

Aclimatación y sensibilidad de especies fitoplanctónicas antárticas a la radiación ultravioleta solar

Aclimation and sensitivity of Antarctic phytoplankton species to solar ultraviolet radiation

Humberto G. Díaz¹, Sergio Avaria², Virginia E. Villafañe³ y E. Walter Helbling³

¹INGEMAR S.A., Casilla 1443, Valparaíso, Chile. ingemar@netup.cl

²Instituto de Oceanología, Universidad de Valparaíso, Casilla 13-D, Viña del Mar, Chile. savaria@uv.cl

³Laboratorio de Fotobiología y Productividad Primaria, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia - Sede Trelew, Casilla de Correos 153, (9100), Trelew - Chubut, Argentina. fotobiol@plancton.satlink.net

RESUMEN

Este trabajo se realizó en la estación Palmer (Antártica) durante la primavera austral de 1994. Se aislaron cuatro especies del fitoplancton antártico: *Thalassiosira* sp., *Corethron criophilum* Castracane, *Fragilariopsis cylindrus* (Grunow) Krieger y *Phaeocystis antarctica* Karsten, para realizar experimentos con el objeto de evaluar los efectos de la radiación ultravioleta solar (RUV) en la fotosíntesis. Se efectuaron experimentos de corto plazo (menos de un día) y de largo plazo (varios días), para investigar la posibilidad de aclimatación del fitoplancton a la RUV solar. Los datos indican que hay mucha variabilidad en cuanto a los efectos de la RUV sobre las tasas fotosintéticas en las especies consideradas. Las diatomeas centrales fueron las menos afectadas mientras que *P. antarctica* fue la especie más inhibida. Los cultivos que fueron pre-expuestos a la RUV durante tres días tuvieron mayores tasas fotosintéticas al compararse con la misma especie no expuesta previamente a la RUV. Uno de los mecanismos para aclimatarse a la RUV solar fue la síntesis de compuestos que absorben en la región del UV, siendo las diatomeas Centrales aquellas con mayor tasa de síntesis y concentración de estos compuestos. El presente trabajo muestra que aunque en experimentos de corto plazo, las cuatro especies mostraron alta inhibición en la fotosíntesis, ésta se reducía cuando el fitoplancton podía aclimatarse por unos días a la RUV. Si esta misma tendencia se observa en otras especies de fitoplancton antártico, los efectos de la RUV sobre la productividad primaria serían menores que lo estimado en anteriores investigaciones.

Palabras clave: Fitoplancton, radiación ultravioleta, aclimatación, sensibilidad, Antártica.

ABSTRACT

This work was conducted at Palmer Station (Antarctica) during the austral spring of 1994. Four Antarctic phytoplanktonic species (*Thalassiosira* sp., *Corethron criophilum* Castracane, *Fragilariopsis cylindrus* (Grunow) Krieger and *Phaeocystis antarctica* Karsten), were isolated to carry out experiments to evaluate the effects of solar ultraviolet radiation (UVR) upon photosynthesis. Short term (less than a day) and long term experiments (several days) were done to assess the possibility of phytoplankton acclimation to solar UVR. Our data indicate that there is much variability in the effect of UVR upon photosynthetic rates in the species studied. Centric diatoms were the least affected while *P. antarctica* was the most inhibited. The cultures that were pre-exposed to UVR during three days had higher photosynthetic rates compared to that of the same species not previously exposed. One of the mechanisms to acclimate to solar UVR was the synthesis of UV-absorbing compounds. Centric diatoms showed the highest rate of synthesis and higher concentration of these compounds. Our work shows that the four species had high inhibition of photosynthesis during short term experiments. However, the inhibition was significantly reduced when phytoplankton was able to acclimate after few days of exposition to solar UVR. If a similar trend is also observed in other species of Antarctic phytoplankton, then the overall impact of solar UVR upon primary production in Antarctic waters could be less severe than previously thought.

Key words: Phytoplankton, ultraviolet radiation, acclimation, sensitivity, Antarctica.

INTRODUCCION

Uno de los problemas ambientales actuales que más preocupa a la población mundial tiene relación con la disminución de la capa de ozono en Antártica, debida principalmente a las emisiones de compuestos de clorofluorocarbono o CFCs (Solomon *et al.* 1986, Rowland 1989). Esta situación, que ocurre principalmente durante la primavera austral, ha pasado a denominarse corrientemente agujero de ozono. Pese a que este fenómeno ha sido documentado desde 1957 por científicos ingleses en bahía Halley, Antártica (Farman *et al.* 1985), recién en la década de los 80 comenzaron a realizarse estudios multidisciplinarios que establecieron los cambios temporales y el incremento de la radiación ultravioleta B (RUV-B, 280-320 nm) como consecuencia de la reducción del ozono estratosférico (Lubin *et al.* 1989, Lubin & Frederick 1991). Las primeras investigaciones destinadas a estudiar los efectos que tendría este aumento de la RUV en el fitoplancton antártico (El-Sayed 1988, El-Sayed *et al.* 1990), pronosticaron grandes cambios en el ecosistema debido a una disminución de la productividad primaria, hecho que fue reafirmado por Gribbin (1988) y Voytek (1989, 1990). Sin embargo, otros estudios realizados en los últimos años en aguas antárticas, han demostrado que los efectos del aumento de la RUV-B, como consecuencia de la disminución del ozono, no serían tan dramáticos como se pensaba en un principio, estimándose que la producción primaria diaria se reduciría en 3,8% (Holm-Hansen *et al.* 1993) o entre 6 y 12% (Smith *et al.* 1992).

Por otra parte, los estudios realizados con fitoplancton de aguas tropicales muestran una menor inhibición de la fotosíntesis al ser expuestos a la RUV, dando lugar a la hipótesis de que éste estaría fotoadaptado evolutivamente para recibir una mayor cantidad de RUV en comparación al fitoplancton

de zonas polares (Helbling *et al.* 1992). Sin embargo, es necesario destacar que la mayoría de los estudios para estimar el impacto de la RUV en la tasa fotosintética del fitoplancton antártico han sido efectuados durante períodos cortos de tiempo, menores a un día (Helbling *et al.* 1992, Smith *et al.* 1992, Holm-Hansen *et al.* 1993, Prezelin *et al.* 1994, entre otros), por lo cual los resultados no pueden extrapolarse a períodos más largos de tiempo. Asimismo, la RUV no afecta de igual manera a todos los organismos del fitoplancton y existen grandes variaciones entre especies, como también entre grupos fitoplanctónicos, tanto en su sensibilidad como en sus respuestas celulares frente al daño inducido por ésta (Worrest *et al.* 1981, El-Sayed 1988, Karentz *et al.* 1991a, b, Helbling *et al.* 1992, Davidson & Marchant 1994, Helbling *et al.* 1994, Vernet *et al.* 1994, Karentz 1994, Villafañe *et al.* 1995). En este estudio se realiza una estimación de la fotoaclimatación de especies seleccionadas del fitoplancton marino antártico, al ser expuestas a la RUV solar y se evalúa la sensibilidad diferencial de estas especies.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en aguas antárticas hacia finales de la primavera austral (noviembre y diciembre) de 1994, en la Estación Palmer, base de los Estados Unidos de Norteamérica (64,8° S; 64,1° W), situada en la costa sur de la isla Anvers (Fig. 1).

