen (1984) señalaron que la tasa de duplicación del fitoplancton antártico bajo condiciones óptimas de iluminación, oscila entre 0,1 y 0,9 div. día<sup>-1</sup>. Siete de las nueve combinaciones ensayadas en el presente estudio se hallaron comprendidas dentro de este rango de valores, correspondiendo una de ellas a condiciones muy adversas de iluminación. Spies (1987), trabajando con cultivos de 10 l, a -1°C y 45  $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ , determinó un valor máximo de 1,33 div. día<sup>-1</sup>, más alto que los hallados en la bibliografía mencionada por Jacques (1983).

Del análisis de la Figura 1, en la que se representa el comportamiento de la tasa de duplicación de la especie para cada condición del experimento, se puede concluir que:

a) Para la intensidad menor, 0,35  $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ , no existen diferencias evidentes en el crecimiento entre los fotoperíodos.

b) Para 60  $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ , se observa un marcado incremento del crecimiento al pasar de la

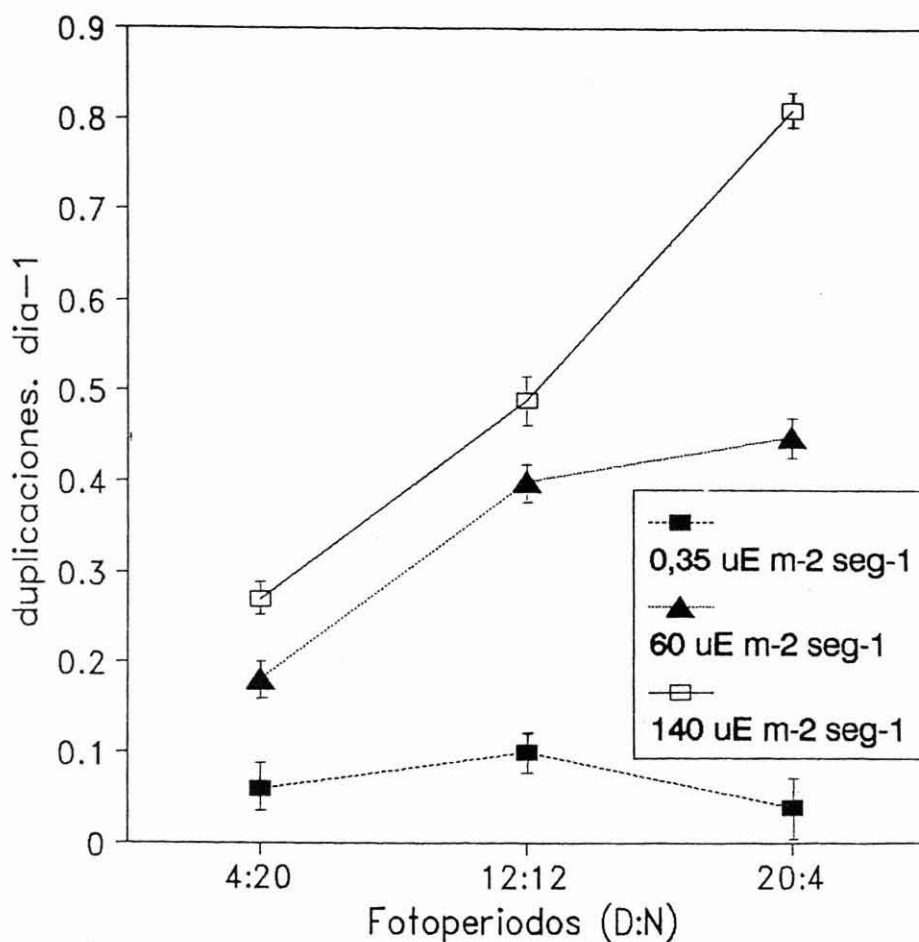


Fig. 1.— Comportamiento del crecimiento en función de la RFA para cada fotoperíodo estudiado, F1 = 4:20, F2 = 12:12, F3 = 20:4. Las barras verticales indican los intervalos de confianza al 95%.

condición de 4 a la de 12 horas luz, atenuándose dicha tendencia a 20 horas luz.

c) Para  $140 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ , se observa un importante y sostenido incremento del crecimiento en función del aumento del fotoperíodo.

