

RESPUESTA DEL FITOPLANCTON MARINO A LA RADIACION ULTRAVIOLETA EN LATITUDES MEDIAS (33° S)*

WALTER HELBLING¹, SERGIO AVARIA², JAIME LETELIER³, VIVIAN MONTECINO⁴, BORIS RAMIREZ³, MARCEL RAMOS³, WINSTON ROJAS³ y VIRGINIA VILLAFANE¹

ABSTRACT: Helbling, W.; Avaria, S.; Letelier, J.; Montecino, V.; Ramírez, B.; Ramos, M.; Rojas, W. & V. Villafañe. 1993. Marine phytoplankton response to ultraviolet radiation in middle latitudes (33°). *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 28(2): 219-237.

In this report we present data obtained during our studies from 6 to 12 of March, 1993, at Valparaíso and Montemar (Chile). The major objective of the experiments was to examine the response and possible adaptations of phytoplankton to solar ultraviolet radiation.

In situ incubations of natural phytoplankton populations showed an inhibition of photosynthesis of approximately 5% due to UV-B (280-320 nm) and 9% due to UV-A (320-400 nm) in surface waters receiving a mean radiation of 0.111 $\mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. This inhibition decreased sharply with depth.

Incubations simulating the *in situ* radiation gradient with monospecific cultures of *Nannochloris oculata*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella tertiolecta* and *Chaetoceros gracilis* showed different sensibility of the species to solar radiation. Three species presented similar threshold of photosynthesis inhibition. *Isochrysis galbana* was the species that showed the least inhibition due to UVR. However there was no significant difference in the P_{max} values for each culture that received different spectral regimes of UVR.

Cultures of *Nannochloris oculata* had a decrease in chlorophyll-a concentration of 30%, 60% and 85% when exposed to solar PAR, PAR + UV-A, and PAR + UV-A + UV-B, respectively, after 4.5 h of exposure to solar radiation with a mean irradiance for PAR of 0.111 $\mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. However, in *Isochrysis galbana* the chlorophyll-a concentration was almost constant, even after 7 h of exposure to solar radiation with the same dose rates as used for *Nannochloris oculata*.

Keywords: Phytoplankton, ultraviolet radiation, photosynthesis.

RESUMEN: Helbling, W.; Avaria, S.; Letelier, J.; Montecino, V.; Ramírez, B.; Ramos, M.; Rojas, W. & V. Villafañe. 1993. Respuesta del fitoplancton marino a la radiación ultravioleta en latitudes medias (33° S). *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 28(2): 219-237.

En este trabajo se presentan los resultados de experimentos realizados en Valparaíso y Montemar (Chile) entre los días 6 y 12 de marzo de 1993, destinados a analizar la respuesta y posibles adaptaciones del fitoplancton marino a la radiación ultravioleta (RUV) natural.

Las incubaciones *in situ* de poblaciones naturales fitoplanctónicas mostraron una inhibición de la fotosíntesis de aproximadamente el 5 % debido al RUV-B (280-320 nm), y

1 Polar Research Program, Scripps Institution of Oceanography, UCSD, La Jolla, California, 92093-0202, USA.

2 Instituto de Oceanología, Universidad de Valparaíso, Chile.

3 Escuela de Ciencias del Mar, Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

4 Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

* Trabajo presentado en la XIII Jornadas de Ciencias del Mar, Viña del Mar, Chile, 1993.

del 9% debido al RUV-A (320-400 nm) en muestras de superficie, al ser incubadas con una radiación PAR media de $0,111 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esta inhibición disminuyó rápidamente con la profundidad.

Las incubaciones que simulaban el gradiente de radiación *in situ* realizadas con los cultivos monoespecíficos de *Nannochloris oculata*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella tertiolecta* y *Chaetoceros gracilis*, mostraron distinta sensibilidad de las especies. De estas especies, tres presentaron un umbral similar de inhibición de la fotosíntesis e *Isochrysis galbana* fue la especie que mostró menor inhibición debido a la RUV. Sin embargo en cada uno de estos monocultivos sometidos a diferentes condiciones de RUV, P_{max} no fue significativamente diferente.

Los cultivos de *Nannochloris oculata* tuvieron una disminución en la concentración de clorofila-a del 30%, 60% y 85% sólo para PAR, UV-A + PAR y UV-B + UV-A + PAR respectivamente, después de 4,5 h de exposición a la radiación solar con una radiación media de $0,111 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Sin embargo, *Isochrysis galbana* mantuvo una concentración de clorofila-a casi constante después de 7 horas de exposición a la radiación solar recibiendo una dosis similar a la de *Nannochloris oculata*.

Palabras claves: Fitoplancton, radiación ultravioleta, fotosíntesis.

INTRODUCCION

La disminución de la capa de ozono durante la primavera austral ha sido documentada, a través de mediciones realizadas desde el año 1957, por científicos ingleses en Halley Bay (Fig. 7 en Farman *et al.* 1985). Sin embargo, recién a partir de la década del 80 se comenzaron a realizar estudios multidisciplinarios y se han podido establecer los cambios temporales y el incremento de la radiación ultravioleta (RUV), fundamentalmente del RUV-B (280-320 nm) como consecuencia de la reducción del ozono atmosférico (Lubin & Frederick 1991).

Algunos de los primeros estudios realizados mostraron el efecto negativo que este aumento de la RUV tendría en los organismos marinos (El-Sayed 1988). Este hecho fue luego reforzado por Gribbin 1988, Roberts 1989, Voytek 1989, 1990. Sin embargo, estudios realizados en la Antártica han demostrado que los efectos del aumento de RUV debido a la

disminución de ozono serían menores a lo sugerido, estimándose que la productividad primaria diaria se reduce en un 3,8% (Holm-Hansen *et al.* 1993b) o entre un 6 y un 12% (Smith *et al.* 1992, ver sin embargo Holm-Hansen & Helbling 1993). El fitoplancton de bajas latitudes no exhibe tal disminución en la capacidad fotosintética (Helbling *et al.* 1992), dando lugar a la hipótesis de que estaría adaptado evolutivamente a recibir una mayor cantidad de RUV en comparación al fitoplancton de zonas polares.

Algunas de las preguntas que surgen de estos estudios se refieren a cuáles son los efectos de la RUV en diferentes microalgas en el fitoplancton marino de latitudes medias y si presentan mecanismos de adaptación. En este trabajo se hace una evaluación preliminar de las respuestas del fitoplancton en poblaciones naturales y cultivos monoespecíficos al ser incubados *in situ* y/o simulados *in situ*, en latitudes medias (33° S).

MATERIALES Y METODOS

Los experimentos diseñados para estudiar los efectos de la radiación ultravioleta en el fitoplancton se llevaron a cabo

en Valparaíso y Montemar, Chile, (Fig. 1) entre los días 6 y 12 de marzo de 1993. En estos experimentos se trabajó con fitoplancton marino, en poblaciones naturales y cultivos monoespecíficos.