CULTIVOS MONOESPECIFICOS DE FITOPLANCTON ANTARTICO

Se aislaron cuatro especies del fitoplancton marino antártico, tres pertenecientes a la clase Bacillariophyceae: *Corethron criophilum* Castracane, *Thalassiosira* sp. y *Fragilariopsis cylindrus* (Grunow) Krieger, y una especie perteneciente a la clase Prymnesiophyceae: *Phaeocystis antarctica*

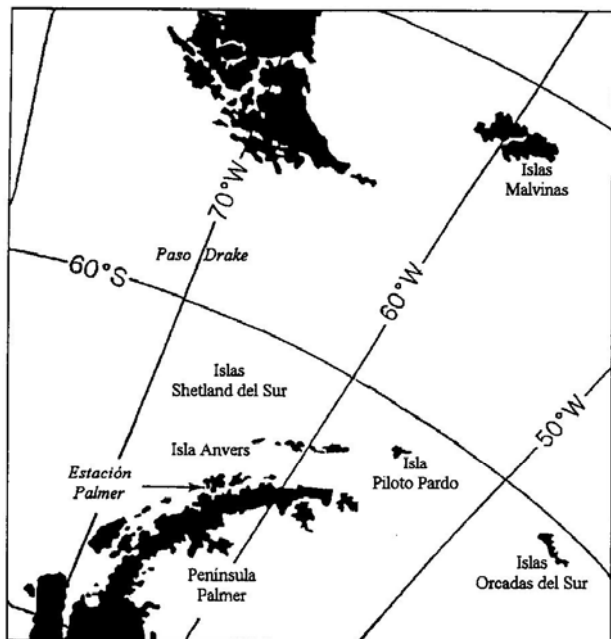


Figura 1

Figura 1. Mapa de la Península Antártica. La Estación Palmer, EE.UU. (lugar donde se realizó este trabajo), se señala con una flecha.

Figure 1. Map of the Antarctic Peninsula showing the location of Palmer Station, USA (place where this work was carried out).

Karsten. Estas fueron obtenidas de comunidades naturales provenientes de aguas de Arthur Harbor, aislándose cada especie en agua de mar filtrada y suplementándose inicialmente con medio f (Guillard & Rhyter 1962) a diferentes diluciones. Los cultivos de cada una de las especies fueron mantenidos en fase exponencial en botellas de policarbo-

nato de 4 litros, hasta el momento de ser usados en experimentos. Cada cultivo se mantuvo en una cámara equipada con lámparas fluorescentes luz-día, recibiendo $250 \mu\text{Einsteins m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación PAR (Photosynthetic Available Radiation, 400-700 nm), con un fotoperíodo 15:9 (L:O) y a una temperatura entre 0-2 °C. En el momento de

ser utilizados en los experimentos, cada cultivo se repartió en dos balones de cuarzo de 2 litros de capacidad: uno cubierto con un filtro Plexiglas UF-3 (50% de transmisión a 400 nm), de manera que las muestras recibieran solo PAR; y el otro, sin filtro, lo que permitió que las muestras recibiesen PAR y RUV. Los dos balones fueron expuestos a la radiación solar durante tres días, en un baño en el cual circulaba agua de mar superficial como control de temperatura (0-2 °C). Después de este período, las muestras de cada recipiente fueron repartidas en dos balones de un litro de capacidad, uno de los cuales tenía un filtro de UF-3, siendo posteriormente inoculadas con

$\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$, (5 $\mu\text{Ci}/100$ ml) y puestas inmediatamente en el baño de agua para ser incubadas durante 83 horas. De esta forma se obtuvieron dos cultivos expuestos previamente a la RUV (pre-expuestos), uno de ellos expuesto a PAR + RUV y el otro sólo PAR; y dos cultivos sin exposición previa a RUV (no pre-expuestos), uno de ellos recibiendo PAR + RUV y el otro sólo PAR. Las condiciones y tratamientos que recibieron los cultivos se esquematizan en la Figura 2. Con los datos de incorporación de carbono radiactivo se calculó para cada cultivo el aumento relativo de la fotosíntesis al ser eliminada la RUV, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Aumento relativo de la fotosíntesis} = \frac{^{14}\text{C}(\text{PAR}) - ^{14}\text{C}(\text{PAR}+\text{RUV})}{^{14}\text{C}(\text{PAR}+\text{RUV})}$$

siendo $^{14}\text{C}(\text{PAR})$ y $^{14}\text{C}(\text{PAR}+\text{RUV})$ la incorporación de ^{14}C en los balones que recibieron PAR y PAR + RUV, respectivamente.

MEDICIONES REALIZADAS

Al momento de iniciar los experimentos (T_0 , después de los tres días de exposición) y con una frecuencia variable entre 1,5 y 18 horas, se tomaron las siguientes muestras o mediciones en cada uno de los balones: clorofila *a*, incorporación de ^{14}C , espectros de absorción y radiación solar.

La concentración de clorofila *a* se obtuvo filtrando 10-50 ml de muestra a través de filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/F, 25 mm) y extrayendo con 10 ml de metanol absoluto por 2 horas, en oscuridad y a 4 °C (Holm-Hansen & Riemann 1978). Una vez extraídos los pigmentos, se midió la fluorescencia del extracto en un fluorómetro Turner Designs (modelo AU-10), antes y después de su acidificación con HCl 1N (Holm-Hansen *et al.* 1965). Con este valor se estimó la concentración de clorofila *a* utilizando las fórmulas de Strickland & Parsons (1972).

Las mediciones de incorporación de carbono radiactivo (^{14}C) se efectuaron con la técnica de Steeman-Nielsen (1952). Las incubaciones de las muestras se realizaron con radiación solar natural, extrayendo alícuotas de 20-50 ml de muestra que se filtraron en filtros Whatman GF/F (25 mm). Posteriormente, los filtros se colocaron en frascos de 7 ml y se expusieron a vapores de HCl concentrado por 3-4 horas para eliminar restos de carbono inorgánico. Una vez secos los filtros, se les agregó líquido de centelleo (Ecolume, ICN) y se midió la actividad en un contador de centelleo líquido (Wallac, modelo 1409). La metodología general utilizada es la descrita por Holm-Hansen & Helbling (1995).

