

CRECIMIENTO DE *SCENEDESMUS OBLIQUUS* EN MEDIO DE CULTIVO ENRIQUECIDO CON SACAROSA *

POR ELISA D'ANTONI **

SUMMARY

An axenic culture of *Scenedesmus obliquus* was spread partly on inorganic medium and on the same medium added with 2 % saccharose. The growth pattern showed significant differences.

Then, the saccharose medium was submitted to different temperatures (17° C, 21° C and 27° C). The temperatures were also proved with two different light periods.

After 28 days, the results showed a great increase of cell population in all the cultures performed on saccharose medium with respect to those without saccharose.

Afterwards, an estimation was made in relation to photosynthesis and respiration under the aforementioned conditions of temperature. The experiments didn't show significant modifications in photosynthetic values. Higher values of respiration activity were found in saccharose cultures.

It is thought that the prolonged light period allows a more effective use of the carbohydrate.

INTRODUCCION

En esta comunicación se exponen resultados obtenidos durante el transcurso de un estudio sobre factores de crecimiento en *Scenedesmus obliquus*, una clorofita de hábito cenobial.

En forma simultánea a los ensayos realizados oportunamente para el citado estudio, se mantuvo en estría un cultivo axénico del alga por medio de periódicos repiques sobre agar-Detmer.

Las experiencias efectuadas en la investigación arriba mencionada mostraron la posibilidad de obtener diferentes valores de crecimiento según las condiciones de cultivo a las que estuviera sometida el alga. Sobre la base de dichas experiencias, durante uno de los repiques, además de efectuar la siembra sobre agar-Detmer simple (Kufferat, 1929) se utilizó el mismo medio enriquecido con sacarosa al 2 %. Ambas series fueron some-

* Trabajo presentado en el Tercer Simposio Latinoamericano de Fisiología Vegetal. Santiago de Chile, marzo de 1969.

** Laboratorio de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata. Investigación realizada bajo la dirección del Ing. Agr. Enrique M. Sivori.

tidas a iguales condiciones de temperatura y luz y al cabo de una semana se comprobó entre ellas una notable diferencia de crecimiento. En la figu-

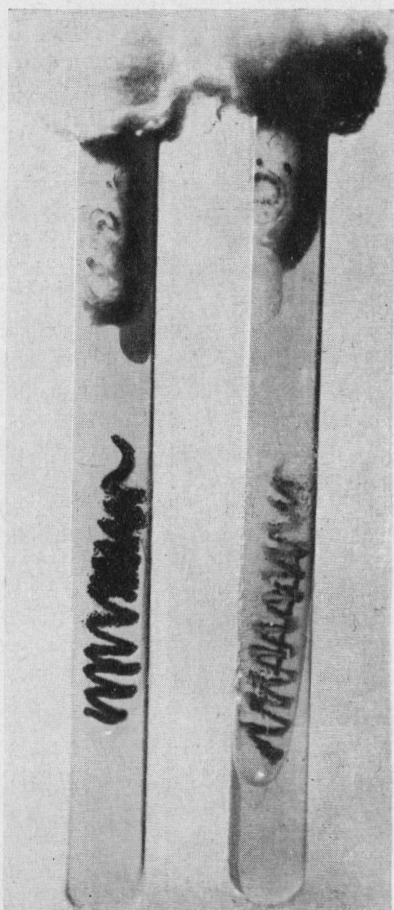


Fig. I. — Aspecto de dos estrías axénicas de *Scenedesmus obliquus* al cabo de ocho días de siembra. La derecha sobre medio inorgánico y la izquierda sobre el mismo medio enriquecido con sacarosa al 2 0/0.

ra I se observan ambas estrías: la de la derecha sobre medio normal y la de la izquierda sobre medio azucarado.

Esta observación sugirió investigar la influencia del agregado de sacarosa a distintas temperaturas y diferentes regímenes de luz-obscuridad.