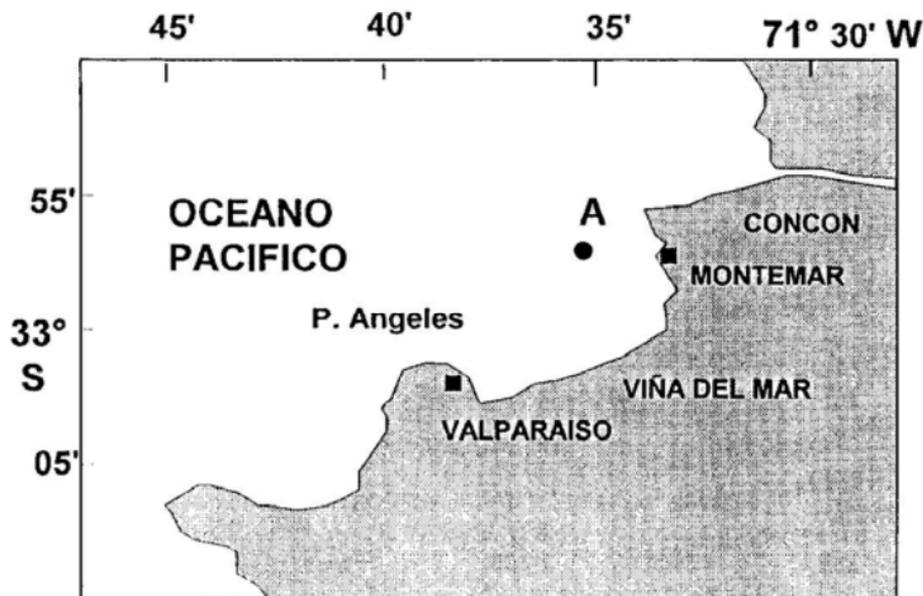


Fig. 1. Zona donde se obtuvieron las muestras para las incubaciones *in situ* (A) y lugares donde fueron realizados los experimentos.

POBLACIONES NATURALES:

Las muestras de agua se tomaron con una botella Niskin de 5 litros, en superficie y a 2 metros de profundidad, y a una distancia de aproximadamente 1.500

metros de la costa (Fig. 1, punto A), frente al Instituto de Oceanología de la Universidad de Valparaíso (Montemar). Estas muestras fueron fraccionadas en balones de cuarzo y Pyrex de 250 ml de capacidad para ser incubadas *in situ* a fin

de determinar la incorporación de carbono cuando eran eliminadas diferentes partes del espectro de radiación ultravioleta. En cada profundidad las muestras se incubaron en 6 balones durante 6-8 horas, implementándose tres tratamientos: a) 2 balones de cuarzo que recibían toda la RUV y PAR (Photosynthetic

Available Radiation 400-700 nm), b) 2 balones de Pyrex cubiertos con plexiglas que recibían parte de la radiación RUV-A >360 nm y PAR y c) 2 balones de Pyrex con filtro Mylar que recibían RUV-A 320-400 nm y PAR. Las características de transmisión de los materiales y filtros utilizados, se muestran en la Fig. 2.

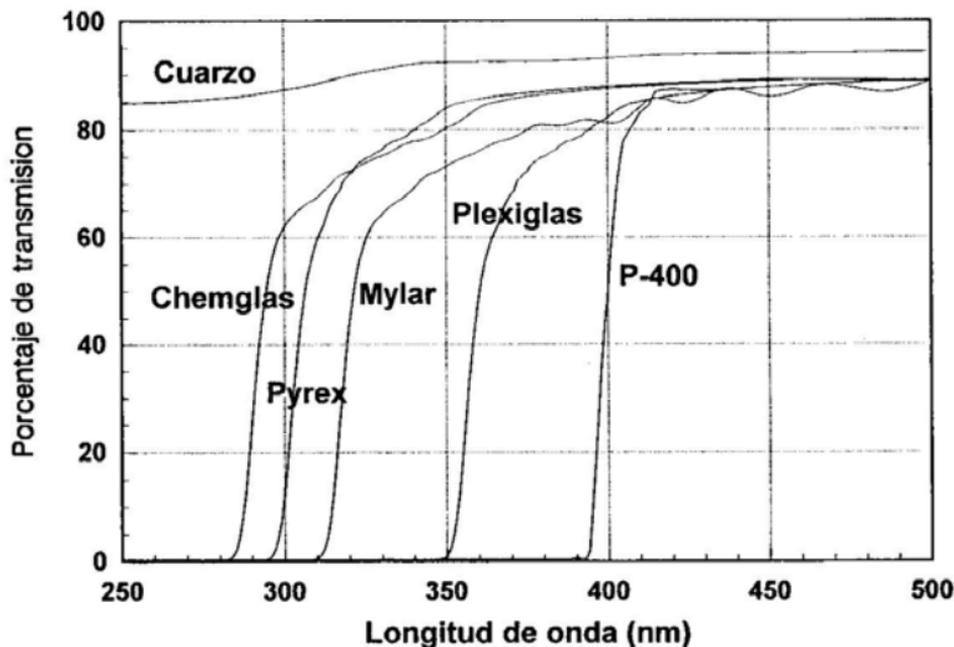


Fig. 2. Características de transmisión de los distintos materiales y filtros utilizados en los experimentos.

La concentración de clorofila-a (cl-a) se obtuvo filtrando 500 ml de cada muestra en filtro de 25 mm de diámetro (Whatmann GF/F), extrayéndola en acetona por 18-20 horas y determinando su absorbancia en un espectrofotómetro Shimadzu UV-120-12 (Strickland & Parsons 1972).

Para los espectros de absorción *in vivo* del fitoplancton se filtraron 500 ml de muestra (filtro Whatmann GF/F, 25 mm), el filtro fue posteriormente congelado a -20°C . Los espectros se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 3 con interfase a una computadora. Se realizó un barrido entre 250 y

750 nm a cada filtro previo y posterior a la extracción de los pigmentos y compuestos solubles en metanol (Kishino *et al.* 1985).

Para determinar la composición del fitoplancton se tomó una muestra con red (35 μm), la cual se fijó con formalina neutralizada con borato de sodio (concentración final 1%).

CULTIVOS MONOESPECIFICOS:

Se utilizaron cuatro cepas de microalgas marinas: *Nannochloris oculata* (Eustigmatophyceae) *Isochrysis galbana* (Prymnesiophyceae), *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) y *Chaetoceros gracilis* (Bacillariophyceae), y se mantuvieron en crecimiento exponencial, controlados por mediciones diarias de cl-a bajo iluminación artificial (tubos fluorescentes luz día de 60 W = 0,05 $\mu\text{E cm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12:12 luz / oscuridad), y en medio de cultivo f/2 a 20 °C (Guillard & Ryther 1962).

