

Influencia de factores externos sobre la fotosíntesis de algas verdes y cianobacterias

Ana Sánchez-Fortún Herrero

Grado en Veterinaria. Universidad Alfonso X el Sabio
anasfortun@hotmail.com

Tutora
Sonia Rubio Langre

Universidad Alfonso X el Sabio
srubilan@uax.es

Resumen: Mediante el proceso de fotosíntesis, plantas verdes, algas y bacterias, capturan energía en forma de luz y la transforman en energía química. Se estudió la influencia de factores externos sobre el rendimiento fotosintético de algas verdes (*Dictyosphaerium chlorelloides*) y (*Microcystis aeruginosa*) para determinar la influencia en su supervivencia. Para ello, se expusieron concentraciones de 2×10^6 cel ml^{-1} a variaciones de luminosidad, temperatura y niveles de CO_2 , estudiando la eficacia fotosintética a través de la producción de O_2 . El mismo estudio se realizó añadiendo al medio de cultivo un alguicida, el ácido tricloroisocianúrico (TCA) mediante exposiciones a diferentes concentraciones. Los resultados muestran que, frente a la intensidad lumínica, las células de *D. chlorelloides* poseen una mayor eficacia fotosintética que *M. aeruginosa*, mientras que en condiciones de oscuridad, las dos especies se comportan de forma similar; las bajas temperaturas afectan por igual a ambas células, pero las cianobacterias soportan mejor el incremento de temperatura que las algas verdes. La disminución de CO_2 afectó de forma similar a ambas especies celulares. Por último, se observó que bajas concentraciones de TCA inhiben la fotosíntesis sin comprometer la supervivencia celular. Estos resultados evidencian los efectos adversos sobre el fitoplancton derivados de cambios en el medioambiente, tanto naturales como de origen antropogénico.

Palabras clave: Fotosíntesis. Estrés abiótico. *Dictyosphaerium chlorelloides*. *Microcystis aeruginosa*.

INTRODUCCIÓN

Durante miles de millones de años, los organismos fotosintéticos han transformado nuestro planeta y la vida en él. Estos organismos estabilizan la energía

fugaz contenida en un fotón, formando moléculas orgánicas para construir componentes celulares. Este proceso es la base de la generación de energía. La fotosíntesis y la respiración dependiente de oxígeno completan el ciclo del O₂ en el agua ⁽¹⁾. Son muchos los factores pueden afectar la tasa fotosintética puesto que es una reacción muy compleja, con gran cantidad de procesos implicados. Un ligero cambio en uno de ellos puede tener un efecto adverso en todo el proceso. Estos factores limitan la velocidad a la que la fotosíntesis tiene lugar, e incluso, si hubiera exceso de todos los demás, la deficiencia de uno de ellos limitaría la reacción ⁽²⁾.

Distintos autores han establecido como factores limitantes la intensidad lumínica (sin ella no puede haber fotosíntesis ⁽³⁾), la temperatura (elemento directamente proporcional y desnaturalizante de enzimas y proteínas ⁽⁴⁾), la tasa de CO₂ disuelto en agua ⁽⁵⁾ y por último, la exposición a sustancias químicas (alguicidas ^(6,7)). Todos ellos han realizado sus estudios basándose en la hipótesis de que las cianobacterias podrían predominar sobre las algas verdes bajo determinados cambios medioambientales, los cuales, favorecerían su crecimiento ^(8,9). Este hecho provocaría la aparición de *blooms* que reducirían la calidad del agua y podrían liberar toxinas.

El objetivo de este trabajo es estudiar las variaciones de la actividad fotosintética del alga verde *Dyctiosphaerium chlorelloides* y la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*, cuando ambas son sometidas a estrés medioambiental mediante modificaciones en parámetros como luz, temperatura, CO₂ y exposición a un alguicida.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó sobre poblaciones de *D. chlorelloides* y *M. areuginosa* cultivadas en el laboratorio en frascos Grainer de 25 ml con medio de cultivo BG-11, en cámara climatizada a 21 °C, con ciclo luz/oscuridad 12-12 h e intensidad lumínica de 60 μmol m⁻² s⁻¹. Los ensayos se realizaron a partir de 2x10⁶ cel ml⁻¹, ajustadas por conteo directo en cámara de Neubauer.