MATERIAL Y METODO

En el estudio fueron utilizadas algas provenientes de una población clonal que crecía en estría axénica y en los experimentos se cultivaron en medio líquido. Al igual que en las demás experiencias anteriores realizadas con *Scenedesmus obliquus*, en la oportunidad fue empleado el medio Arnon, del cual se prepararon dos soluciones: la primera en la forma habitual y la segunda enriquecida con sacarosa al 2 %.

Seguidamente fueron esterilizadas dos series de doce tubos de ensayo cada una. En los tubos de la primera serie se colocaron 10 ml de solución Arnon original (testigo), y en la segunda serie igual volumen de solución Arnon con sacarosa.

A partir de la estría las algas se transfirieron a un tubo cónico con agua destilada estéril donde fueron lavadas por centrifugación, procediéndose luego a la estimación del número por volumen a través de recuentos en cámara de Neubauer. Luego de sembrar en todos los tubos igual número de algas por mm^3 con los recaudos necesarios para evitar contaminación, se ubicaron dos tubos de cada serie en distintas cámaras de cultivo. Dichas cámaras estaban iluminadas con tubos "Grolux" y poseían una fluctuación térmica aproximada de $\pm 1^\circ\text{C}$. Las condiciones de prueba estudiadas fueron las siguientes:

Tratamiento n°	Luz (horas)	Oscuridad (horas)	Temperatura en $^\circ\text{C}$
1.....	16	8	17
2.....	8	16	17
3.....	16	8	21
4.....	8	16	21
5.....	16	8	27
6.....	8	16	27

Al cabo de 28 días se efectuaron los recuentos correspondientes a cada tratamiento. Los valores obtenidos, expresados en número de algas por mm^3 , se exponen en la figura II, expresados en un gráfico bidimensional.

En general dichos recuentos muestran valores de crecimiento mucho más elevados en las soluciones con sacarosa y en las sometidas a 16 horas de luz, cuando se las compara con sus respectivos patrones. Al mismo tiempo, se observa a 21 y 27°C , un fuerte sinergismo entre el agregado de azúcar y el período de luz más prolongado.

Dados los resultados obtenidos en la experiencia expuesta se consideró de interés estudiar la actividad fotosintética y respiratoria de *Scenedesmus obliquus* en la solución con sacarosa y en el testigo a las tres temperaturas ensayadas.

Se trabajó con micro-respirómetro tipo Warburg. La cuba del Warburg fue conectada a un criostato por medio de un sistema de reflujo, lográndose de este modo un control exacto de las temperaturas a estudiar, que fueron de 17° C, 21° C y 27° C. Se utilizó una concentración de 30.000 algas por mm³ y cuatro repeticiones de cada tratamiento.

Para las determinaciones de fotosíntesis fue aplicado el método descrito por Erikson, Wedding y Brawnamann (1955). Este método consiste