Un análisis de la varianza de dos factores, intensidad luminosa y fotoperíodo, dio como resultado diferencias altamente significativas de D entre los niveles experimentales impuestos para cada factor ( $P < 0,001$ ), así como una interacción altamente significativa entre los mismos ( $P < 0,001$ ) (Tabla 1).

En las condiciones de intensidad lumínica más adversas del experimento *C. criophilum* se mantuvo en buen estado fisiológico, lo cual fue

constatado con microscopio de epifluorescencia. Sin embargo la capacidad reproductiva se vio notablemente mermada, hecho que podría ser interpretado como debido a una capacidad insuficiente de la antena fotosintética de la especie para captar una cantidad de energía adecuada para ser invertida en crecimiento. El comportamiento de *C. criophilum* a bajas intensidades lumínicas contrasta con el descrito por Palmisano et al. (1985) para comunidades bentónicas endémicas de *Trachyneis aspera*, las cuales están adaptadas a intensidades del orden de  $0,6 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ .

#### Parámetros morfométricos

Los parámetros morfométricos seleccionados fueron el volumen celular (V) y la relación su-

Tabla 1.— Tabla de análisis de la varianza de dos factores, para el crecimiento de *C. criophilum* en respuesta a la RFA y al fotoperíodo

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Probabilidad
Efectos principales	8,00	2,19	0,27		
Fotoperíodo	2,00	0,34	0,17	37,46	P < 0,001
RFA	2,00	1,41	0,70	154,99	P < 0,001
Interacción	4,00	0,45	0,11	24,48	P < 0,001
Error	27,00	0,12	0,00		
Total	35,00	2,32			

perficie/volumen (S/V). El criterio de selección se fundamentó en el planteo de Malone (1980), quien considera que la relación S/V influye en la respuesta de crecimiento del fitoplancton a su ambiente, y que la cantidad de clorofila *a*/volumen (cl *a*/V) está inversamente relacionada con el tamaño de la célula.

Analizando la población sometida a condiciones de cultivo para el día siete del experimento, se pudo determinar un volumen celular máximo de 285.000  $\mu\text{m}^3$ , y uno mínimo de 1.230  $\mu\text{m}^3$ . El rango de valores calculados es amplio y contiene al valor mencionado por Jacques y Tréguer (1986). En la Tabla 2 se presentan los valores medios de volumen con sus respectivos errores standard para cada combinación experimental.

Sobre la misma población se calcularon los valores de superficie relativa (S/V), obteniéndose

una relación máxima de 0,81 y una mínima de 0,10. En la Tabla 2 se presentan los valores medios de superficie relativa para cada combinación de intensidad luminosa y fotoperíodo.

A los efectos de analizar el comportamiento de la relación S/V bajo las condiciones experimentales impuestas, se consideraron los datos correspondientes al último día de incubación, descartándose los de la menor intensidad lumínica por no haber alcanzado un número suficiente para realizar análisis estadísticos. Haciendo una comparación entre los gráficos de distribución de frecuencia relativa de S/V para las seis condiciones experimentales analizadas, fue posible visualizar un incremento de las frecuencias en los intervalos de mayor valor (Fig. 2).