Para obtener los espectros de absorción de cada especie, se filtraron 100-200 ml de muestra a través de filtros Whatman GF/F (25 mm). Cada filtro con el material particulado retenido fue colocado en un tubo de ensayo con 10 ml de metanol absoluto durante 2 horas, para la extracción de pigmentos y sustancias solubles en ese alcohol. Posteriormente, el extracto se colocó en

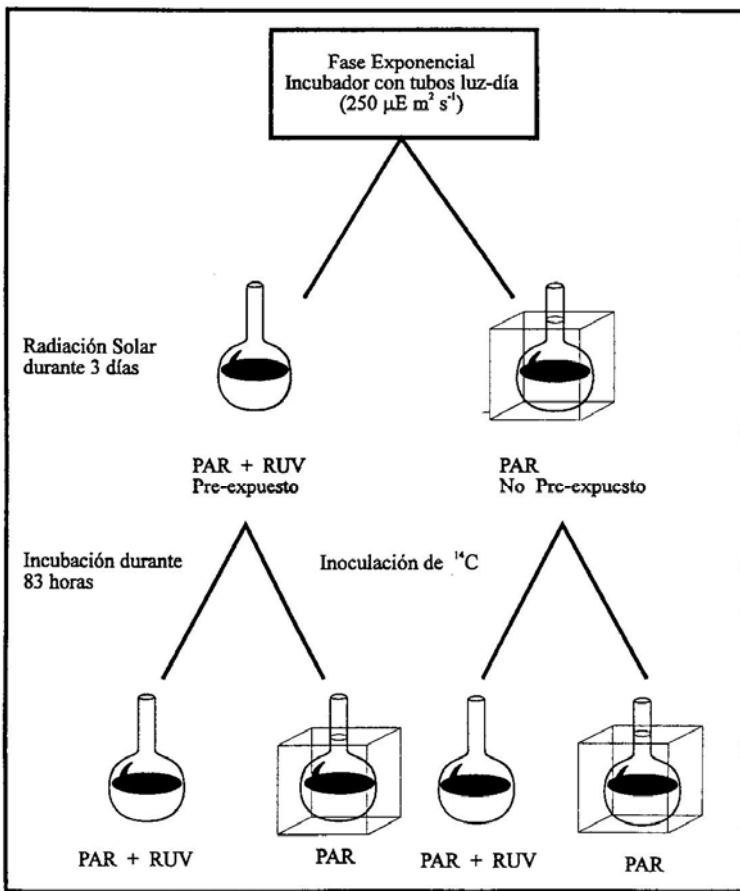


Figura 2. Esquema indicando el mantenimiento, tiempos de exposición y tratamientos a que fueron expuestos los cultivos de fitoplancton.

Figure 2. Flow diagram indicating the conditions at which phytoplankton was maintained, time of exposure and treatments to which cultures were exposed.

cubetas de cuarzo de 10 cm de paso óptico y se obtuvieron los espectros de absorción entre 250 a 750 nm, usando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 6 UV/VIS (Helbling *et al.* 1996).

Las mediciones de radiación solar incidente se realizaron con un espectroradiómetro (PUV-510, Biospherical Instruments Inc.), provisto de cuatro canales espectrales de medición en la región del ultravioleta (305, 320, 340 y 380 nm) y un canal de banda ancha para la medición de PAR (400-700 nm). Este equipo, conectado por medio de una interfase a un computador, se instaló cerca de los baños de agua donde se realizaron los experimentos, obteniendo datos una vez por minuto. Otros datos adicionales de radiación solar natural se obtuvieron con un espectroradiómetro SUV-100 (Biospherical Instruments Inc.) perteneciente a la red de monitoreo de radiación de la Fundación Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de Norteamérica, NSF-USA (Booth *et al.* 1994). Estos datos se utilizaron para estimar la concentración de ozono en unidades Dobson (U.D.) al mediodía local (Lubin & Frederick 1990) durante el período de estudio.

Para probar estadísticamente las diferencias en las tasas de incorporación de carbono entre los diferentes tratamientos, se aplicó a los datos el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, utilizando un nivel de significancia del 5% (Sokal & Rohlf 1979). Este test también fue aplicado a los datos de ozono, PAR, RUV-A y RUV-B para cada período de incubación, con el fin de determinar las diferencias entre las concentraciones de ozono predominantes y la radiación recibida en cada experimento.

RESULTADOS

En la Figura 3 se muestran las condiciones meteorológicas de radiación solar (RUV y

PAR) y concentración de ozono durante el período de estudio (15 de noviembre-16 de diciembre). La concentración de ozono estratosférico (Fig. 3A) fue relativamente baja, entre 200 y 250 U.D. durante la primera semana de estudio, pero aumentó hacia finales de noviembre, llegando a valores mayores de 300 U.D. durante diciembre. En los datos de radiación solar incidente, tales como PAR, RUV-A y RUV-B se observó una gran variabilidad debida, fundamentalmente, a cambios en la nubosidad. Los valores diarios de PAR (Fig. 3B), oscilaron entre 5 y 25 Einsteins $m^{-2} día^{-1}$, mientras que los valores integrados de RUV-A (320-400 nm, Fig. 3C) y de RUV-B (280-320 nm, Fig. 3D), mostraron una marcada variación durante el tiempo de estudio. La Tabla 1 resume las condiciones de radiación PAR, RUV-A, RUV-B y concentraciones de ozono durante las incubaciones realizadas con cada uno de los cultivos. No hubo una diferencia significativa ($P > 0,05$) entre estos datos, indicando que los cultivos fueron expuestos a similares condiciones en cada experimento. En todos los experimentos se observó un incremento en la tasa de incorporación de carbono cuando se realizaron incubaciones sin recibir RUV, con respecto a aquellas que recibieron PAR + RUV.

En la Figura 4 se muestran las curvas del aumento relativo de la fotosíntesis en los cultivos de *Thalassiosira* sp. Las muestras no pre-expuestas a la RUV (Fig. 4A) presentaron un aumento significativo en la tasa fotosintética de aproximadamente 1,3 al comienzo del experimento. Sin embargo, este aumento relativo en la fotosíntesis disminuyó en forma exponencial y al final del experimento su valor fue de alrededor de 0,1. Las muestras pre-expuestas a la RUV mostraron un aumento en la tasa fotosintética de alrededor de 0,25 al inicio del experimento y de alrededor del 0,05 al final (Fig. 4B).

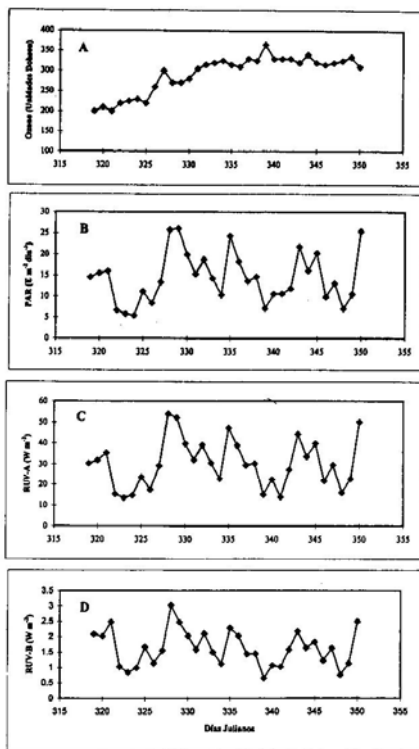


Figura 3. Radiación ultravioleta solar y concentración de ozono al mediodía local y dosis diaria de PAR en función de los días julianos desde el 15 de noviembre (día juliano 319) al 16 de diciembre de 1994 (día juliano 350). A: concentración de ozono en Unidades Dobson (U.D.). B: dosis diaria de PAR ($E\ m^{-2}\ d^{-1}$). C: RUV-A, 320-400 nm ($W\ m^{-2}$). D: RUV-B, 280-320 nm ($W\ m^{-2}$).