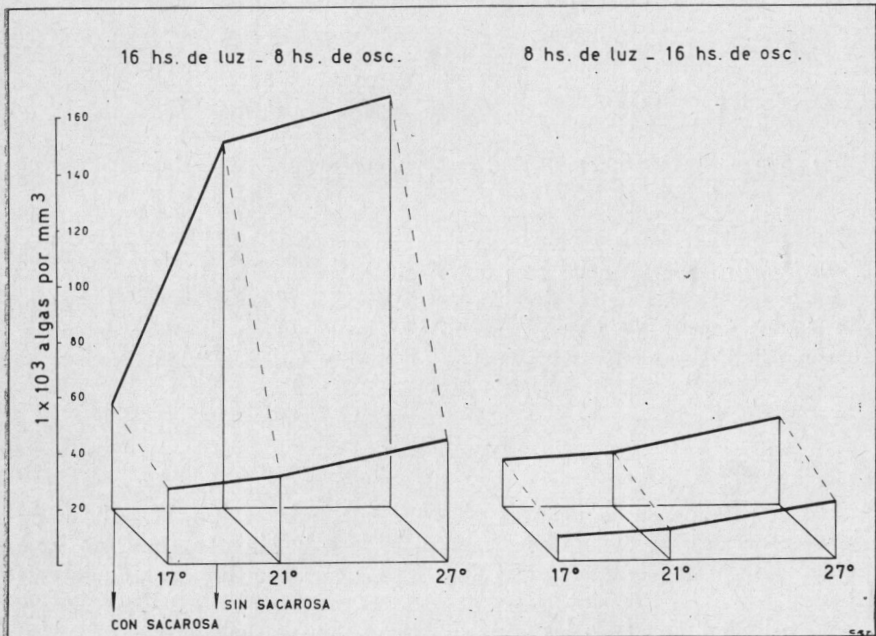


Fig. II. — Valores de crecimiento de *Scenedesmus obliquus* a tres temperaturas, con 8 y 16 horas de luz, en solución inorgánica y en solución con sacarosa

en utilizar un "buffer" para CO₂ que mantiene el gas a concentración constante en la atmósfera confinada del vaso; en esta forma se mide la liberación de O₂ por las algas.

El promedio de los valores de fotosíntesis en la solución con sacarosa mostró escasa diferencia con respecto a los valores del testigo.

También con micro-respirómetro Warburg y por aplicación del método directo (Umbreit, Burris y Stauffer, 1955) se valoró la actividad respiratoria, por medio de la estimación del O₂ absorbido en atmósfera libre de CO₂. Las condiciones de experimentación, número de repeticiones, concentración de algas, temperaturas empleadas y su control, fueron similares a las de la prueba de fotosíntesis. Los resultados se exponen en la Tabla I.

TABLA I

Respiración de «*Scenedesmus obliquus*» en solución con sacarosa y en solución testigo a las temperaturas estudiadas

Sacarosa %	Temperatura en °C		
	17	21	27
—	4,43	6,08	8,17
2	6,25	9,63	12,82

Los valores se expresan en microlitros de O_2 consumidos cada veinte minutos.

Como puede observarse, la sacarosa ha estimulado el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* a las tres temperaturas ensayadas.

En la experiencia de respiración las diferencias observadas en el promedio de los valores de O_2 consumido por las algas en ambas soluciones, fueron estadísticamente significativas (Kohan y Carro, 1968).

DISCUSION

Los resultados de la primera observación de la Figura II indican en líneas generales un crecimiento mayor en la solución con sacarosa. Este aumento lleva implícitas algunas sugerencias que consideramos de interés analizar.

En primer lugar, bajo las condiciones en que se realizó la prueba, los elementos nutrientes como así también la luz no parecen haber sido factores limitantes ya que en algunos tubos se alcanzaron valores superiores a 100.000 algas por mm^3 .

Por otra parte, se trata de algas planctónicas, con umbrales de intensidad de luz óptima bajos, y en las cámaras crecieron a 2.000 lux, con luz especial cuya composición favorece el proceso fotosintético. Se supone que el CO_2 pudo haber sido el factor limitante, por cuanto en otros ensayos en los que las algas se sometieron a "burbujeo" por insuflado de aire, en una semana se alcanzaron valores que en cultivos similares pero sin "burbujeo" sólo se obtuvieron al cabo de 20-25 días. Al actuar el CO_2 como factor limitante, la actividad fotosintética es baja y en consecuencia hay menor producción de azúcares.

Todo ello conduciría a una respiración menor y contenido inferior de ATP, lo que explica el bajo crecimiento obtenido en los cultivos sin azúcar exógena.

Los valores de crecimiento y respiración indicaron un aumento notable en las algas cultivadas en la solución con sacarosa con respecto a las que crecieron en la solución testigo.

En la Figura III se ha tratado de esquematizar el posible efecto de la sacarosa sobre los procesos metabólicos básicos, como la fotosíntesis, la respiración y su acción sobre el crecimiento.