Esto parecería indicar que aumenta el porcentaje de células de la población que tienen

Tabla 2.— Valor medio y error standard del volumen celular, y media de la relación S/V para cada combinación de RFA y fotoperíodo en el día siete del experimento

RFA ( $\mu\text{Em}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ )	Fotoperíodo (D:N)	V Medio ( $\mu\text{m}^3$ )	Error Standard	S/V Medio
0,35	4: 20	77,926	32,045	0,28
	12: 12	18,746	11,734	0,43
	20: 4	53,741	15,737	0,28
60	4: 20	102,943	13,900	0,25
	12: 12	80,489	10,669	0,28
	20: 4	93,002	8,762	0,26
140	4: 20	94,609	13,992	0,18
	12: 12	57,601	8,600	0,19
	20: 4	73,253	7,296	0,19

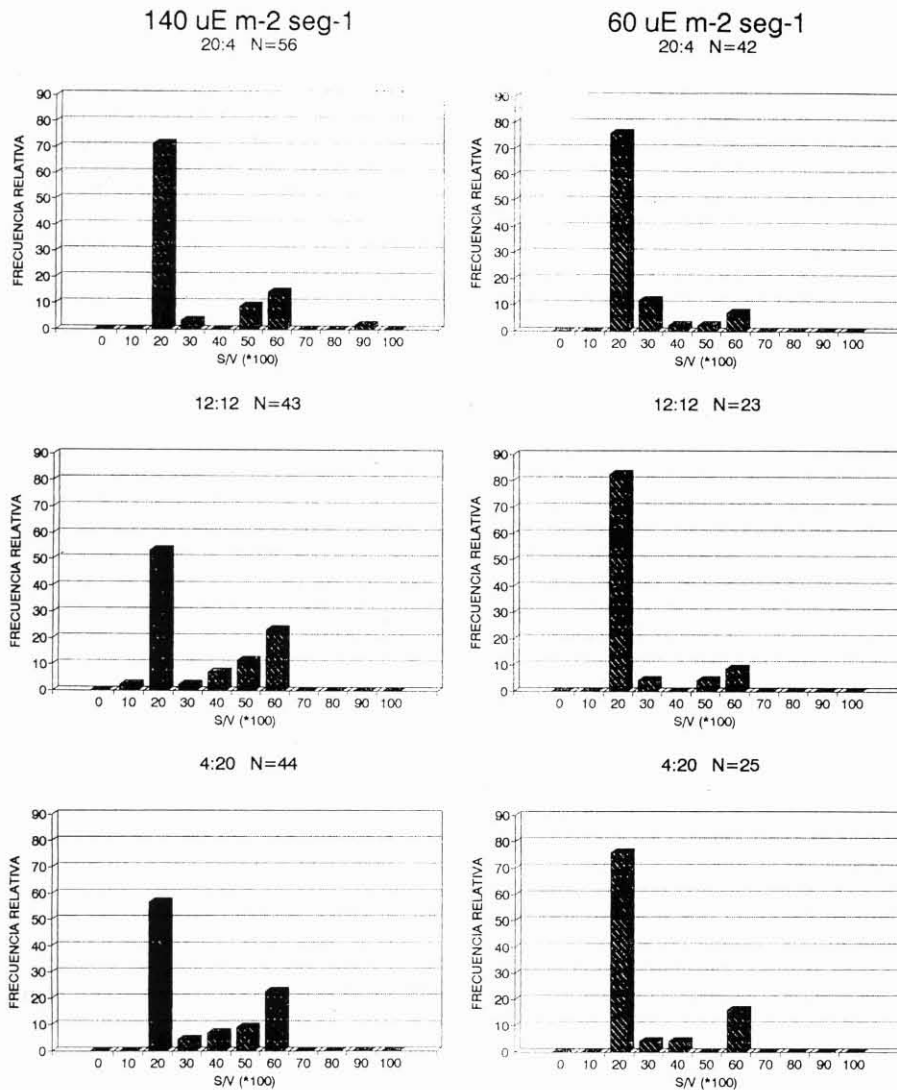


Fig. 2.— Frecuencia relativa de la relación S/V para las seis combinaciones de RFA y fotoperíodo analizadas al día siete del experimento.

mayor superficie relativa a medida que las condiciones de iluminación empeoran. A fin de verificar estadísticamente esta observación, se realizó un análisis de la covarianza, en el que se consideró al volumen celular como la variable independiente, y a la superficie como la variable dependiente, comparándose las rectas de regresión correspondientes a ambas variables de la siguiente manera:

a) entre fotoperíodos, dentro de cada intensidad luminosa.

b) entre intensidades luminosas, dentro de cada fotoperíodo.