Cada día los cultivos se expusieron a la radiación natural, incubándolos en un baño con agua circulante a 20°C para mantener la temperatura y se realizaron las siguientes experiencias:

a) Experimento 1: Evolución temporal de la concentración de cl-a y posible síntesis de compuestos que absorbieran en la región de la RUV con cultivos de *N. oculata* e *I. galbana*. Para ésto se colocaron 3 litros de cultivo en 3 balones de Chemglas de un litro de capacidad, a dos de los cuales se les colocó un filtro de Mylar y plexiglas P-400, respectivamente (ver características de transmisión en la Fig. 2). Al iniciar la incubación y a cada hora se extrajeron dos muestras de cada balón

(entre 30 y 50 ml) para determinar la concentración de cl-a y realizar espectros de absorción siguiendo la metodología mencionada anteriormente.

b) Experimento 2: Incorporación de carbono en cultivos de *N. oculata* e *I. galbana*, eliminando distintas porciones del espectro de radiación ultravioleta por medio de filtros. Se realizaron tres tratamientos distintos con muestras duplicadas en balones de 250 ml: a) 2 de cuarzo; b) 2 de Pyrex con Mylar y c) 2 de Pyrex con plexiglas. Las muestras se incubaron entre 6 y 8 horas y fueron expuestas directamente a la radiación solar sin ningún otro tipo de atenuación.

c) Experimento 3: Incorporación de carbono en las cuatro microalgas de cultivo (muestras duplicadas en tubos de cuarzo de 60 ml) en un gradiente lumínico (desde el 95% al 3%) atenuando la radiación incidente con mallas de densidad neutra, para dos tratamientos: a) toda la radiación (RUV y PAR) y b) sólo radiación visible (PAR), usando un filtro de plexiglas P-400. Al igual que en el experimento 2 las muestras se incubaron entre 6 y 8 horas.

INCORPORACION DE CARBONO:

Las mediciones de incorporación de carbono (medida de la fotosíntesis realizada) fueron efectuadas utilizando carbono radioactivo (Steeman-Nielsen 1952). A cada muestra, tanto de poblaciones naturales como de cultivos, se le agregó 5 μCi (0,185 MBq) de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ antes de ser expuestas a la radiación solar. Después de incubarlas por 6-8 horas, las muestras se filtraron en filtro Whatman GF/F (25 mm de diámetro) y los filtros se

colocaron en viales, los que fueron posteriormente expuestos por 4-8 horas a vapores de HCl concentrado. Luego de esto y una vez secos se les agregó líquido de centelleo (Ecolume, ICN) y la actividad fue medida en contador de centelleo líquido (Beckman LS 5.000 TD).

MEDICIONES DE RADIACION SOLAR:

Las mediciones de radiación solar incidente se realizaron con un espectroradiómetro (PUV-510, Biospherical Instruments Inc.), el cual posee cuatro bandas espectrales de medición en la región del ultravioleta centradas en 308, 320, 340 y 380 nm y un sensor para PAR (400-700 nm). Esta unidad fue instalada en la Escuela de Ciencias del Mar de la Universidad Católica de Valparaíso y fue conectada por medio de una interfase a una computadora en la cual se recogían los datos durante todo el día y con una frecuencia de un dato cada 30 segundos.

El equipo dispone también de una unidad sumergible (PUV 500) la cual, además de los canales de medición mencionados, posee sensores de temperatura y presión. Este dispositivo fue utilizado para medir el campo de radiación en la columna de agua y poder calcular los coeficientes de atenuación y la penetración de la RUV.

RESULTADOS Y DISCUSION

La radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra se incrementa cuando hay una disminución del ozono estratosférico (Frederick *et al.* 1989), siendo una de las causas de esta disminución, la emisión de clorofluorocarbonos (Rowland 1989). A partir de este co-

nocimiento, se iniciaron numerosos estudios para comprender el impacto que el aumento de la RUV tendría en el ambiente marino y terrestre. En el caso del fitoplancton marino, los resultados publicados van desde los que predicen un colapso en el sistema marino debido a una disminución notoria en la productividad del fitoplancton (El-Sayed 1988), hasta los que presentan una situación menos alarmista (Holm-Hansen *et al.* 1993a, 1993b; Smith *et al.* 1992, entre otros).

La radiación solar que alcanza la superficie de la tierra es mayor en bajas latitudes que en altas, esto es especialmente importante cuando se realizan estudios de efectos de la radiación ultravioleta en los organismos vivos. La mayor radiación en bajas latitudes se debe fundamentalmente a la menor distancia que tienen que atravesar los rayos solares hasta llegar a la superficie de la tierra. La radiación ultravioleta y, especialmente la incidencia de RUV-B se ve aumentada por: a) una menor concentración de ozono estratosférico en bajas latitudes comparada con altas latitudes (Gleason *et al.* 1993) y b) debido a su ángulo de incidencia, ya que los rayos solares en altas latitudes atraviesan una mayor distancia relativa no sólo en la atmósfera, sino también en la "capa" de ozono. El resultado es que en general la radiación ultravioleta recibida en altas latitudes es mucho menor que en las bajas, aún con la disminución en las concentraciones de ozono que se producen en altas latitudes (Lubin & Frederick 1991, Holm-Hansen *et al.* 1993a).

Las mediciones de radiación solar efectuadas en el presente estudio, tanto

de ultravioleta como del espectro visible, para los días de máxima y mínima radiación (7 y 10 de marzo respectivamente) se muestran en la Fig. 3. En general durante los días de muestreo la radiación solar fue relativamente baja en las mañanas debido a la presencia de nubes; el mediodía solar local fue alrededor de las 14 horas. Los valores de radiación ultravioleta obtenidos en Valparaíso son intermedios entre los de altas y bajas latitudes y se comparan en la Tabla 1 con medi-

ciones realizadas en la Antártica, Punta Arenas, y el Pacífico Ecuatorial a 0° de latitud en marzo y en condiciones similares de radiación PAR. Es posible notar un aumento relativo de la RUV-B (308 nm y 320 nm) al disminuir la latitud. En cambio, el aumento en la RUV-A (340 nm y 380 nm) es menos significativo. En este estudio, los cocientes entre las distintas longitudes de onda del ultravioleta y PAR se han mantenido aproximadamente constantes.

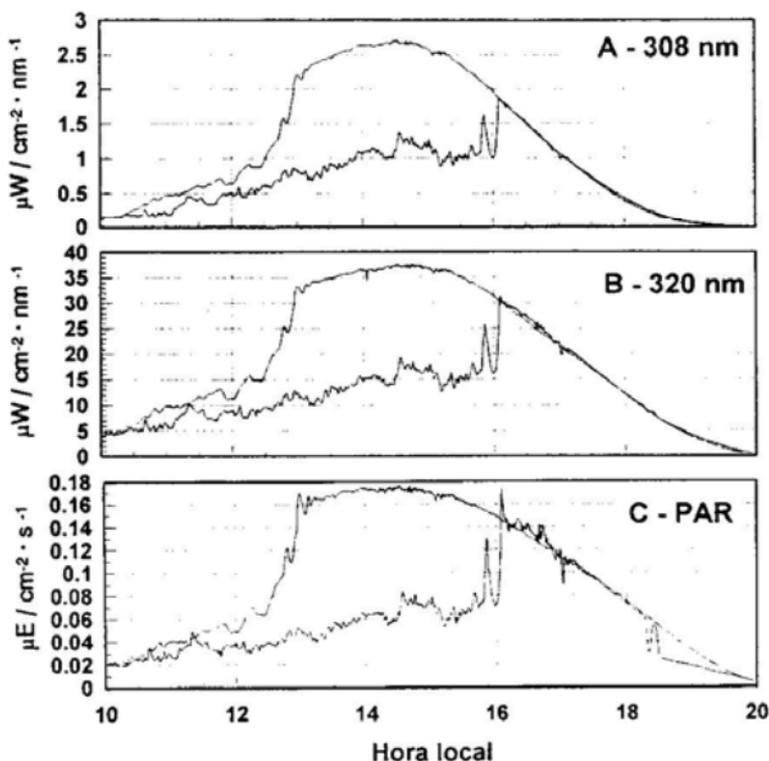


Fig. 3. Radiación solar incidente en superficie en función de la hora local para los días de máxima (7 de marzo) y mínima radiación (10 de marzo) durante el período de estudio (6-12 de marzo). En la figura se muestran solo tres de los canales y frecuencias de medición: A) Ultravioleta a 308 nm; B) Ultravioleta a 320 nm y C) Visible (PAR) 400-700 nm.