Figure 3. Solar ultraviolet radiation and ozone concentration at local noon and daily doses of PAR from November 15 (Julian day 319) to December 16 (Julian day 350). A: Ozone concentration in Dobson Units (DU). B: Daily doses of PAR ($E\ m^{-2}\ d^{-1}$). C: UV-A, 320-400 nm ($W\ m^{-2}$). D: RUV-B, 280-320 nm ($W\ m^{-2}$).

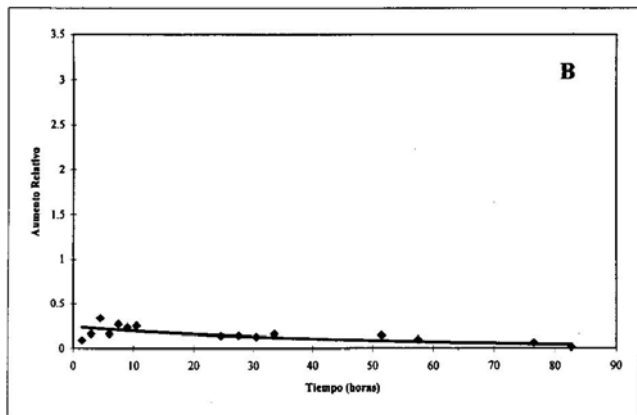
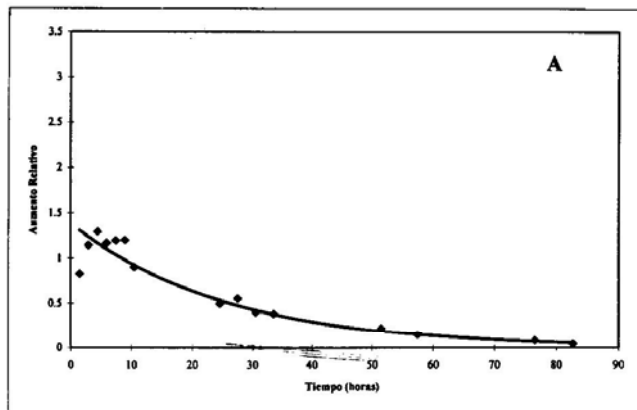


Figura 4. Aumento relativo de la fotosíntesis en cultivos de *Thalassiosira* sp. A: cultivos no pre-expuestos a la RUV. B: cultivos pre-expuestos a la RUV. Explicación en el texto. La línea continua representa el ajuste de los datos mediante una función exponencial.

Figure 4. Relative photosynthetic enhancement of *Thalassiosira* sp. A: Cultures not pre-exposed to UVR. B: Cultures pre-exposed to UVR. Explanation in the text. The line indicates the data fit using an exponential function.

En la Figura 5 se muestra el aumento de la fotosíntesis en los cultivos de *Corethron criophilum* pre-expuestos y no pre-expuestos a la RUV. En los cultivos no expuestos previamente a RUV (Fig. 5A), el aumento de la fotosíntesis al comienzo de la incubación fue de aproximadamente 0,5; este valor disminuyó hasta llegar a 0,2 hacia el final del experimento. En los cultivos pre-expuestos a la RUV este aumento fue relativamente constante durante todo el experimento, con valores de aproximadamente 0,2 (Fig. 5B).

Los cultivos de *Fragilariopsis cylindrus* sin pre-exposición a la RUV (Fig. 6A), tuvieron un aumento significativo en la tasa fotosintética al comienzo del experimento, con valores cercanos a 0,8, los que luego disminuyeron hasta llegar a aproximadamente 0,2 al final del período de incubación. El aumento de la fotosíntesis en los cultivos pre-expuestos a la RUV de la misma especie (Fig. 6B) varió relativamente poco a lo largo del período de incubación, entre 0,5 y 0,2.

Al graficar el aumento relativo de la fotosíntesis para los cultivos de *P. antarctica* pre-expuestos y no-previamente expuestos a la RUV solar (Fig. 7), se observa que los valores disminuyen paulatinamente con el tiempo de exposición a la RUV. Los cultivos sin previa exposición a la RUV solar tuvieron cerca de 3,5 en el aumento en la tasa fotosintética al comienzo del período de incubación (Fig. 7A), pero este valor disminuyó marcadamente luego del primer día de experimentación, llegando a valores de aproximadamente 0,6 luego de 83 horas de exposición. Sin embargo, el aumento en la tasa fotosintética fue mucho menor en los cultivos pre-expuestos a la RUV, siendo de aproximadamente 0,4 al comienzo del experimento y de 0,1 al final (Fig. 7B).

En la Figura 8 se muestran los espectros de absorción para las especies estudiadas,

con y sin previa exposición a la RUV. En el caso de las diatomeas centrales *Thalassiosira* sp. y *C. criophilum* (Figs. 8A y B) la síntesis de MAAs, cuya absorbancia se sitúa entre los 310 y los 360 nm, se encuentra relacionada con la exposición a la RUV. Una situación diferente presentan las especies *F. cylindrus* y *P. antarctica* (Figs. 8C y D), donde, luego de la exposición a RUV solar, no se detectó síntesis de MAAs, siendo sus concentraciones bajas durante el período de experimentación.

DISCUSION

Al evaluar el impacto de la RUV sobre la fotosíntesis del fitoplancton, es necesario considerar experimentos de largo plazo, a fin de poder entender procesos que puedan ocurrir en escalas de tiempo mayores al necesario para realizar fotosíntesis. Algunos estudios que se han realizado durante varios días de experimentación han sugerido que, a largo plazo, las comunidades fitoplanctónicas podrían aclimatarse a la RUV (Bothwell *et al.* 1993, 1994). El fitoplancton antártico tendría esta capacidad de aclimatarse a la RUV tal como se demuestra en varios estudios anteriores (Helbling *et al.* 1994, 1996, Villafañe *et al.* 1995), siendo esta aclimatación dependiente del tiempo de exposición y del tipo de radiación recibida.

En nuestros experimentos realizados con cultivos mono-específicos de fitoplancton antártico, se observó que los cultivos no expuestos previamente a la RUV eran más sensibles a la radiación solar que los que habían sido previamente expuestos a esta radiación. Aunque en estos dos tratamientos se detectó una inhibición de la fotosíntesis debida al RUV, ésta fue significativamente mayor en los cultivos que no habían sido expuestos previamente a la RUV (Figs. 4, 5, 6 y 7), especialmente durante los dos primeros días de incubación.

