

EFFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO DE CULTIVOS DE *Fragilaria sp.* FRENTE A LA SUPLEMENTACIÓN CON HIERRO

Elizabeth Robello, Susana Puntarulo

Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL), Universidad de Buenos Aires

(UBA)-CONICET. Fisicoquímica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 956

(C113AAD), Buenos Aires, Argentina. e-mail: erobello@ffyb.uba.ar

Introducción:

El hierro (Fe) juega un papel importante en la biogeoquímica oceánica y se sabe que limita la actividad biológica en algunas regiones oceánicas. Un tercio de los océanos del mundo han sido definidos como de alta concentración de nutrientes y bajo contenido de clorofila (HNLC). El Fe es esencial para la utilización del nitrógeno y el metabolismo, la biosíntesis de la clorofila, y numerosas funciones respiratorias celulares en el fitoplancton y, por lo tanto, desempeña un papel crítico en la producción primaria del océano. (Bruland y col., 2005; Worsfold y col. 2014). Experimentos de fertilización con Fe han demostrado que la adición de Fe a las aguas de superficie en las regiones HNLC aumenta la productividad a nivel local. Trabajos recientes indican que el Fe que deriva de sedimentos provenientes de desprendimientos de los icebergs puede ser una fuente importante, y hasta ahora no reconocida, de Fe biodisponible asociado a los glaciares en la Antártida (Wang y col., 2014; Graham y col., 2015).

La adición de Fe estimula el crecimiento del fitoplancton, especialmente los grupos microfitoplancton tales como las diatomeas (Li y Zheng, 2011; Wang y Dei, 2001; Wang y col., 2014). Una vez en el interior celular, el Fe^{2+} es quelado directamente o es reoxidado y quelado a moléculas pequeñas como aminoácidos, ácidos orgánicos o compuestos fenólicos (Briat y col., 2007). Luego ese Fe pasa a ser parte del LIP citoplasmático (Fe unido a compuestos de bajo peso molecular disponible para catalizar reacciones redox) o ser incorporado a los componentes que necesitan Fe para cumplir sus funciones. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con concentraciones moderadas y altas de Fe sobre el crecimiento, contenido de Fe total intracelular y LIP de cultivos de *Fragilaria sp.*

Metodología

Los estudios se realizaron con diatomeas *Fragilaria sp.* procedentes de comunidades microalgales aisladas en diferentes campañas realizadas en poblaciones naturales de la zona Antártica. El sitio de muestreo se localizó en la Caleta Potter (Base Científica Carlini, ex Teniente Jubany, (62 14'S-58 38'W) en la Isla 25 de Mayo en la Península Antártica) mediante muestreos superficiales utilizando botella Niskin y red fitoplanctónica (20 μ m). Los cultivos de diatomeas se realizaron en medio f-2 (Guillard, 1975). El crecimiento fue evaluado durante 15-20 días a 4°C bajo ciclo luz-oscuridad de 12 horas y se siguió mediante espectrofotometría y recuento celular. Los cultivos fueron expuestos a concentraciones de Fe-EDTA (1:1) de 0,3, 50 y 100 μ M (concentraciones equivalentes a las que se pueden encontrar en aguas oceánicas antárticas en condiciones naturales y con exceso de Fe), y 500 μ M (concentración tóxica de Fe). En fase Lag, exponencial y estacionaria de desarrollo se cosecharon muestras para la determinación de contenido de clorofila y carotenoides totales por espectrofotometría de absorbancia (Lichtenthaler, 1987). Se determinó el contenido de Fe total por espectrofotometría (Galatro y col., 2012) y el LIP por espectrofluorometría (Robello y col., 2007).

Resultados:

La tabla 1 muestra los valores de velocidad de crecimiento, contenido de Fe total y LIP en fase exponencial para cultivos expuestos a contenido de Fe:EDTA en niveles a los que se encuentra en ambientes naturales (0,3 μM) en suplementación/sobrecarga con Fe:EDTA (50, 100 y 500 μM).

Tabla 1. Efecto de la suplementación con Fe:EDTA sobre el crecimiento, concentración de Fe total y LIP de cultivos de *Fragilaria sp.*

[Fe:EDTA] (μM)	Velocidad de crecimiento exponencial ($\text{UA} \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$)	Fe total (nmol/mg prot)	LIP (nmol/mg prot)
0,3 (natural)	6 ± 1	260 ± 19	$0,35 \pm 0,03$
50 (suplementación con Fe)	$19 \pm 3^*$	$5899 \pm 651^*$	$0,8 \pm 0,3^*$
100 (suplementación con Fe)	$10 \pm 1^*$	$6449 \pm 666^*$	$1,9 \pm 0,4^*$
500 (sobrecarga tóxica con Fe)	$2,0 \pm 0,2^*$	$4431 \pm 671^*$	$4 \pm 1^*$

* $P < 0,05$ ANOVA

El Fe total determinado en fase exponencial de crecimiento aumentó significativamente frente a la suplementación exógena. Por su parte el LIP, ó Fe catalíticamente activo, también aumentó significativamente con respecto a la concentración en ambientes naturales a concentraciones superiores a Fe 100 μM . La exposición de los cultivos a Fe 50 μM produjo diferencias significativas en el contenido de clorofila a en todas la fases de crecimiento y de clorofila b sólo en fase exponencial y estacionaria. Frente a la suplementación con Fe 50 μM no se observó cambios en el contenido de carotenos en las fases analizadas.

Conclusiones:

Estos resultados indican que el Fe suplementado es incorporado efectivamente en las células de *Fragilaria sp.* En concentraciones moderadas la adición de Fe promueve el crecimiento celular, mientras que al aumentar a concentraciones superiores a 100 μM se desencadenarían efectos oxidativos dañinos que podrían comprometer el desarrollo del cultivo. En este sentido, un mayor contenido de Fe catalíticamente activo (LIP) estaría involucrado en daño a proteínas celulares y otros componentes de interés biológico.

Referencias:

Briat JF, Curie C, Gaymard F(2007) Curr Opin Plant Biol10:276-282. **Bruland KW, Rue EL, Smith GJ, DiTullio GR** (2008) Mar Chem 93:81-103. **Galatro A, Robello E, Puntarulo S** (2012) J Integr Plant Biol 54:45-54. **Guillard RRL** (1975) In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA. 2. pp 26-60. **Graham RM, De Boer AM, van Sebille E, Kohfeld KE, Schlosser C** (2015) Deep Sea Res 1 104: 9-25. **Li S-X, Zhen F-Y** (2011) Mar Environ Res 72:89-95. **Lichtenthaler HK** (1987) Meth Enzymol 148:350-382. **Robello E, Galatro A, Puntarulo S** (2007) Plant Sci 172:939-947. **Wang S, Bailey D, Lindsay K, Moore JK, Holland M** (2014) Biogeosciences 11: 4713-4731. **Wang W-X, Dei RCH** (2001) Mar Chem 74: 213-226. **Worsfold PJ, Lohan MC, Ussher SJ, Bowie AR** (2014) Mar Chem 166:25-35.