Tabla 1. Promedios máximos diarios de radiación ultravioleta y visible de mediciones efectuadas durante el mes de marzo. Las mediciones de Antártica y Punta Arenas fueron obtenidas en el crucero 1993 del Antarctic Marine Living Resources (AMLR). Las mediciones a 0° de latitud (Pacífico ecuatorial) se obtuvieron durante el crucero de 1992 de Alternative Fluorocarbons Environmental Acceptability Study (AFEAS), y las mediciones en Valparaíso se efectuaron entre el 6 - 12 de marzo 1993. Las unidades de medición en los cuatro canales de ultravioleta (308, 320, 340 y 380 nm) son $\mu\text{W cm}^{-2} \text{nm}^{-1}$, mientras que la de PAR es $\mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$.

(nm)	Antártica (62°S 55°W)	Punta Arenas (53°S 70°W)	Valparaíso (33°S 71°W)	Ecuador (0° 98°W)
308	0,31	0,56	1,56	3,60
320	12,1	14,7	24,3	28,0
340	27,0	30,1	33,0	50,0
380	39,7	43,4	44,6	65,1
PAR	0,096	0,11	0,11	0,15

POBLACIONES NATURALES:

Las características de RUV, PAR y temperatura en la columna superior de agua (0-10 m) se presentan en la Fig. 4.

En la atenuación diferencial de la radiación para las distintas longitudes de onda en el ultravioleta, la de 320 nm fue la que se extingió más rápidamente (Fig. 4A). Los coeficientes de atenuación para la RUV y PAR fueron: $k_{320} = 0,991 \text{ m}^{-1}$; $k_{340} = 0,729 \text{ m}^{-1}$; $k_{380} = 0,508 \text{ m}^{-1}$ y $k_{\text{PAR}} = 0,321 \text{ m}^{-1}$. Estos coeficientes de atenuación fueron más altos que en otras zonas del Pacífico (Smith & Baker 1979) debido, fundamentalmente, a la alta concentración de fitoplancton en nuestra zona de muestreo. La concentración media de clorofila-a en las muestras de agua de superficie fue de $6,82 \mu\text{g cl-a l}^{-1}$ ($DS = 1,05 \mu\text{g cl-a l}^{-1}$) y de $8,04 \mu\text{g cl-a l}^{-1}$ ($DS = 0,42 \mu\text{g cl-a l}^{-1}$) a 2 metros de profundidad, para los tres días en que se realizaron incubaciones *in situ*. Estudios previos (Avaria *et al.* 1991) han demostrado que la concentración de cl-a disminuye rápidamente por debajo de la capa superficial de mezcla, llegando a 10 m a una con-

centración que es la mitad del valor en superficie.

La temperatura disminuyó en forma continua con la profundidad, desde un valor de $15,7^\circ\text{C}$ en superficie hasta $13,8^\circ\text{C}$ a 10 m (Fig. 4B). La estructura térmica de los primeros diez metros de la columna de agua sugiere una estratificación en forma discreta, notándose tres gradientes máximos: a 3,5 m; 6,5 m y 9 m.

La incorporación relativa de carbono de las poblaciones naturales al ser incubadas *in situ* se muestra en la Fig. 5. Las muestras que tenían filtros de Mylar (PAR + UV-A) y plexiglas (PAR y RUV-A > 360 nm) se compararon con la de cuarzo (PAR + UV-A y UV-B), a la cual se le asignó arbitrariamente el valor uno. En días relativamente nublados (símbolos en negro) el aumento en la fijación de carbono por parte del fitoplancton en superficie fue inferior al 1% y de aproximadamente 4% para las muestras cubiertas con Mylar y plexiglas, respectivamente. Las muestras incubadas a 2 metros de profundidad no mostraron un

aumento significativo en la fotosíntesis. Sin embargo, en días con mayor radiación solar (símbolos en blanco) el aumento fue del 5% y del 9% para las muestras de superficie y del 2% y 6% para las muestras a 2 metros de profundidad, cuando fueron incubadas con filtros de Mylar (sin RUV-B) y plexiglas (sin RUV-A < 360 nm y RUV-B), respectivamente. Estos aumentos relativos en la fotosíntesis son mucho menores que los

reportados por Holm-Hansen *et al.* (1993b) para el fitoplancton en la Antártica. En dicho estudio las incubaciones *in situ* mostraron un aumento en la incorporación de carbono del 50% y 120% (Mylar y plexiglas, respectivamente) para muestras de superficie y del 20% y 70% para muestras de 2 metros de profundidad. Sin embargo, la disminución en la productividad integrada en la

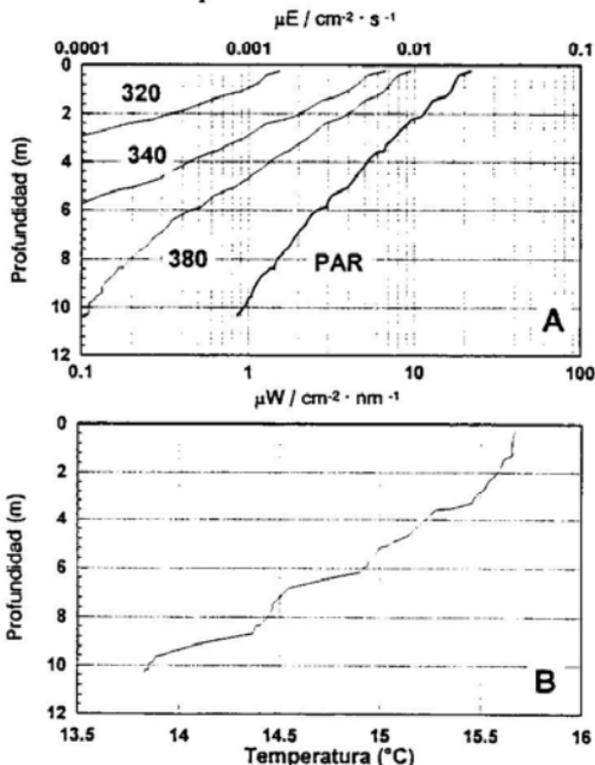


Fig. 4. Características de la columna de agua al momento de ser tomadas las muestras para ser incubadas *in situ*. A) Atenuación espectral de la radiación en función de la profundidad para tres longitudes de onda de ultravioleta (320, 340 y 380 nm) en $\mu\text{W} \text{cm}^{-2}$; y para PAR en $\mu\text{E} \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. B) Temperatura (°C) en función de la profundidad.

zona eufótica debido a radiaciones menores de 360 nm era del 18,5%. En el presente trabajo, la disminución en la productividad primaria dentro de la zona eufótica (1% de la radiación incidente en superficie) debido a la radiación ultravioleta fue menor al 3%, considerando

una profundidad de 14 m para la zona eufótica y estimando, en base a una relación lineal entre clorofila y productividad primaria, que aproximadamente el 20% de la producción integrada se produce en los dos primeros metros de la columna de agua.