La producción y consumo de O₂ (nmol O₂ ml⁻¹ min⁻¹) se obtuvo mediante sistema Chlorolab II, basado en el electrodo de Clark. Así se estudia la fotosíntesis y respiración, según la fórmula Pg=Pn+R, donde Pg es el ratio de producción de O₂, R el consumo de O₂ y Pn el ratio de fotosíntesis neta.

Las variaciones de luminosidad se practicaron con luz roja LED (λ=660 nm) y las variaciones de temperatura se controlaron por calentamiento/refrigeración de la camisa del sistema Chlorolab II con un baño termostatzado.

Para provocar la disminución de CO₂ a un volumen de 100 ml de BG-11, se añadieron 100 mg de óxido de calcio (CaO) para secuestrarlo, según la reacción CaO+CO₂→CaCO₃. Tras pasar la noche en frasco cerrado con agitación a 50 rpm, se

realizó el filtrado (0.22 μm), obteniéndose alícuotas con reducción del 90%, 75%, 50% y 25% de CO_2 en el medio final, respecto a los valores normales incluidos en BG-11.

Para las exposiciones al alguicida, las células se expusieron a concentraciones de 0.5, 1, 2 y 5 mg L^{-1} de ácido tricloroisocianúrico (TCA) durante 72 horas. La inhibición del crecimiento se obtuvo por conteo directo en cámara de Neubauer y la medición de O_2 mediante el sistema Chlorolab II.

Cada experimento fue sometido a tratamiento estadístico para obtener la media y desviación estándar de un total de 4 ensayos. Para la comparación entre *D. chlorelloides* y *M. aeruginosa* se aplicó la t-Student, siendo significativo un valor menor de $p < 0.05$. El tratamiento informático se realizó con el programa GraphPad 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al modificar la intensidad de luz sobre poblaciones de *D. chlorelloides* y *M. aeruginosa* se observa como la producción de O_2 en ambas especies es dependiente de la luz hasta un máximo de intensidad de 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a partir de la cual no hay incrementos. Sin embargo, *D. chlorelloides* fue significativamente ($p < 0.001$) más eficaz en la producción O_2 que *M. aeruginosa* (fig. 1a). Los valores indicaron un ligero incremento de consumo de O_2 en oscuridad por parte de *M. aeruginosa*, incremento que no es estadísticamente significativo (fig. 1b).

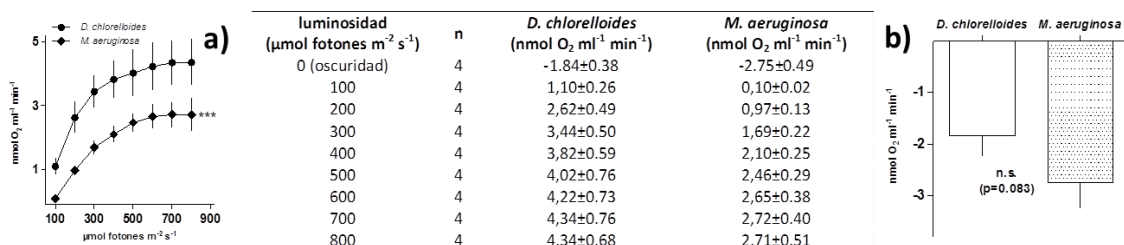


Figura 1. Valores de O_2 correspondiente con (a) la producción por incremento de la intensidad lumínica y (b) el consumo de O_2 en oscuridad, de *D. chlorelloides* y *M. aeruginosa*. Los valores representan la media \pm ds de 4 ensayos. ***: diferencias significativas ($p < 0.001$). n.s.: sin significación estadística.

Los resultados obtenidos no coinciden con los expuestos por otros autores (10,11), que otorgan mayor eficacia fotosintética dependiente de la intensidad lumínica a las cianobacterias. Debemos tener en cuenta que estos trabajos se realizaron en lagos, a distintas profundidades, por lo que es difícil compararlos con nuestro estudio.

