

RESPUESTA A LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA DE DOS CEPAS BACTERIANAS MARINAS HETERÓTROFAS ANTÁRTICAS

Hernández, Edgardo A.¹, Ferreyra, Gustavo A.², Mac Cormack, Walter P.²

¹Cátedra de Biotecnología, FFyB, UBA. Junín 956 6° piso (C1113AAD) Buenos Aires, Argentina. edy135@hotmail.com

²IAA, Cerrito 1248 (C1010AAZ), Buenos Aires, Argentina. gferreyra@dna.gov.ar, wmac@ffyb.uba.ar

Palabras clave: radiación UV, bacterias antárticas

Keywords: UV radiation, Antarctic bacteria

RESUMEN

Dos cepas marinas antárticas fueron expuestas a diferentes irradiancias de radiación solar ultravioleta (UV) utilizando diferentes protocolos experimentales y filtros interferenciales. Los resultados mostraron que tanto la radiación UV-A como UV-B produce efectos deletéreos sobre las dos cepas bacterianas analizadas. Los valores de mortalidad bajo tratamiento UV-B fueron mayores que los observados bajo tratamiento UV-A. La cepa UVvi mostró mayor resistencia a la radiación UV que la cepa UVps.

ABSTRACT

Two Antarctic marine bacterial strains, were exposed to different irradiance of ultraviolet (UV) solar radiation using several experimental protocols and interferential filters. Results showed that both, UV-A and UV-B radiation produce deleterious effects on two tested bacterial strains. The mortality values under UVB treatments were higher than those observed under UVA treatments. UVvi strain proved to be more resistant to UV radiation than the UVps strain.

INTRODUCCIÓN

El agujero de ozono produce un incremento relativo de la radiación UV-B (280-320 nm) en la radiación solar incidente (Staehelin y col. 2001). La UV-B es dañina para los seres vivos y es responsable de efectos biológicos significativos sobre el fitoplancton y el bacterioplancton (Herndl y col. 2000, Vincent y Neale 2000). Numerosos estudios mostraron el efecto de la UV-B sobre el bacterioplancton (Herndl y col. 1993, Miller y col. 1999) que parece ser mas susceptible a los efectos de la UV-B que otros organismos planctónicos (Jeffrey y col. 1996). Se observaron también cambios en la composición de especies del bacterioplancton expuesto a estrés por UV-B (Arrieta y col. 2000). Por otro lado, también la UV-A (320-400 nm) es responsable de ciertos tipos de daño en bacterias marinas (Hebling y col. 1995). En este trabajo se aislaron dos cepas bacterianas de muestras de agua marina de superficie con el objetivo de: 1) estudiar el efecto de la exposición de las dos cepas bacterianas a diferentes longitudes de onda de radiación solar ultravioleta. 2) observar si hay recuperación en oscuridad después de la exposición a la radiación. 3) estudiar la relación entre la dosis de UV-B y la mortalidad producida.

Materiales y Métodos

Los estudios se llevaron a cabo en una playa de caleta Potter (62°14', 58°40'W), isla 25 de Mayo, Shetland de Sur, Antártida. Se aislaron dos cepas bacterianas dominantes en el agua marina superficial utilizando agar marino incubado a 4°C en oscuridad. La identificación se realizó por técnicas clásicas (sistema API20NF) y moleculares (secuenciación parcial del ADN_r16S). La radiación solar incidente se midió con un espectroradiómetro multicanal de UV, Bentham DM 150, desarrollado en el Alfred Wegener Institute (AWI). Los experimentos se realizaron en días con diferentes condiciones de radiación, preparándose cultivos mixtos en agua de mar estéril suplementada con 0,1 % p/v de peptona, con una concentración inicial de 10⁵-10⁶ UFC/ml en cada suspensión. Botellas de cuarzo con 50 ml de una suspensión bacteriana mixta se ubicaron en una cámara de incubación expuesta a la radiación solar. Un baño de agua de circulación continua permitía minimizar la oscilación térmica en los frascos (la temperatura media durante el ensayo fue 5,5 °C ± 1 °C). Los frascos se cubrieron con filtros interferenciales (Schott R), determinando diferentes tratamientos espectrales. En un set de experimentos se determinaron cuatro tratamientos 1) OSCURO (control), 2) RAF (Radiación Activa Fotosintética), frascos cubiertos con un filtro con corte para $\lambda < 400$ nm, 3) UVA (RAF + UV-A), cubiertos con filtro de 320 nm, 4) UVB (RAF + UV-A + UV-B), radiación total sin filtros. En otro set de experimentos se agregaron los siguientes tratamientos: 5) UVA360 (RAF + UV-A >360 nm), cubiertos con filtro 360 nm y UVB305 (RAF + UV-A + UV-B >305 nm) cubiertos con filtro 305 nm. Se tomaron muestras a diferentes tiempos de exposición y, en algunos experimentos, también después de 24 h en oscuridad a 4 °C. Se realizaron recuentos en placas con agar marino por el método de dilución, incubándose en oscuridad durante 7 días a 20 °C.