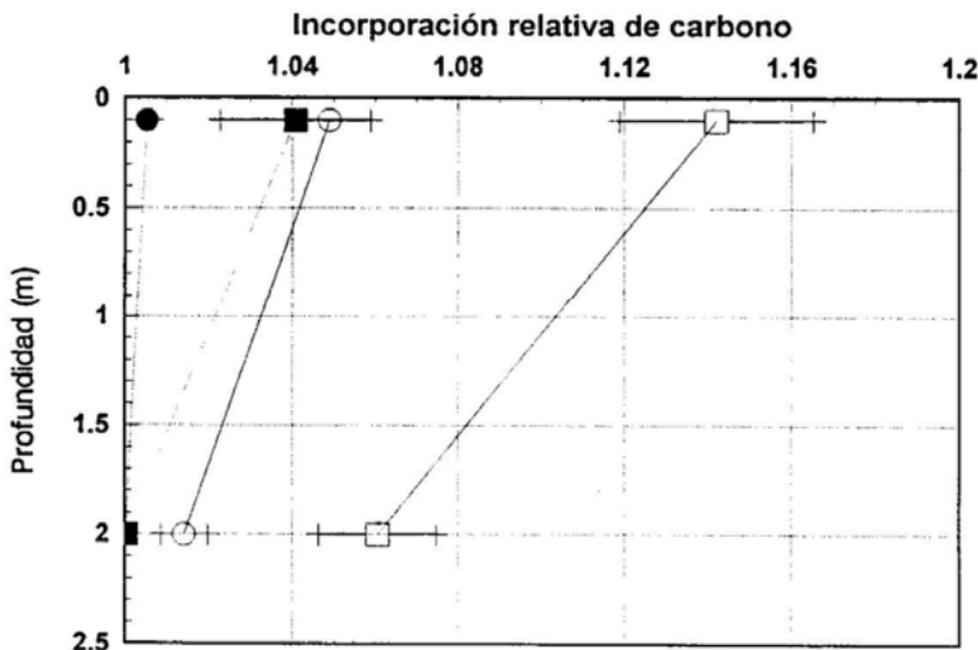


Fig. 5. Resultado de las incubaciones *in situ* realizadas con poblaciones naturales de fitoplancton. Los símbolos negros se refieren a incubaciones realizadas en días con una radiación promedio de $0,0554 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que los símbolos blancos son incubaciones realizadas con una radiación promedio de $0,111 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los símbolos redondos son muestras incubadas con filtro de Mylar (sin RUV-B), mientras que los cuadrados son muestras en plexiglas (sin RUV-A < 360 nm y RUV-B). La incorporación relativa está referida respecto a las muestras en cuarzo, a las que se les asignó el valor arbitrario de 1. Las líneas horizontales indican una desviación standard.

Las especies predominantes en las muestras de fitoplancton fueron las diatomeas: *Leptocylindrus danicus*, *Detonula pumila* y *Chaetoceros compressus*, siendo también relativamente abundante *Bacteriastrium delicatum*. Otras especies de diatomeas observadas fueron *Nitzschia seriata*, *Rhizosolenia stolterfothii*, *Eucampia cornuta* y *Chaetoceros lorenzianus*. En general, los dinoflagelados fueron relativamente escasos en comparación a las diatomeas, y entre las especies de mayor importancia cabe citar a: *Protoperidinium pellucidum*, *P. steinii*, *P. exentricum*, *Ceratium tripos* fo *tripodioides* y *Scrippsiella trochoidea*. Las especies de diatomeas dominantes son características para la zona de estudio y época del año, figurando entre los taxa responsables de las intensas proliferaciones del fitoplancton que se registran en el período de primavera-verano en la bahía de Valparaíso (Avaria et al. 1988). Corresponden a especies r-estratega, con altas tasas de división y elevados requerimientos de nutrientes, bien adaptadas a vivir en áreas de surgencia costera (Avaria et al. 1989).

CULTIVOS MONOESPECIFICOS:

Los cultivos monoespecíficos de *Nannochloris oculata* e *Isochrysis galbana* que fueron incubados con una radiación media de $0,144 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ mostraron ambos un aumento en la incorporación de carbono al ser eliminadas diferentes partes de la RUV (Fig. 6). Cuando se eliminaron las radiaciones UV-B y UV-A, el aumento de la fotosíntesis, en *I. galbana*, con respecto al control (que recibió toda la radiación) fue de 1,6 y 2,6 veces, respectivamente (Fig. 6A). En el caso de *N. oculata* el aumento observado fue de 1,8 y 3,1 veces para Mylar y plexiglas, respec-

tivamente (Fig. 6B). La mayor parte de la inhibición de la fotosíntesis (50-70%) fue debida a la RUV-A, mientras el resto correspondió a la RUV-B. Si bien en las dos especies se observa un aumento en la fotosíntesis al eliminar la RUV, este aumento es menor en *I. galbana*, lo que indicaría una mayor resistencia o adaptabilidad de esta especie a recibir RUV. Es importante notar también que los números de asimilación en *I. galbana* son aproximadamente dos veces más altos que los de *N. oculata*.

Cuando en los cultivos monoespecíficos de *Nannochloris oculata* e *Isochrysis galbana* se midió la evolución de la concentración de cl-a en función del tiempo, fue posible notar una marcada diferencia en la respuesta de cada especie al ser expuesta a distinto tipo de radiación. (Fig. 7). *I. galbana* no mostró diferencias significativas para los distintos tratamientos pero al final del experimento, luego de 7 horas de incubación, la concentración de cl-a fue un 10-15% menor que el valor inicial (tiempo cero). En cambio, *N. oculata* mostró diferencias significativas en los distintos tratamientos, en las muestras que solamente recibieron PAR la concentración de clorofila después de 4,5 horas fue un 70% del valor inicial. En las muestras que además de PAR recibieron RUV, los valores de cl-a fueron un 40% y un 15% del valor inicial, para los tratamientos con filtros de Mylar (RUV-A y PAR) y de Chemglass, respectivamente. En estas experiencias es probable que parte de la disminución en la concentración de cl-a se haya debido a una adaptación del fitoplancton a mayores intensidades de PAR, con el consecuente cambio en la relación carbono/clorofila-a (C/cl-a), hecho que ha sido documentado