En principio la acción fundamental de la sacarosa sería activar la respiración, por cuanto representa el substrato principal de este proceso. Una

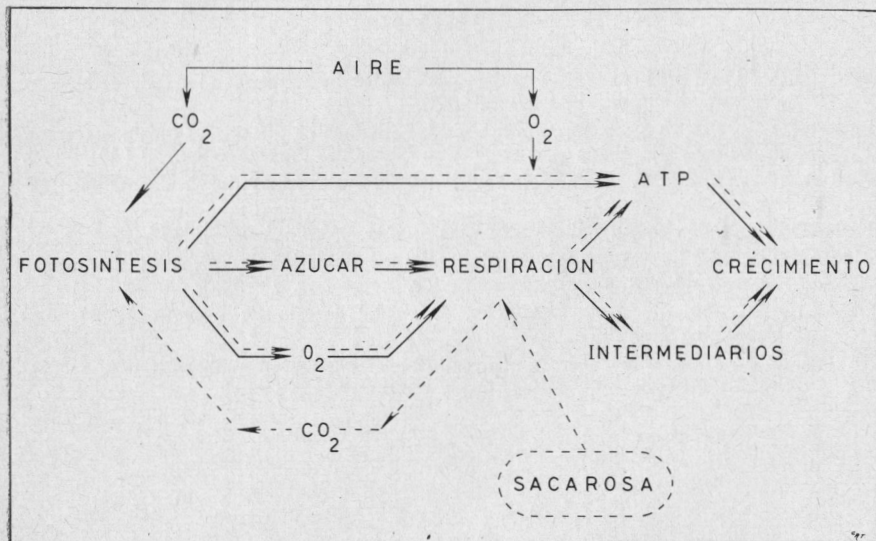


Fig. III. — Esquema del posible efecto de la sacarosa sobre los procesos metabólicos básicos, fotosíntesis, respiración y su acción sobre el crecimiento

respiración más intensa eleva el nivel de ATP al incrementarse la fosforilación oxidativa, al mismo tiempo que proporciona una mayor concentración de CO_2 al medio interno celular.

Esta mayor disponibilidad de CO_2 aumenta la actividad fotosintética, lo cual incrementa el contenido de ATP, esta vez por vía de la fotofosforilación. En la determinación fotosintética aquí expuesta no se observa ningún efecto por el agregado de sacarosa, ya que el método empleado eleva el contenido del CO_2 al 1 %, valor sumamente alto, sin duda no limitante del proceso. La mayor fotosíntesis implica una mayor producción de azúcares y de O_2 y ello permite una respiración aún más intensa de lo cual resulta un nuevo incremento de ATP y de intermediarios utilizados en el crecimiento.

La mayor producción de ATP por fotofosforilación en las algas sometidas

das a 16 horas de luz permitiría un mejor aprovechamiento del azúcar exógeno. Esto podría explicar el sinergismo que se observa sobre el crecimiento entre el agregado de azúcar y el mayor período de iluminación. Así, las algas sometidas a 8 horas de luz a 17° C, 21° C y 27° C con azúcar en todos los casos, no lograron duplicar su crecimiento con respecto al testigo. En cambio, si se compara el crecimiento a 21° C y 27° C con 16 horas de luz, se observa que el agregado de sacarosa triplica los valores.

BIBLIOGRAFIA

- BISHOP, N., 1961. The photometabolism of glucose by Hydrogen-ion adapted algae. *Biochem. Biophys. Acta* 51: 323-32.
- ERIKSON, L. WEDDING & BRAUNAMANN. 1955. Influence of pH on 2,4 dichlorophenoxy acetic acid and acetic acid activity in *Chlorella*. *Plant Physiol.* 30 (1): 69-74.
- KOHAN, N. y J. CARRO. 1968. Estadística aplicada. Ediciones previas. Eudeba, Buenos Aires.
- KUFFERATH, H., 1929. La culture des algues. *Rev. Algologique.* 4: 127.
- MACLACHLAN and PORTER. 1959. Replacement of oxidation by light as the energy source for glucose metabolism. *Proc. Royal Soc.* 150: 460-63.
- UMBREIT, W., BURRIS, R. & STAUFFER, J. 1959. Manometric Techniques. Burgess Publishing Co.
- TAYLOR, F. J., 1960. The absorption of glucose by *Scenedesmus quadricauda*. I-Some kinetic aspects. *Proc. Roy. Soc. (London)* 151 B (944).