RESULTADOS

La cepa UVvi mostró alta homología (98%) con el género *Arthrobacter* mientras que la cepa UVps no mostró homología suficiente para asignarla a ningún género conocido, si bien está relacionada con el grupo *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*. (Hernández y col. 2004). En todos los experimentos de exposición a la radiación solar se vio un significativo descenso de las UFC/ml ($p < 0,05$) para ambas cepas en los tratamientos UVA y UVB comparados con los controles RAF y Oscuridad (en los cuales se observaron similares valores de viabilidad). En el experimento de la figura 1, en la primera hora de exposición (entre las 13 y las 14 hora local), con una dosis de UV-B de 6,03 kJ m⁻² se observó 91% de mortalidad para UVps y 69% para UVvi, resultado que confirma la mayor susceptibilidad de la cepa UVps a la radiación UV-B. También se observó que sólo la cepa UVvi mostró un incremento en la viabilidad después de 24 h en oscuridad (6% para el tratamiento UVB y 45% para el UVA). La figura 2 muestra resultados de un experimento realizado, en un día con alta irradiancia solar, usando diferentes filtros interferenciales. En dos horas de

exposición (11:30 a 13:30 h) la dosis de UV-B fue de $15,02 \text{ kJ m}^{-2}$, causando una mortalidad mayor al 99,99% en ambas cepas. El análisis de la respuesta espectral mostró un fuerte efecto deletéreo en los tratamientos UVB total, UVB305 y UVA320 cuyos valores de mortalidad difirieron significativamente del tratamiento UVA360. Finalmente la mortalidad es máxima para todos los tratamientos UV.

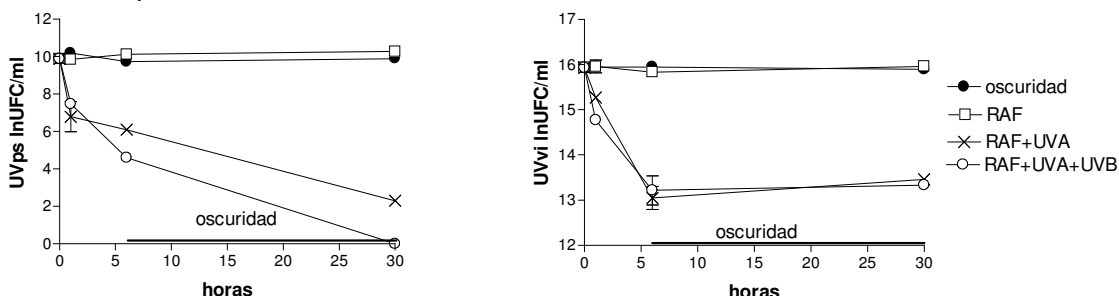


Fig 1: Efecto de la radiación solar sobre las cepas UVps y UVvi. Se incluye un periodo de 24 h de oscuridad. A la derecha de los gráficos se indican los tratamientos.

A partir de 10 experimentos de exposición a la radiación solar se comparó la mortalidad observada en cada una de las cepas a diferentes dosis de UV-B. La Tabla 1 muestra que a dosis de UV-B menores a $4,3 \text{ kJ m}^{-2}$ UVps mostró mayor sensibilidad que UVvi. Mientras que a dosis mayores no se observan diferencias significativas entre las cepas por el alto grado de mortalidad observada.

Dosis UV-B (J m^{-2})	% de Mortalidad, tratamiento UVB	
	UVps	<i>Arthrobacter</i> UVvi
1218	52	25*
2122	60	12*
2331	68	51*
3258	87	60*
4306	74	68
6030	91	68*
7001	92	92
9828	99	93
12 404	90	96
16 697	99	99

Tabla 1: Porcentajes de mortalidad mostrados por UVps y *Arthrobacter* UVvi bajo diferentes dosis de UV-B.

*diferencias significativas ($p < 0,05$) entre UVps y *Arthrobacter* UVvi.