Respecto a la temperatura, se observó que temperaturas inferiores a 21 $^{\circ}\text{C}$

reducen significativamente la producción de O₂ de forma similar en ambas especies, mientras que temperaturas altas (30 °C) incrementan la producción de O₂ en las cianobacterias y la inhiben en algas verdes (fig. 2).

temperatura (°C)	n	% inhibición producción de O ₂	
		<i>D. chlorelloides</i>	<i>M. aeruginosa</i>
30	4	0,00	144,82±12.69
25	4	88,02±6.69	128,26±10.68
21	4	100,00	100,00
15	4	65,03±7.56	69,10±7.66
10	4	39,53±5.66	46,13±6.59

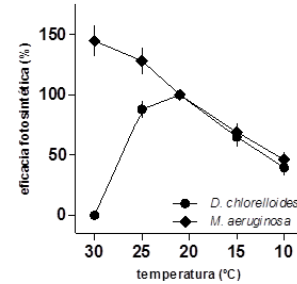


Figura 2. Variaciones de eficacia fotosintética en *D. chlorelloides* y *M. aeruginosa* derivadas del aumento y disminución de la temperatura control (21 °C). Los puntos representan la media±ds de 4 ensayos.

La disminución de CO₂ ha puesto en evidencia que ambas poblaciones celulares son muy sensibles, llegando a inhibirse más del 70 % de la producción de O₂ cuando se reduce únicamente un 10 % la concentración de CO₂ (fig. 3a). La reducción del consumo de O₂ en oscuridad es mucho más moderada (fig. 3b). En ninguno de los dos parámetros aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre *D. chlorelloides* y *M. aeruginosa*.

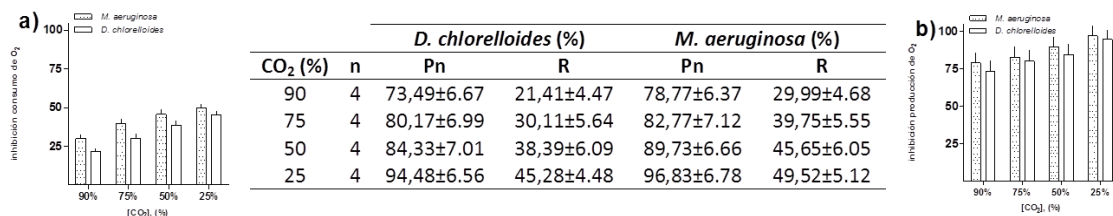


Figura 3. Inhibición en el consumo (a) y producción (b) de O₂ en poblaciones celulares de *D. chlorelloides* y *M. aeruginosa* expuestas a una disminución creciente de los niveles de CO₂ disueltos en el medio de cultivo. Las barras representan la media±ds de un 4 ensayos. n.s.: ausencia de significación estadística.

Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores, coincidiendo por tanto en que las cianobacterias soportan mejor las altas temperaturas (12).

Aunque no ha sido posible encontrar referencias bibliográficas que comparen el efecto de la disminución de CO₂ en algas procariontas y eucariotas, los autores están de acuerdo en la similitud bioquímica del proceso fotosintético entre ambos grupos (13). Por tanto resulta coherente la similitud de efecto encontrado en algas verdes y cianobacterias.

Finalmente, en lo que respecta a la exposición a TCA, las células de *D. chlorelloides* y *M. areuginosa* fueron extremadamente sensibles a la misma. Los resultados indican un alto grado de afectación sobre la actividad fotosintética, superior al 70 % en ambas poblaciones, desde la concentración más baja ensayada (0.5 mg l^{-1}); este hecho no se corresponde con la inhibición del crecimiento celular, que presenta valores significativamente inferiores ($p < 0.005$) a los anteriores (fig. 4).

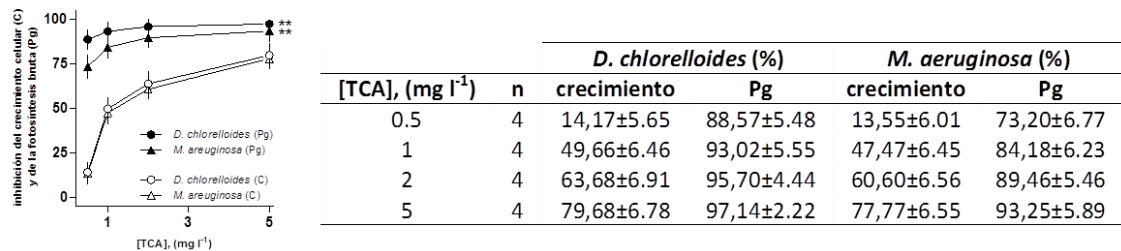


Figura 4. Inhibición de la fotosíntesis bruta (●,▲) y del crecimiento celular (○,△) en *D. chlorelloides* y *M. areuginosa* expuestas a concentraciones crecientes de ácido tricloroisocianúrico (TCA) disuelto en medio de cultivo. Los puntos representan la media±ds de 4 ensayos. **:diferencias significativas ($p < 0.005$).