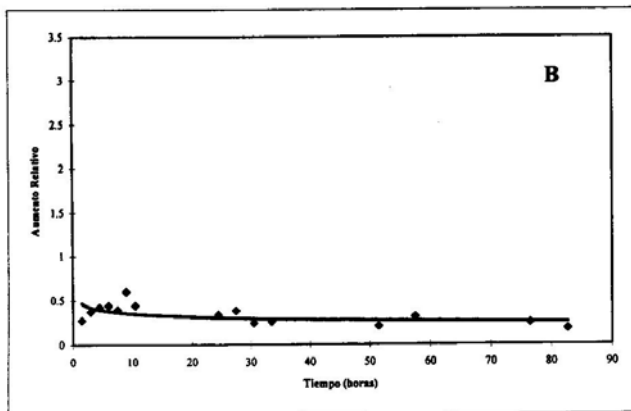
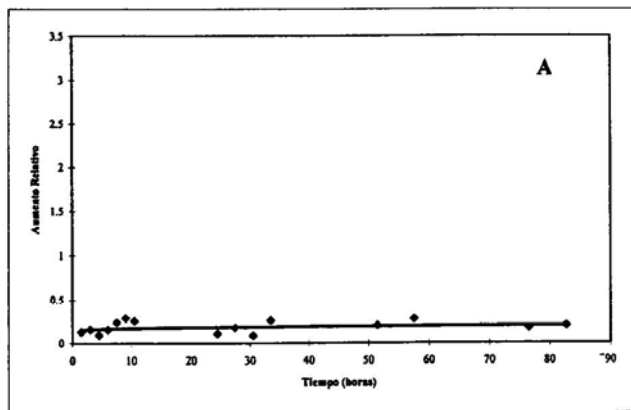


Figura 5. Aumento relativo de la fotosíntesis en cultivos de *Corethron criophilum*. A: cultivos no pre-expuestos a la RUV. B: cultivos pre-expuestos a la RUV. Explicación en el texto. La línea continua: representa el ajuste de los datos mediante una función potencial.

Figure 5. Relative photosynthetic enhancement of *Corethron criophilum*. A: Cultures not pre-exposed to UVR. B: Cultures pre-exposed to UVR. Explanation in the text. The line indicates the data fit using a potential function.

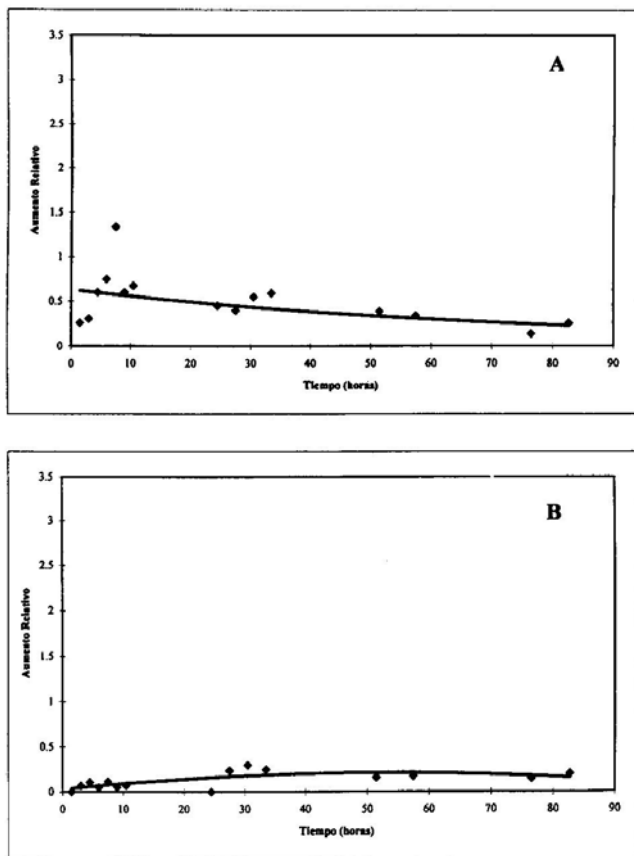


Figura 6. Aumento relativo de la fotosíntesis en cultivos de *Fragilariopsis cylindrus*. A: cultivos no pre-expuestos a la RUV. B: cultivos pre-expuestos a la RUV. Explicación en el texto. La línea continua representa el ajuste de los datos mediante una función exponencial.

Figure 6. Relative photosynthetic enhancement of *Fragilariopsis cylindrus*. A: Cultures not pre-exposed to UVR. B: Cultures pre-exposed to UVR. Explanation in the text. The line indicates the data fit using an exponential function.

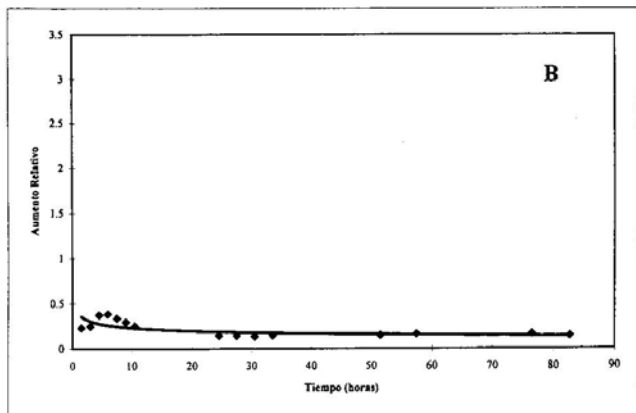
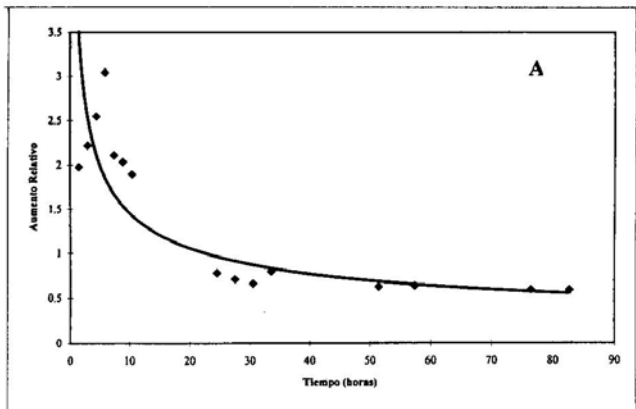


Figura 7. Aumento relativo de la fotosíntesis en cultivos de *Phaeocystis antarctica*. A: cultivos no pre-expuestos a la RUV. B: cultivos pre-expuestos a la RUV. Explicación en el texto. La línea continua representa el ajuste de los datos mediante una función potencial.

Figure 7. Relative photosynthetic enhancement of *Phaeocystis antarctica*. A: Cultures not pre-exposed to UVR. B: Cultures pre-exposed to UVR. Explanation in the text. The line indicates the data fit using an potential function.