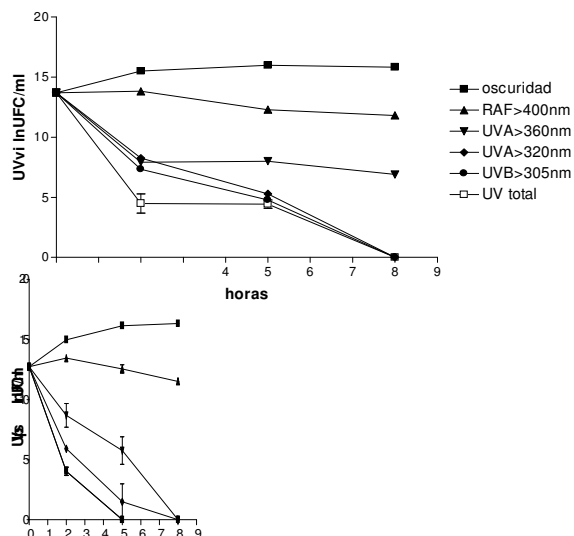


Fig 2: Efecto de la radiación solar sobre las cepas UVps y UVvi, con varios filtros solares interferenciales. A la derecha de los gráficos se indican los tratamientos utilizados.

CONCLUSIONES

Ambas cepas antárticas mostraron alta sensibilidad a la radiación UV-A y UV-B como ha sido reportado por otros autores (Elasri y Miller 1999). Se determinó que la cepa UVps

es más sensible que UVvi para dosis de UV-B menores de 4,3 kJ m⁻², esta diferencia de sensibilidad confirma estudios preliminares con estas cepas (Hernández y col. 2002). La menor sensibilidad de UVvi a la radiación UV podría sugerir la presencia de mecanismos más eficientes de recuperación en oscuridad, ya que en esa condición la cepa mencionada mostró un incremento en el número de UFC/ml luego de la exposición a UV-A.

Dentro de cierto rango de dosis UV-B, los resultados obtenidos en varios ensayos parecen indicar que la mortalidad bacteriana muestra cierta independencia del tiempo en el que se acumula esa dosis de UV-B. Las diferencias interespecificas en la sensibilidad a la radiación UV observada en las cepas estudiadas, muestran que un incremento en los niveles de radiación UV pueden determinar modificaciones en la estructura y dinámica del bacterioplancton marino antártico.

BIBLIOGRAFÍA

- Arrieta, J.M., Weinbauer, M.G. y Herndl, G.J. 2000. Interspecific variability in sensitivity to UV radiation and subsequent recovery in selected isolates of marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1468-1473.
- Elasri, M. O. & Miller, R. V. 1999. Study of the response of a biofilm bacterial community to UV radiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2025-2031.
- Helbling, E. W., Marguet, E. R., Villafañe, V.E. y Holm-Hansen, O. 1995. Bacterioplankton viability in Antarctic waters as affected by solar ultraviolet radiation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 166, 293-298.
- Hernández, E., Ferreyra, G. A. y Mac Cormack, W. P. 2002. Effect of solar radiation on two Antarctic marine bacterial strains. *Pol. Biol.* 25, 453-459.
- Hernández, E., Ferreyra, G. A. y Mac Cormack, W. P. 2004. Effect of solar radiation and the subsequent dark periods on two newly isolated and characterized Antarctic Marine Bacteria. *Polar research* 23, 67-77.
- Herndl, G. J., Arrieta, J. M., Kaiser, E., Obernosterer, I., Pausz, C. y Reitner, B. 2000. Role of ultraviolet radiation in aquatic systems: Interaction between mixing processes, photochemistry and microbial activity. In: C. R. Bell y col. (eds.): *Microbial Biosystems: New Frontiers*. Pp 209-219. Proceedings of the 8th ISME: Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Canada.
- Herndl, G.J., Muller-Niklas, G., y Frick, J. 1993. Major role of ultraviolet-B in controlling bacterioplankton growth in the surface layer of the ocean. *Letter to Nature*. 361:717-719.
- Jeffrey, W. H., Pledger, R. J., Aas, P., Hager, S., Coffin, R. B., Von Haven, R. y Mitchell, D.L. 1996. Diel and depth profiles of DNA photodamage in bacterioplankton exposed to ambient solar ultraviolet radiation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 137, 283-291.
- Miller, R.V., Jeffrey, W., Mitchell, D. y Elasri, M. 1999. Bacterial responses to ultraviolet light. *ASM News* 65, 535-541.
- Staehelin, J., Harris, N. R. P., Appenzeller, C. y Ebenhard, J. 200. Ozone trends: a review. *Rev. Geophys.* 39, 231-290.
- Vincent, W. F. y Neale, P. J. 2000. Mechanisms of UV damage to aquatic organisms. In S. J. de Mora et al. (eds.): *The Effects of UV Radiation in the Marine Environment*. Pp 149-156. Cambridge: Cambridge University Press, UK.