

# AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE FÓSFORO EM COMUNIDADES FITOPLANCTÔNICAS NATURAIS DA BAÍA DE GUANABARA (RJ-BRASIL) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE MARCADORES ENZIMÁTICOS FLUORESCENTES

Domênica T. Lima - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Oceanografia, Rio de Janeiro, RJ. domenicatlima@hotmail.com;

Gleyci A. O. Moser - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Oceanografia, Rio de Janeiro, RJ.

# INTRODUÇÃO

A dinâmica das populações de microalgas em diferentes regimes hidrográficos e a seleção ecológica de espécies bem sucedidas são influenciadas por suas características fisiológicas, bioquímicas e comportamentais. Cada espécie fitoplanctônica possui diferentes combinações de características adaptativas, que de muitas maneiras definem o seu nicho (CULLEN & MCINTYRE, 1998). O conhecimento das adaptações desenvolvidas por diferentes espécies fitoplanctônicas é uma forma de compreender e descrever o padrão de abundância em função da distribuição de nutrientes, já que a utilização de recursos como luz e nutrientes é determinante para a composição da comunidade fitoplanctônica e sua sucessão (MARGALEF, 1978). As diferenças taxonômicas na composição de nutrientes celulares como nitrogênio (N) e fósforo (P), estão relacionadas às variações no desenvolvimento das espécies e taxas de assimilação. Espécies diferentes possuem constantes de meia saturação distintas, o que resulta no ambiente, em competição e dominância em relação aos fatores ambientais (EGGE & ASKNES, 1992). As variações nas concentrações internas de proteínas, ácidos nucléicos, fosfolipídios e reservas de fósforo e nitrogênio estão relacionadas a diversos fatores, como histórico nutricional da célula, diferenças fisiológicas e taxonômicas (FALKOWSKI, 2000). Uma forma de avaliar a condição nutricional das células fitoplanctônicas é através da determinação de enzimas envolvidas nos processos de incorporação de nutrientes em comunidades fitoplanctônicas naturais incubadas em condições controladas de luz e temperatura. Nesse sentido, a análise da atividade da fosfatase alcalina (PA) através de ensaios enzimáticos é uma ferramenta útil na determinação das condições de repleção ou depleção de fósforo inorgânico em células fitoplanctônicas, uma vez que a atividade da fosfatase alcalina está associada à incorporação de fósforo orgânico quando a célula está limitada por ortofosfato (i.e. BEARDALL et al., 2001).

#### **OBJETIVOS**

Avaliar as diferenças na atividade da PA e na incorporação de fósforo orgânico em bioensaios com a Comunidade fitoplanctônica natural da Baía de Guanabara, através da técnica de marcadores moleculares fluorescentes (ELF 97).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos manipulativos com a comunidade fitoplanctônica natural foram realizados em 2012, em uma estação localizada nas proximidades da Ponte Rio Niterói (22o 54'S, 43o 09' W). As amostras foram coletadas com garrafa de Van Dorn e o microfitoplâncton foi concentrado através de rede com malha de 20 µm. Os experimentos foram realizados em triplicatas considerando 4 tratamentos com diferentes proporções de fósforo (N:P = 24, N:P = 48, N:P = 96 e N:P = 144) (GUILLARD & RYTHER, 1962) e mantidos em uma câmara incubadora sob condições

controladas de luz e temperatura. A atividade da fosfatase alcalina foi determinada através de um kit para detecção de fosfatase endógena, o ELF-97 (Molecular Probes, E-6601®) segundo González-Gil *et al.* (1998), modificado por Dyhrman & Palenik (2001). Os organismos foram examinados com um microscópio óptico de epifluorescência Nikon® (Eclipse E200) através de contagens de células totais e com precipitado de ELFA (denominadas positivas).

#### RESULTADOS

Em todos os tratamentos, houve alta densidade de prasinofíceas e diatomáceas cêntricas, que foram representadas por diatomáceas cêntricas não identificadas, *Rhizosolenia* sp. e *Thalassiosira* sp.. A atividade da fosfatase alcalina ocorreu a partir do 6º dia; em todos os tratamentos, os dinoflagelados, representados principalmente pelo gênero *Prorocentrum* sp., apresentaram maior atividade desta enzima, com 78% de células marcadas em F/4. Cabe ressaltar, que neste meio houve uma importante contribuição de diatomáceas cêntricas não identificadas e do gênero *Rhizosolenia* sp., contudo, apenas 9,8% deste grupo continham células marcadas.

## **DISCUSSÃO**

As diferenças interespecíficas observadas na atividade da fosfatase alcalina se devem a uma estratégia de sobrevivência das microalgas em condições limitantes de fósforo, pois quando limitadas por este nutriente assimilam fósforo orgânico e por consequência há a atividade enzimática. Essa estratégia é observada principalmente em dinoflagelados, pois esta classe possui comprovada habilidade de incorporar fósforo orgânico (HEIL *et al.*, 2005). Os dinoflagelados, representados principalmente por espécies do gênero *Prorocentrum* sp., apresentaram as maiores abundâncias relativas das células positivas, esses resultados corroboram os de Heil (op. cit.); entretanto, as diatomáceas apresentaram as maiores contribuições ao longo dos experimentos; possivelmente foram favorecidas pela presença de bactérias remineralizantes, redisponibilização dos nutrientes inorgânicos pelo bacterioplâncton, excretas, exudados e, ainda, maiores reservas internas.

## **CONCLUSÃO**

A comunidade fitoplanctônica natural da Baía de Guanabara apresentou diferenças interespecíficas na atividade da fosfatase alcalina, com maior ocorrência na incorporação de fósforo orgânico pelos dinoflagelados, relacionado ao aumento da atividade desta enzima e predominância de diatomáceas ao longo de todo experimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEARDALL, J.; YOUNG, E.; ROBERTS, S. 2001. Approaches for determining phytoplankton nutrient limitation. Aquat. Sci. 63: 44–69.

CULLEN, J.J. & MACINTYRE, J. G. 1998. Behavior, physiology and the niche of depth-regulating phytoplankton. Physiol. Ecol. of Harmful Algal Blooms. NATO ASI Series, Vol. G 41:1-21.

DYHRMAN, S.T.; PALENIK, B. 2001. A single cell immunoassay for phosphate stress in the dinoflagellate Prorocentrum minimum. J. Phycol. 37: 400-410.

EGGE, K.; AKSNES, D. L. 1992. Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. Mar. Ecol. Prog. Ser. 281-289.

FALKOWSKI, P.G. 2000. Rationalizing elemental ratios in unicellular algae. J. Phycol. 36: 3-6. GONZÁLEZ-GIL, S.; KEAFER, S.V.; JOVINE, V. M. R.; AGUILERA, A.; LU, S.; ANDERSON, D. M. 1998. Detection and quantification of alkaline phosphatase in single cells of phosphorus-starved marine phytoplankton. Mar. Ecol. Prog. Ser. 164:21-35.

GUILLARD, R. R. L. & RYTHER, J. H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms Cyclotella nana and Detonula confervacea. Can. J. Microbiol. 8: 229-239.

HEIL, C.A.; GILBERT, P.M.; FAN, C. 2005. Prorocentrum minimum (Pavillard) Schiller a review of a harmful algal bloom species of growing worldwide importance. Harmful algae. v. 4, p. 449-470.

MARGALEF, R. 1978. Life forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. Oceanol. Acta. 1:493-509.

## Agradecimento

**CAPES FAPERJ**