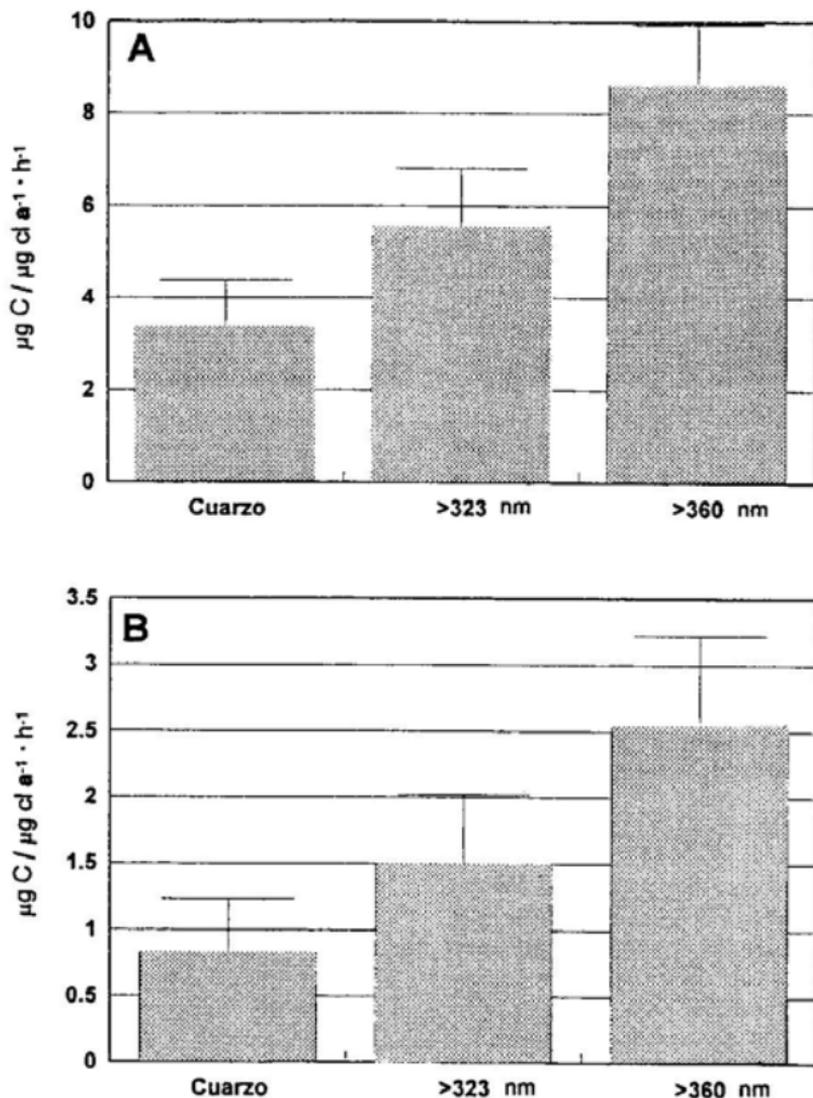


Fig. 6. Aumento relativo en la fotosíntesis en muestras donde partes de la RUV fue filtrada por medio de Mylar (>323 nm) y plexigas (>360 nm) con respecto a muestras en cuarzo, incubadas con una radiación promedio de $0,144 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las líneas verticales indican una desviación standard con respecto a la media. A) Cultivo de *Isochrysis galbana*; B) Cultivo de *Nannodrilus oculata*.

por otros autores (Kiefer 1973, Falkowski 1981). Sin embargo, aún cuando la relación C/cl-a hubiera aumentado, existieron diferencias significativas en los distintos tratamientos de los experimentos realizados con *N. oculata*, mostrando ser un poco más sensible que *I. galbana* a un cambio en la radiación PAR. También en respuesta a la RUV presentó una mayor

sensibilidad teniendo un blanqueo, o clorosis casi completo de la cl-a.

Una de las preguntas de fundamental importancia sobre los efectos de la radiación ultravioleta en ecofisiología del fitoplancton marino es si éste es capaz de adaptarse a un continuo aumento

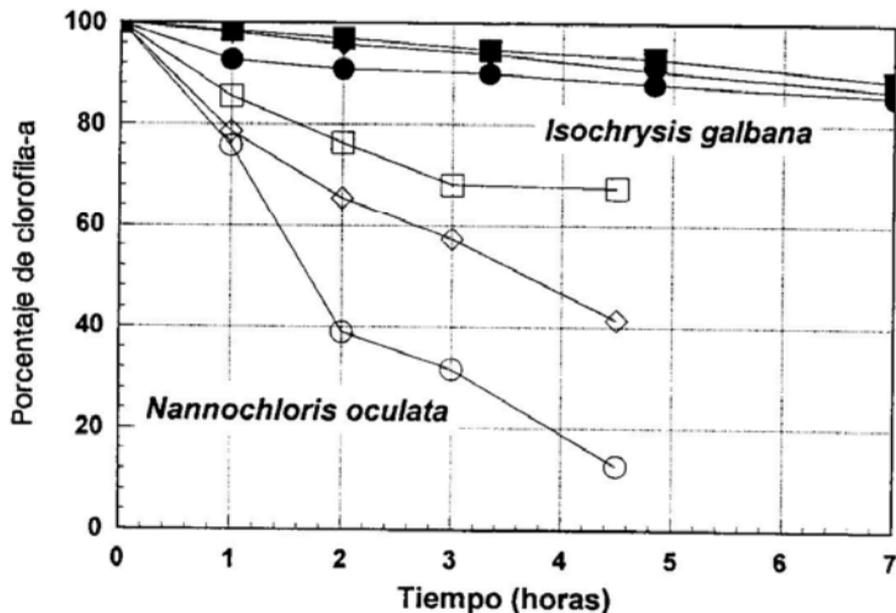


Fig. 7. Concentración de clorofila-a como porcentaje de la concentración inicial en función del tiempo en cultivos de *Nannochloris oculata* (símbolos blancos) e *Isochrysis galbana* (símbolos negros) bajo distintas condiciones de radiación. Los círculos indican muestras expuestas a toda la radiación solar mayor que 295 nm (Chemglas); los rombos indican muestras expuestas a radiaciones mayores que 323 nm (Chemglas y Mylar); y los cuadrados indican muestras expuestas a radiación visible (Chemglas y P-400). La intensidad de radiación PAR promedio recibida por los cultivos durante los experimentos fue de $0,11 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$.

de la RUV. Varios estudios (Dunlap *et al.* 1986, 1988; Karentz *et al.*, 1991a, 1991b) han demostrado la presencia de compuestos que absorben en la región de la RUV, los cuales aparentemente protegen a los organismos. Estos compuestos podrían ser sintetizados por el fitoplancton en horas (Carreto *et al.* 1989, 1990) y aparentemente su concentración es función de la especie considerada, de la radiación que reciben y la profundidad de la capa de mezcla superficial (Helbling *et al.* 1993). En los experimentos realizados durante el presente estudio, se ha seguido especialmente la evolución en el tiempo de estos compuestos en dos cultivos, *Nannochloris oculata* e *Isochrysis galbana*. Esta última, mostró una mayor resistencia a la RUV tanto en la tasa de incorporación de carbono (Fig. 6), como en los cambios en la concentración de cl-a (Fig. 7). Los espectros de absorción realizados con *Nannochloris oculata* (Fig. 8A) mostraron un cambio notorio luego de ser expuestos 4,5 horas a la radiación ultravioleta. Sin embargo *Isochrysis galbana* (Fig. 8B) no presentó diferencia significativas luego de 7 horas de exposición a la radiación ultravioleta. Es importante hacer notar que ninguna de estas dos especies mostró, durante el tiempo que duró esta experiencia, evidencias de síntesis de compuestos que absorbieran en la región del ultravioleta. Sin embargo, en muestras de fitoplancton proveniente de condiciones naturales (Fig. 8C) es evidente un máximo de absorción alrededor de 320-330 nm, lo que indicaría una aparente "protección" de las poblaciones naturales hacia la radiación ultravioleta.