Ninguna de las comparaciones realizadas arrojó diferencias significativas. A pesar de ello, y a partir de la tendencia al incremento de la fracción de la población de mayor superficie relativa observada, se elaboró la siguiente hipótesis:

A medida que empeoran las condiciones lumínicas, la población reacciona produciendo

un crecimiento diferencial de las células que presentan menor volumen y mayor superficie relativa.

Esta hipótesis está sustentada en la observación de Malone (1980) de la que se desprende que las células de menor tamaño tienen mayor cantidad de  $cl\ a/V$  y mayor superficie relativa, optimizando, en consecuencia, su eficiencia para la captación de la luz incidente.

#### BIBLIOGRAFIA

- Clemons, M. J. & Miller, C. B. 1984. Blooms of large diatoms in the oceanic, subarctic Pacific. *Deep-Sea Res.* 31 (1): 85-95.
- Fryxell, G. A. 1989. Marine phytoplankton at the Weddell Sea ice edge: seasonal changes at the specific level. *Polar Biol.* 10: 1-18.
- Fryxell, G. A. & Hasle, G. R. 1971. *Corethron criophilum* Castracane: its distribution and structure. In: G. A. Llano & I. E. Wallen (Eds.). *Biology of the Antarctic Seas IV. Antarctic Res. Ser.* 17: 335-346.
- Garrison, D. L., Buck, K. R. & Fryxell, G. A. 1987. Algal assemblages in Antarctic pack ice and in ice edge plankton. *J. Phycol.* 23: 564-572.
- Guillard, R. R. L. 1973. Division rates. In: J. R. Stein (Ed.). *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements.* University Press, Cambridge: 289-320.
- Hart, T. J. & Currie, R. I. 1960. The Benguela current. *Discovery Rep.* 31: 127-297.
- Hendey, N. I. 1937. The plankton diatoms of the Southern Seas. *Discovery Rep.* 16: 151-364.
- Jacques, G. 1983. Some ecophysiological aspects of the Antarctic phytoplankton. *Polar Biol.* 2 (1): 27-33.
- Jacques, G. & Tréguer, P. 1986. *Ecosistemas Pelágicos Marinos.* Masson, Paris.
- Malone, T. C. 1980. Algal size. In: I. Morris (Ed.). *Physiological Ecology of Phytoplankton.* University of California: 433-463.
- Mitchell, B. G. & Holm-Hansen, O. 1991. Observations and modelling of the Antarctic phytoplankton crop in relation to mixing depth. *Deep-Sea Res.* 38 (8/9): 981-1007.
- Palmisano, A. C., Soohoo, J. B., White, D. C., Smith, G. A., Staton, G. R. & Burckle, L. H. 1985. Shade adapted benthic diatoms beneath Antarctic sea ice. *J. Phycol.* 21: 664-667.
- Sakshaug, E. & Holm-Hansen, O. 1984. Factors governing pelagic production in polar oceans. In: O. Holm-Hansen, L. Bolis & R. Gilles (Eds.). *Marine phytoplankton and productivity.* Lecture notes on coastal and estuarine studies, 8, Springer-Verlag: 1-18.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. 1979. *Biometría. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica.* Blume Ediciones, Madrid.
- Spies, A. 1987. Growth rates of Antarctic marine phytoplankton in the Weddell Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 41: 267-274.
- Tilzer, M. M. & Dubinsky, Z. 1987. Effects of temperature and day length on the mass balance of Antarctic phytoplankton. *Polar Biol.* 7: 35-42.
- Wood, E. J. F. 1964. Studies in microbial ecology of Australasian region. II. Ecological relations of oceanic and neritic diatom species. *Nova Hedwigia* 8: 20-35.

Manuscrito recibido octubre 26 de 1992; aceptado junio 23 de 1993.