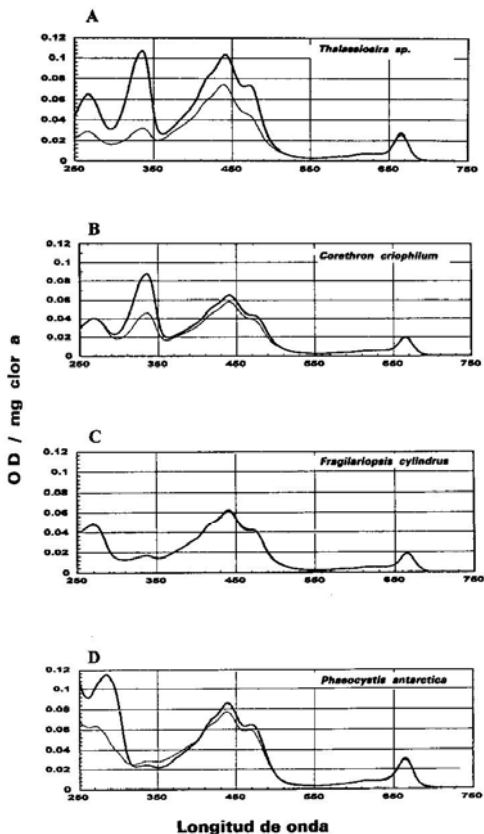


Figura 8. Espectros de absorción (OD/mg clor *a*) en función de la longitud de onda, para las especies fitoplanctónicas estudiadas. La línea fina en cada gráfico corresponde al espectro realizado con cultivos no pre-expuestos a la RUV, mientras que la línea gruesa corresponde al espectro realizado con cultivos previamente expuestos a la RUV. A: *Thalassiosira* sp. B: *Corethron criophilum*. C: *Fragilariopsis cylindrus*. D: *Phaeocystis antarctica*.

Figure 8. Phytoplankton absorption spectra (OD/mg chl-*a*) as a function of wavelength for cultures not pre-exposed (thin line) and pre-exposed (thick line) to UVR. A: *Thalassiosira* sp. B: *Corethron criophilum*. C: *Fragilariopsis cylindrus*. D: *Phaeocystis antarctica*.

Tabla 1. Radiación solar media PAR, RUV-A y RUV-B recibidas por los cultivos y concentración de ozono media durante las incubaciones realizadas para determinar las tasas de incorporación de carbono. Se incluye la fecha de inicio y finalización de cada experimento y el resultado final del test no-paramétrico de Kruskal-Wallis (ns = no significativo).

Table 1. Mean solar radiation PAR, UV-A and UV-B received by the cultures and mean ozone concentrations during the experiments to determine carbon uptake. The start and end dates for each experiment and the result of the non-parametric Kruskal-Wallis test are also included. (ns = non significant).

	Inicio	Finalización	Ozono (U.D.)	PAR (E m ⁻² d ⁻¹)	RUV-A (W m ⁻²)	RUV-B (W m ⁻²)
<i>Thalassiosira</i> sp.	28/11/94	01/12/94	319	17	35	1,8
<i>C. criophilum</i>	10/12/94	13/12/94	324	15	31	1,6
<i>F. cylindrus</i>	06/12/94	09/12/94	328	14	27	1,5
<i>P. antarctica</i>	02/12/94	05/12/94	333	14	29	1,4
Diferencias significativas			P > 0,05 ns	P > 0,05 ns	P > 0,05 ns	P > 0,05 ns

La disminución de la inhibición fotosintética (e.g., menores valores del aumento de la tasa de fotosíntesis al eliminarse la RUV) con el transcurso del tiempo de incubación, sería indicativo de una continua aclimatación de los cultivos de fitoplancton a la RUV ambiental. Los resultados obtenidos en el presente trabajo son comparables a los obtenidos por Villafañe *et al.* (1995) y Helbling *et al.* (1996), quienes trabajaron también con cultivos de fitoplancton antártico durante períodos variables entre 8 y 14 días. Esta fotoaclimatación ha sido relacionada a una serie de procesos, entre los cuales se han señalado: i) la síntesis de compuestos que absorben la RUV (Karentz *et al.* 1991a), que podrían actuar como protectores a la exposición de dicha radiación (Dunlap & Chalker 1986, Dunlap *et al.* 1989, Dunlap *et al.* 1995), ii) mecanismos de reparación del DNA (Karentz *et al.* 1991b, Mitchell & Karentz 1993), y iii) variación en el tiempo de la composición específica en cultivos de comunidades naturales de fitoplancton (Villafañe *et al.* 1995).

La presencia de compuestos que absorben en la región del UV (MAAs, mycosporine-like amino acids) ha sido bien establecida en diversos organismos marinos, tales como corales (Dunlap & Chalker 1986, Dunlap *et al.* 1986), estrellas de mar (Nakamura *et al.* 1981), ascidias (Kobayashi *et al.* 1981), mitflidos (Chioccare *et al.* 1979), peces (Chioccare *et al.* 1980, Dunlap *et al.* 1989), dinoflagelados (Carreto *et al.* 1990), primnesiofitceas (Davidson & Marchant 1994, Marchant *et al.* 1991) y diatomeas (Karentz *et al.* 1991a, Karentz 1994, Vernet *et al.* 1994, Villafañe *et al.* 1995, Helbling *et al.* 1996). La presencia y síntesis de estos compuestos que absorben en la región del UV ha sido considerada como responsable de la mayor resistencia de las diatomeas frente a la RUV solar (Helbling *et al.* 1996), pero también se ha considerado su función protectora en otros organismos (Dunlap & Chalker 1986, Shick *et al.* 1991, Karentz *et al.* 1991a).

La síntesis de MAAs con la consecuente aclimatación del fitoplancton es variable y depende de la especie considerada. En

el caso de las diatomeas centrales *Thalassiosira* sp. y *C. criophilum*, la síntesis de MAAs se encuentra relacionada con la exposición a la RUV. En tanto, las especies *F. cylindrus* y *P. antarctica*, presentan bajas concentraciones de estos compuestos durante el período de experimentación, luego de la exposición a RUV solar.

Helbling *et al.* (1996) realizaron un seguimiento en el tiempo (8-12 días) de las concentraciones de MAAs en cuatro especies de diatomeas, siendo porphyra-334 y shino-rine las que aparecían en mayor abundancia, aunque en *F. cylindrus* la concentración de estas dos MAAs se mantuvo muy baja los 4 primeros días de exposición a RUV solar, aumentando, sin embargo, a partir del séptimo día. Esto podría explicar los resultados de nuestros experimentos de tres días, tiempo insuficiente para observar diferencias en la síntesis de MAAs en esta especie. Sin embargo, los valores de aumento relativo en la tasa fotosintética en *F. cylindrus* y *P. antarctica* (Figs. 6 y 7) disminuyeron con el tiempo, indicando la presencia de un proceso de fotoaclimatación a corto plazo que serviría para contrarrestar los efectos deletéreos de la RUV. Un ejemplo de este tipo de mecanismos es la fotorreactivación que implica la reparación del daño sobre el ADN producido por la RUV (Harm, 1980). Este mecanismo ha sido detectado en varias especies de diatomeas (Karentz *et al.* 1991b) e involucra el reconocimiento y monomerización de los dímeros de timina generados por la RUV-B, a través de una enzima que solo actúa en presencia de luz visible de corta longitud de onda (400-480 nm) y RUV-A (320-400 nm). De esta manera, una descompensación en la radiación incidente sobre los organismos en favor de la RUV-B, generaría una disminución de la capacidad de éstos para paliar el daño producido en su material genético y de las longitudes de onda indispensables para la fotosíntesis (Smith & Baker 1979).