En la Fig. 9 se resumen los valores de aumento relativo en la incorporación de carbono obtenidos para distintas es-

pecies fitoplanctónicas al recibir diferentes dosis de radiación. Los datos en la ordenada se refieren al aumento en las muestras que sólo recibieron PAR con respecto a muestras que recibieron PAR y RUV. Aunque las distintas especies respondieron de manera diferente, fue posible observar un valor umbral (entre 5-10 $\mu\text{W cm}^{-2}$) a 320 nm y con un promedio de PAR alrededor de los 0.048 $\mu\text{E cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ por debajo del cual las especies mostraron muy poca o casi ninguna inhibición de la fotosíntesis debido a la RUV. Por encima de este valor la inhibición aumentó rápidamente, resultando en una mayor incorporación de carbono al ser eliminada la RUV. Si bien este valor de 5-10 $\mu\text{W cm}^{-2}$ parece ser el umbral de tres de las especies en estudio (*Nannochloris oculata*, *Dunaliella terctiolecta* y *Chaetoceros gracilis*), *Isochrysis galbana* parece tenerlo un poco más alto (alrededor de 15 $\mu\text{W cm}^{-2}$). En las especies antárticas el umbral reportado por Helbling *et al.* (1993) fue de 3.1 $\mu\text{W cm}^{-2}$ a 320 nm. La intensidad de saturación (I_k), en curvas P versus I, de las cuatro especies de microalgas estudiadas fue menor que 0,0075 $\mu\text{E cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y los valores de P_{max} oscilaron entre 2,5 y 9 $\mu\text{g C} (\mu\text{g chl-a})^{-1} \text{h}^{-1}$ según la especie y no se observó ningún aumento significativo al eliminar o atenuar la RUV. Esto es coherente, ya que los valores de I_k son menores que la radiación umbral señalada anteriormente.

Si bien el presente estudio indicaría que las poblaciones naturales y/o los cultivos monoespecíficos usados en los experimentos serían más resistentes que las poblaciones de altas latitudes, queda todavía mucho trabajo por delante a fin de entender los mecanismos que posibilitarían esta mayor resistencia.

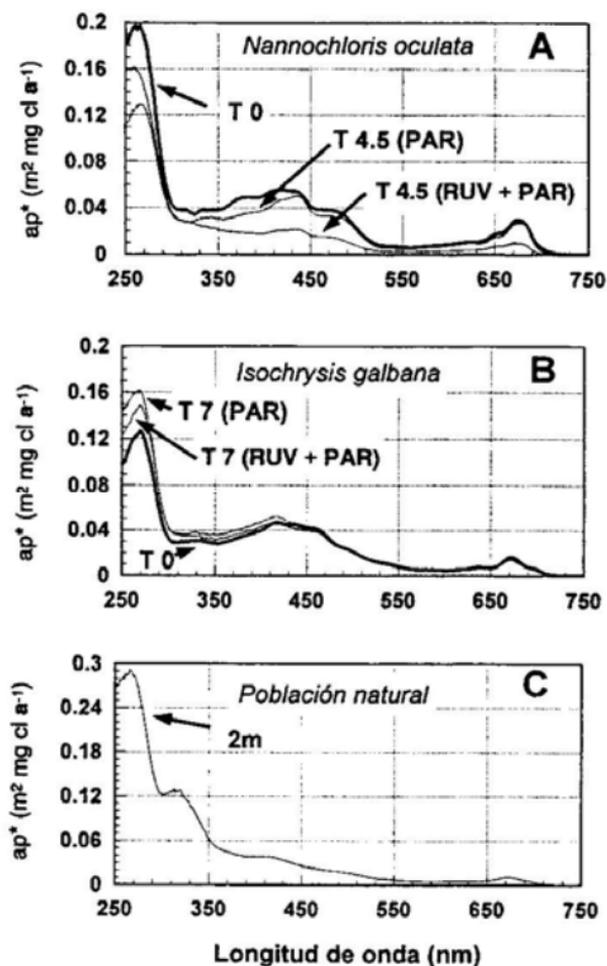


Fig. 8. Absorción específica del fitoplancton en función de la longitud de onda. A) cultivo de *Nannochloris oculata* al inicio (T_0) y luego de 4,5 horas ($T_{4.5}$) de exposición a la radiación solar; b) cultivo de *Isochrysis galbana* al inicio (T_0) y luego de 7 horas (T_7) de exposición a la radiación solar; C) muestra de población natural a 2 m de profundidad.

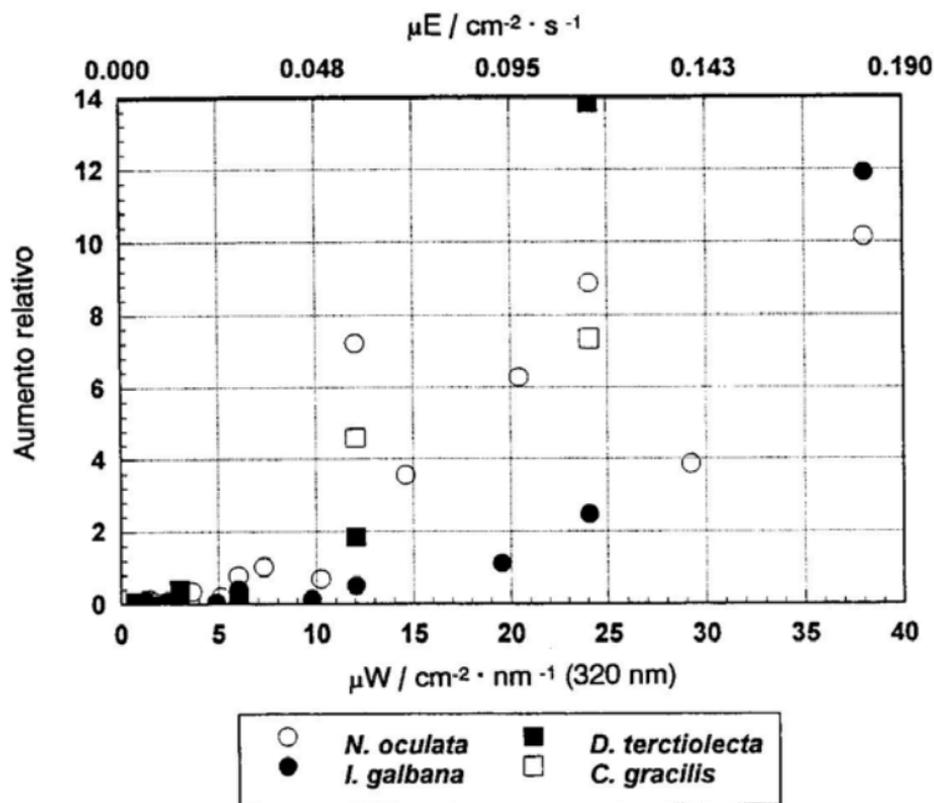


Fig. 9. Aumento relativo en la incorporación de carbono en distintos cultivos fitoplanctónicos, al ser eliminada toda la radiación ultravioleta por medio de un filtro P-400, bajo distintas intensidades de radiación. En cada abscisa se señala a modo de referencia la radiación recibida por los cultivos de RUV a 320 nm y PAR.