Por tanto, queda establecida la eficacia alguicida tanto en algas verdes como en cianobacterias, coincidiendo con los resultados obtenidos por otros autores ⁽¹⁴⁾.

Podemos concluir indicando que los resultados evidencian los efectos adversos sobre ambos organismos derivados de los factores limitantes de la fotosíntesis, tanto de aquellos naturales como los de origen antropogénico. Mientras que las algas verdes son más eficaces que las cianobacterias conforme aumenta la intensidad lumínica, el fenómeno es contrario cuando la temperatura se incrementa. Finalmente, ambos organismos se comportan de forma similar frente a la disminución de CO_2 disuelto y en exposiciones a TCA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Falkowski PG, Godfrey LV. Electrons, life and the evolution of Earth's oxygen cycle. Philosophical Transactions of Royal Society of London B. 2008; 363:2705-2716.
2. Mishra SR. Photosynthesis in Plants. Discovery Publishing House, New Delhy, India. 296 p. 2004.
3. Al-Qasmi M. A review of effect of light on microalgae growth. Proceedings of the World Congress on Engineering 2012, Vol I, WCE 2012, July 4-6. London, U.K.

2012.

4. Hancke K, Hancke TB, Olsen LM, Johnsen G, Glud RN. Temperature effects on microalgal photosynthesis-light responses measured by O₂ production, pulse-amplitude-modulated fluorescence, and 14C assimilation. *Journal of Phycology*. 2008; 44:501-514.
5. Silva HJ, Pirt SJ. Carbon dioxide inhibition of photosynthetic growth of *Chlorella*. *Journal of General Microbiology*. 1984; 130:2833-2838.
6. Baldwin NA, Whitton BA. Cyanobacteria and eukaryotic algae in sports turf and amenity grasslands: a review. *Journal of Applied Phycology*. 1992; 4:39-47.
7. Maddox VL, Krans JV, Sullivan MJ. Survey of algal and cyanobacterial species on golf putting greens in Mississippi, USA. *International Turfgrass Society Research Journal*. 1997; 8:495-505.
8. Ramanan R, Vinayagamoorthy N, Sivanesan SD, Kannan K, Chakrabarti T. (2012) Influence of CO₂ concentration on carbon concentrating mechanisms in cyanobacteria and green algae: a proteomic approach. *Algae*. 2012; 27:295-301.
9. Lürling M, Eshetu F, Faassen EJ, Kosten S, Huszar VLM. Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biology*. 2013; 58: 552-559.
10. Lu XF. A perspective: Photosynthetic production of fatty acid-based biofuels in genetically engineered cyanobacteria. *Biotechnology Advances*. 2010; 28:742-746.
11. Ducat DC, Way JC, Silver PA. Engineering cyanobacteria to generate high-value products. *Trends in Biotechnology*. 2011; 29:95-103.
12. Robarts RD, Zohary T. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 1987; 21:391-399.
13. Thomas DJ, Sullivan SL, Price AL, Zimmerman SM. Common Freshwater Cyanobacteria Grow in 100% CO₂. *Astrobiology*. 2005; 5:66-73.
14. Maddox VL, Goatley JM, Krans JV, Philley HW, Stewart BR. Effects of algicides on populations of eukaryotic and prokaryotic algae on a Bermuda grass putting green. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station. Mississippi State University. USA. 12 p. 2001.

BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

Hopkings WG. Photosynthesis and Respiration. Infobase Publ. NY, USA. 168 p. 2006.

Vermaas WFJ. Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria. Encyclopedia of life sciences. Macmillan Publ. Ltd. USA. 7 p. 2001.

Recibido: 17 marzo 2014.

Aceptado: 26 abril 2014.