Respecto a la situación específica de *P. antarctica*, es importante destacar que el estado del ciclo de vida utilizado en los experimentos fue el flagelado y no el estado colonial, que es el que ha sido identificado como el causante de gran parte de las floraciones en aguas antárticas (Garrison *et al.* 1987, Fryxell & Kendrick 1988). Al parecer, el estado colonial presentaría ciertas características fisiológicas que le permitirían responder eficientemente a la síntesis de MAAs frente al impacto de la RUV (Davidson & Marchant 1992), observándose en este estado la presencia de varios compuestos que absorben en la región del ultravioleta. En nuestros estudios, en cambio, no se observó la presencia de compuestos que absorben en el ultravioleta, hecho que coincide con los resultados de Davidson & Marchant (1994), quienes no encontraron absorción significativa en la región del UV en estados flagelados de *Phaeocystis* sp. Nuestros datos indican que, si bien todos los cultivos de las especies no expuestas previamente a RUV fueron inhibidos por la RUV ambiental, existe una gran variabilidad en la respuesta entre las especies estudiadas. De acuerdo a estos resultados, *P. antarctica* (Fig. 7), fue la especie que tuvo una mayor inhibición al comienzo del experimento, siendo en consecuencia la especie más sensible a la RUV. Entre las diatomeas, *Thalassiosira* sp. (Fig. 4) y *F. cylindrus* (Fig. 6) fueron más sensibles que *C. criophilum* (Fig. 5). Estos resultados coinciden con investigaciones previas, indicando que los flagelados serían más sensibles a la RUV en comparación a las diatomeas (Davidson & Marchant 1994, Helbling *et al.* 1994, entre otros). Sin embargo, los datos obtenidos en este trabajo indican que, incluso entre las diatomeas, la variabilidad en las respuestas es muy alta. Este resultado coincide con aquéllos de Karentz *et al.* (1991b), quienes concluyeron que de las 12 especies de diatomeas estudiadas, la más resistente a la RUV resultó ser *C. criophilum*.

En conclusión, el presente trabajo indica que, aunque existen diferencias en la sensibilidad a la RUV entre distintas especies y grupos del fitoplancton marino antártico, las cuatros especies estudiadas mostraron una continua aclimatación en el tiempo, en función a la exposición a la RUV. Si esta accli-

matación puede ser lograda por otras especies del fitoplancton, esto indicaría que la producción primaria de las aguas antárticas se vería menos afectada por la RUV que lo estimado inicialmente por estudios realizados en períodos cortos de tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a la Fundación Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de Norteamérica y al personal de la Estación Palmer por el generoso apoyo brindado durante nuestro trabajo en la Antártica. Hacemos extensivos nuestros agradecimientos a los Dres. O. Holm-Hansen, G. Rae y W. Dunlap por la ayuda que de ellos recibimos. Dejamos constancia de nuestro reconocimiento por la contribución del proyecto FONDEF 2-41.

LITERATURA CITADA

- Booth, CR, TB Lucas, JH Morrow, CS Weiler & PA Penhale. 1994. The United States National Science Foundation's Polar Network for monitoring ultraviolet radiation. En: Weiler, CS & PA Penhale (eds), Ultraviolet radiation in Antarctica: Measurements and biological Effects. Antarctic Research Series. 62: 17-37. American Geophysical Union, Washington.
- Bothwell, ML, DMC Sherbort, AC Roberge & RJ Daley. 1993. Influence of natural ultraviolet radiation on lotic periphytic diatom community growth, biomass accrual, and species composition: short-term versus long-term effects. *Journal of Phycology* 29: 24-35.
- Bothwell, ML, DMJ Sherbort & CM Pallock. 1994. Ecosystem response to solar ultraviolet-B radiation: Influence of trophic level interactions. *Science* 265: 97-100.
- Carreto, JI, MO Carigam, G Daleo & SG De Marco. 1990. Occurrence of mycosporine-like aminoacids in the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavatum*: UV-photoprotective compounds? *Journal of Plankton Research* 112: 909-921.
- Chioccaro, F, A Della Gala, M de Rosa, E Novellino & G Prota. 1979. Occurrence of two new mycosporine-like amino acids, mytilind A and B, in the edible mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Tetrahedron Letters* 34: 3181-3182.
- Chioccaro, F, A Della Gala, M de Rosa, E Novellino & G Prota. 1980. Mycosporine amino acids and related compounds from the eggs of fishes. *Bulletin de la Societé Chimique de Belgique* 89: 1101-1106.
- Davidson, AT & HJ Marchant. 1992. Protist interactions and carbon dynamics of a *Phaeocystis* dominated bloom at an Antarctic coastal site. *Polar Biology* 12: 387-395.
- Davidson, AT & HJ Marchant. 1994. The impact of ultraviolet radiation on *Phaeocystis* and selected species of antarctic marine diatoms. En: Weiler, CS & PA Penhale (eds), Ultraviolet radiation in Antarctica: Measurements and biological effects. Antarctic Research Series 62: 187-205. American Geophysical Union, Washington.
- Dunlap, WC & BE Chalker. 1986. Identification and cuantification of near-UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. *Coral Reefs* 5: 155-159.
- Dunlap, WC, BE Chalker & JK 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, WC, DM Williams, BE Chalker & AT Banaszak. 1989. Biochemical photoadaptation in vision: UV-absorbing pigments in fish eye tissues. *Compounds Biochemichal and Physiological*. 93B: 601-607.