AGRADECIMIENTOS: El presente trabajo fue financiado parcialmente por Alternative Fluorocarbons Environmental Acceptability Study (AFEAS), la Escuela de Ciencias del Mar de la Universidad Católica de Valparaíso, el Instituto de Oceanología de la Universidad de Valparaíso y el proyecto Fondecyt 1143-9f. Agradecemos a Eduardo Uribe (Universidad Católica del Norte) por habernos facilitado las cepas fitoplanctónicas, y a Noé Cáceres, Wanda García, Pablo Muñoz, Sergio Palma, Daniel Quiroz y Víctor Villanueva por su ayuda durante los trabajos. Finalmente deseamos agradecer a Nelson Silva y Osmund Holm-Hansen, sin cuya ayuda este trabajo no se hubiera podido completar.

LITERATURA CITADA

- Avaria, S.; Muñoz, P. & M. Braun. 1988. El fitoplancton frente a península Los Molles, Valparaíso, Chile (32° 45') y su relación con "El Niño" 1982-1983. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 24(1): 1-35.
- Avaria, S.; Palma, S.; Sievers, H. & N. Silva. 1989. Revisión sobre aspectos oceanográficos físicos, químicos y planctológicos de la bahía de Valparaíso y áreas adyacentes. *Biología Pesquera* 18: 67-96.
- Avaria, S. & P. Muñoz. 1991. Caracterización del fitoplancton de un área de desove de merluza frente a la costa central de Chile. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 26(1): 161-190.
- Carreto, J.J.; De Marco, S.G. & V.A. Lutz. 1989. UV-absorbing pigments in the dinoflagellates *Alexandrium excavatum* and *Prorocentrum micans*, effects of light intensity. En: Okaichi, T.; Anderson, D.M. & T. Nemoto, (eds). *Red Tides: 333-339*. Elsevier Science Pub. Inc., New York.
- Carreto, J.J.; Carignan, M.O.; Daleo, G. & S.G. De Marco. 1990. Occurrence of mycosporine-like amino acids in the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavatum*: UV-photoprotective compounds?. *Journal of Plankton Research* 12: 909-921.
- Dunlap, W.C.; Chalker, B.E. & J.K. Oliver. 1986. Bathymetric adaptations of reef-building corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 104: 239-248.
- Dunlap, W.C.; Chalker, B.E. & W.M. Bandaranayake. 1988. Ultraviolet light absorbing agents derived from tropical marine organisms of the great barrier reef, Australia. *Proceedings of the VIth International Coral Reef Symposium* 3: 89-93.
- El-Sayed, S.Z. 1988. Fragile life under the ozone hole. *Natural History* 97: 72-80.
- Falkowski, P.G. 1981. Light-shade adaptation and assimilation numbers. *Journal of Plankton Research* 3(2): 203-216.
- Farman, J.C.; Gardiner, B.G. & J.D. Shanklin. 1985. Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO_x/NO_x interaction. *Nature* 315: 207-210.
- Frederick, J.E.; Snell, H.E. & E.K. Haywood. 1989. Solar ultraviolet radiation at the earth's surface. *Photochemistry and Photobiology* 50: 443-450.

- Gleason, J.F.; Bhartia, P.K.; Herman, J.R.; McPeters, R.; Newman, P.; Stolarski, R.; Flynn, L.; Larko, D.; Seftor, C.; Wellemeyer, C.; Komhyr, W.D.; Miller, A.J. & W. Planet. 1993. Record low global ozone in 1992. *Science* **260**: 523-526.
- Guillard, R.R.L. & J.H. Ryther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology* **8**: 229-239.
- Gribbin, J. 1988. *The hole in the sky: man's threat to the ozone layer*. 192 p. Bantam Books, New York.
- Helbling, E.W.; Villafañe, V.; Ferrario, M. & O. Holm-Hansen. 1992. Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Marine Ecology Progress Series* **80**: 89-100.
- Helbling, E.W.; Villafañe V. & O. Holm-Hansen. 1993. Effects of UVR on antarctic marine phytoplankton photosynthesis: influence of mixing. En: Weiler, S. & P. Penhale, (eds). *Ultraviolet Radiation and Biological Research in Antarctica*. AGU Antarctic Research Series. En Prensa.
- Holm-Hansen, O. & E.W. Helbling. 1993. Polyethylene bags and solar ultraviolet radiation. *Science* **259**: 534.
- Holm-Hansen, O.; Lubin, D. & E.W. Helbling. 1993a. UVR and its effects on organisms in aquatic environments. En: Björn L.O., Moan, J. & A.R. Young, (eds). *Environmental UV Photobiology*. Plenum Press. pp: 379-425.
- Holm-Hansen, O.; Helbling, E.W. & D. Lubin. 1993b. Ultraviolet Radiation in Antarctica: Inhibition of Primary Production. *Photochemistry and Photobiology*. **58**(4): 567-570.
- Karentz, D.; McEuen, F.S.; Land, M.C. & W.C. Dunlap. 1991a. Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Marine Biology* **108**: 157-166.
- Karentz, D.; Cleaver, J.E. & D.L. Mitchell. 1991b. Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *Journal of Phycology* **27**: 326-341.
- Kishino, M.; Takahashi, M.; Okami, N. & S. Ichimura. 1985. Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. *Bulletin of Marine Sciences* **37**: 634-642.
- Lubin, D. & J.E. Frederick. 1991. The ultraviolet radiation environment of the antarctic peninsula: The roles of ozone and cloud cover. *Journal of Applied Meteorology* **30**: 478-493.
- Roberts, L. 1989. Does the ozone hole threaten Antarctic life? *Science* **244**: 288-289.
- Rowland, F.S. 1989. Chlorofluorocarbons and the depletion of stratospheric ozone. *American Scientist* **77**: 36-45.
- Smith, R.C. & K.S. Baker. 1979. Penetration of UV-R and biologically effective dose-rates in natural waters. *Photochemistry and Photobiology* **29**: 311-323.

- Smith, R.C.; Prezelin, B.B.; Baker, K.S.; Bidigare, R.R.; Boucher, N.P.; Coley, T.; Karentz, D.; MacIntyre, S.; Matlick, H.A.; Menzies, D.; Ondrusek, M.; Wan, Z. & K.J. Waters. 1992. Ozone depletion: Ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science* 255: 952-959.
- Steeman-Nielsen, E. 1952. The use of radioactive carbon (C^{14}) for measuring organic production in the sea. *Journal de Conseil Pour L' Exploration de la Mer*, 18: 117-140.
- Strickland, J.D.H. & T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analyses. 310 p. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167, Canada.
- Voytek, M.A. 1989. Ominous future under the ozone hole. 69 p. Environmental Defense Fund, Washington, D.C.
- Voytek, M.A. 1990. Addressing the biological effects of decreased ozone on the Antarctic environment. *Ambio* 19: 52-61.

Manuscrito recibido en julio de 1993 y aceptado en octubre de 1993.