- Dunlap, WC, GA Rae, EW Helbling, VE Villafañe & O Holm-Hansen. 1995. UV-absorbing compounds in natural assemblages of Antarctic phytoplankton. *Antarctic Journal of United States* (en prensa).
- El-Sayed, SZ 1988. Fragile life under the ozone hole. *Natural History* 97: 72-80.
- El-Sayed, SZ, FC Stephens, RR Bidigare & ME Ondrusek. 1990. Effect of ultraviolet radiation on Antarctic marine phytoplankton. En: Kerry KR. & G Hempel (eds), *Antarctic Ecosystems. Ecological Change and Conservation*. Springer, Heidelberg : 379-385.
- Farman, JC, BG Gardiner & JD Shanklin. 1985. Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClOx/NOx interaction. *Nature* 315: 207-210.
- Fryxell, GA & GA Kendrick. 1988. Austral spring microalgae across the Weddell Sea ice edge: spatial relationships found along a northward transect during AMERIEZ 83. *Deep-Sea Research* 35: 1-20.
- Garrison, DL, KR Buck & GA Fryxell. 1987. Algal assemblages in the Antarctic pack ice and in the ice-edge plankton. *Journal of Phycology* 23: 564-572.
- Gribbin, J. 1988. *The hole in the sky: man's threat to the ozone layer*. Bantam Books, Nueva York 192 p.
- Guillard, RRL & JH Rhyther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology* 8: 229-239.
- Harm, W. 1980. *Biological effects of ultraviolet radiation*. Cambridge University Press, Nueva York. 216 p.
- Helbling, EW, VE Villafañe, M Ferrario & 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, EW, VE Villafañe & O Holm-Hansen. 1994. Effects of ultraviolet radiation on Antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. En: Weiler, CS & PA Penhale (eds), *Ultraviolet radiation in Antarctica: Measurements and biological effects*. Antarctic Research Series. 62: 207-227. American Geophysical Union, Washington.
- Helbling, EW, BE Chalker, WC Dunlap, O Holm-Hansen & VE Villafañe. 1996. Photoadaptation of Antarctic marine diatoms to solar ultraviolet radiation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 204: 85-101.
- Holm-Hansen, O, CJ Lorenzen, RW Holmes & JDH Strickland. 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal du Conseil pour L'Exploration de la Mer* 30: 3-15.
- Holm-Hansen, O & B Riemann. 1978. Chlorophyll *a* determination: improvements in methodology. *Oikos* 30: 438-447.
- Holm-Hansen, O, EW Helbling & D Lubin. 1993. Ultraviolet radiation in Antarctica: Inhibition of primary production. *Photochemistry and Photobiology* 58: 567-570.
- Holm-Hansen, O & EW Helbling. 1995. Técnicas para la medición de la productividad primaria en el fitoplancton. En: Alveal K, ME Ferrario, EC Oliveira & E Sar (eds), *Manual de métodos ficológicos*. Universidad de Concepción, Concepción, Chile, p. 329-350.
- Karentz, D, FS McEuen, MC Land & WC Dunlap. 1991a. A survey of micosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Marine Biology* 108: 157-166.
- Karentz, D, JE Cleaver & DL Mitchell. 1991b. Cell survival characteristic and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *Journal of Phycology* 27: 326-341.
- Karentz, D. 1994. Ultraviolet tolerance mechanics in Antarctic marine organisms. En: Weiler, C.S. & P.A. Penhale (eds), *Ultraviolet radiation in Antarctica: Measurements and biological effects*. Antarctic Research Series 62: 99-110. American Geophysical Union, Washington.
- Kobayashi, JH, H Nakamura & Y Hirata. 1981. Isolation and structure of a UV-absorbing substance 337 from the ascidian *Halocynthia roretzi*. *Tetrahedron Letters* 22: 3001-3002.

- Lubin, D, JE Frederick, CR Booth, T Lucas & D Neuschuler. 1989. Measurement of enhanced springtime ultraviolet radiation at Palmer Station, Antarctica. *Geophysical Research Letter* 16: 783-785.
- Lubin, D & JE Frederick. 1990. Column ozone measurements from Palmer Station, Antarctica: Variations during the austral springs of 1988 and 1989. *Journal of Geophysical Research* 95: 13883-13889.
- Lubin, D & JE Frederick. 1991. The ultraviolet radiation environment of the Antarctic peninsula: The roles of ozone and cloud cover. *Journal of Applied Meteorology* 30: 478-493.
- Marchant, HJ, AT Davidson & GL Kelly. 1991. UV-B protecting pigments in the marine alga *Phaeocystis pouchetii* from Antarctica. *Marine Biology* 109: 391-395.
- Mitchell, DL & D Karentz. 1993. The induction and repair of DNA photodamage in the environment. En: Bjoern, LO, J Moan & AR Young, (eds), *Environmental UV photobiology*. Plenum Press, Nueva York. pp: 345-377.
- Nakamura, H, J Kobayashi & Y Hirata. 1981. Isolation of a 330 nm UV-absorbing substance, asterina-330 from the starfish *Asterina pectinifera*. *Chemistry Letters*. pp: 1413-1414.
- Prezelin, BB, NP Boucher & RC Smith. 1994. Marine primary production under the influence of the Antarctic ozone hole: Icecolors '90. En: Weiler CS & PA Penhale (eds), *Ultraviolet radiation in Antarctica: Measurements and biological effects*. Antarctic Research Series 62: 159-186. American Geophysical Union, Washington.
- Rowland, FS. 1989. Chlorofluorocarbons and the depletion of stratospheric ozone. *American Scientist* 77: 36-45.
- Shick, JM, MP Lesser & WR Stochaj. 1991. Ultraviolet radiation and the photooxidative stress in zooxanthellate anthozoa: The sea anemone *Phyllo-discus semoni* and the octocoral *Clavaria* sp. *Symbiosis* 10: 145-173.
- Smith, RC & KS Baker. 1979. Penetration of UV-B and biologically effective dose-rates in natural waters. *Photochemistry and Photobiology* 29: 311-323.
- Smith, RC, BB Prezelin, KS Bidigare, NP Boucher, T Coley, D Karentz, S MacIntyre, HA Matlick, D Menzies, M Ondrusek, Z Wan & KJ Waters. 1992. Ozone depletion: Ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science* 255: 952-959.
- Solomon, S, R Garcia, FS Rowland & DJ Wuebbles. 1986. On the depletion of Antarctic ozone. *Nature* 321: 755-758.
- Sokal, RR & FJ Rohlf. 1979. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume Ediciones. Madrid, España, 832 p.
- Steeman-Nielsen, E. 1952. The use of radioactive carbon (^{14}C) for measuring organic production in the sea. *Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer* 18: 117-140.
- Strickland, JDH & TR Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada* 167, 310 p.
- Vernet, M, EA Brody, O Holm-Hansen & BG Mitchell. 1994. The response of Antarctic phytoplankton to ultraviolet radiation: Absorption, photosynthesis, and taxonomic composition. En: Weiler, CS & PA Penhale (eds), *Ultraviolet radiation in Antarctica: Measurements and biological effects*. Antarctic Research Series 62: 143-158. American Geophysical Union, Washington.
- Villafañe, VE, EW Helbling, O Holm-Hansen O & BE Chaker. 1995. Acclimatization of Antarctic natural phytoplankton assemblages when exposed to solar ultraviolet radiation. *Journal of Plankton Research* 17: 2295-2306.
- Voytek, MA. 1989. Ominous future under the ozone hole. *Environmental Defense Fund*, Washington, D.C., 69 p.
- Voytek, MA. 1990. Addressing the biological effects of decreased ozone on the Antarctic environment. *Ambio* 19: 52-61.