



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultat de Ciències

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

# Mas allá de la ley de Stokes: sedimentación activa en fitoplanctón.

Pilar Roig Rotger

**Grau de Física**

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Idan Tuval.  
Departament de Física.

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:  
sedimentación, regulación de flotabilidad, diatomeas, mecano-sensibilidad



# Índice

<b>1. Introducción</b>	<b>3</b>
1.1. Regulación de flotabilidad . . . . .	4
1.2. Respuesta a estímulos mecánicos . . . . .	7
1.3. Movimiento de una partícula en un flujo externo . . . . .	8
<b>2. Métodos</b>	<b>10</b>
2.1. Cultivo de células . . . . .	10
2.2. Sistema fluídico y microscopía . . . . .	10
2.3. Experimento y análisis . . . . .	12
<b>3. Resultados</b>	<b>13</b>
<b>4. Discusión de los resultados y futuras investigaciones</b>	<b>15</b>
<b>5. Conclusiones</b>	<b>16</b>

## Resumen

Las diatomeas son un componente clave en el ecosistema marino debido a su abundancia y relevancia ecológica. Aunque son organismos no-móviles las diatomeas no se hunden de manera pasiva siguiendo la ley de Stokes, si no que han desarrollado sofisticadas estrategias para responder activamente a señales ambientales permitiéndolas modificar su actividad metabólica y regular su flotabilidad. En concreto se ha demostrado que las diatomeas son capaces de responder a estreses mecánicos en escalas de tiempo muy pequeñas. Motivados por la regulación fisiológica de la flotabilidad de las células y su capacidad mecanosensora, en este trabajo buscamos cuantificar experimentalmente esta respuesta a estímulos mecánicos sometiendo las células a diferentes caudales.

## 1. Introducción

Las diatomeas son un grupo de algas microscópicas unicelulares e inmóviles abundantes en prácticamente todos los habitats acuáticos. Su tamaño puede variar entre los 5 y los  $200\mu\text{m}$  en diámetro o longitud y pueden aparecer en la naturaleza formando cadenas, libres o unidas a un sustrato.

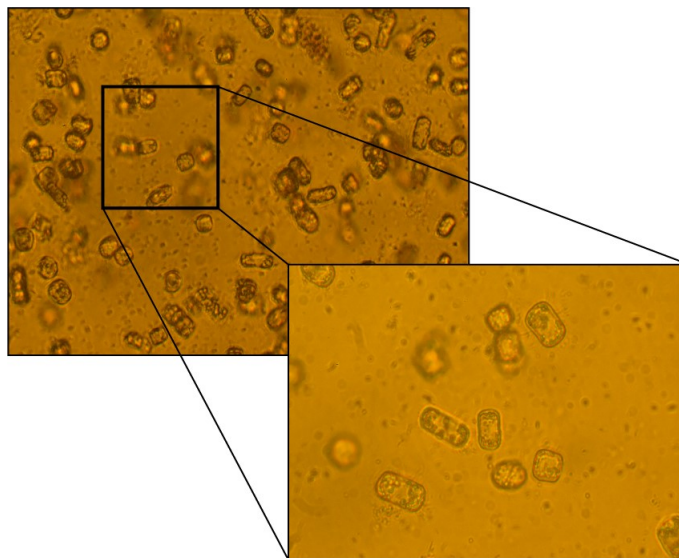


Figura 1: Imágenes de *Thalassiosira pseudonana* tomadas con un microscopio a magnificaciones x20 y x40

La característica taxonómica más importante de las diatomeas es que la célula está compuesta por una pared exterior (frústula), revestida con una membrana plasmática. La frústula de las diatomeas es especialmente característica ya que está compuesta por dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) y generalmente consiste en dos mitades llamadas valvas. Estas dos valvas tienen tamaños ligeramente distintos. La valva más grande recibe el nombre de epitoca y la más pequeña hipoteca y ambas juntas forman una especie de caja. El interior de la célula típicamente está formado por el citoplasma, que contiene el núcleo y las vacuolas, que puede llegar a formar hasta el 70% de todo el volumen de la célula.

Las diatomeas resultan de gran relevancia ecológica. Por un lado se estima que generan aproximadamente el 20 % de la producción de oxígeno en el océano, también representan una gran parte de la fijación de carbono y nitrógeno del planeta, llegando a transportar un 50 % de estas sustancias al fondo del océano [26]. Para llevar a cabo estos procesos las diatomeas necesitan permanecer en la zona eufótica, que es la capa superior del océano donde llega la luz del sol. Además, éstos organismos unicelulares son grandes indicadores de factores medioambientales ya que responden rápidamente a estímulos químicos, físicos y biológicos.

Debido a estas cualidades que presentan es importante comprender como las diatomeas se distribuyen y comportan en la columna de agua y por tanto, los mecanismos detrás de la suspensión y sedimentación de las diatomeas siguen siendo un aspecto clave.

### 1.1. Regulación de flotabilidad

La velocidad con la que una partícula se hunde en un medio líquido depende del tamaño, la forma y densidad de la partícula, y de la densidad y viscosidad del medio, como dicta la ley de Stokes:

$$U = \frac{2(\rho_{tot} - \rho_w)gr^2}{9\mu} \quad (1)$$

dónde  $\rho_{tot}$  es la densidad media de la diatomea,  $r$  su radio,  $\rho_w$  la densidad del medio fluido en el que sedimentan las partículas, la aceleración de la gravedad  $g = 9,8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$  y  $\mu$  la resistencia viscosa del fluido. La ley de Stokes es cierta para números de Reynolds muy pequeños ( $Re \ll 1$ ) y para partículas esféricas y con densidades uniformes. Las diatomeas presentan una gran variedad de tamaños y formas. Sus densidades tampoco son homogéneas, estando compuestas por una pared de silicatos rígida que envuelve la vacuola. Aún así, en diversos estudios se ha visto que las velocidades de sedimentación para diatomeas muertas o fisiológicamente inactivas presentan un comportamiento que en última instancia se ajusta aproximadamente a la ley de Stokes [28]. Cuando éstas están fisiológicamente activas, la historia es otra.

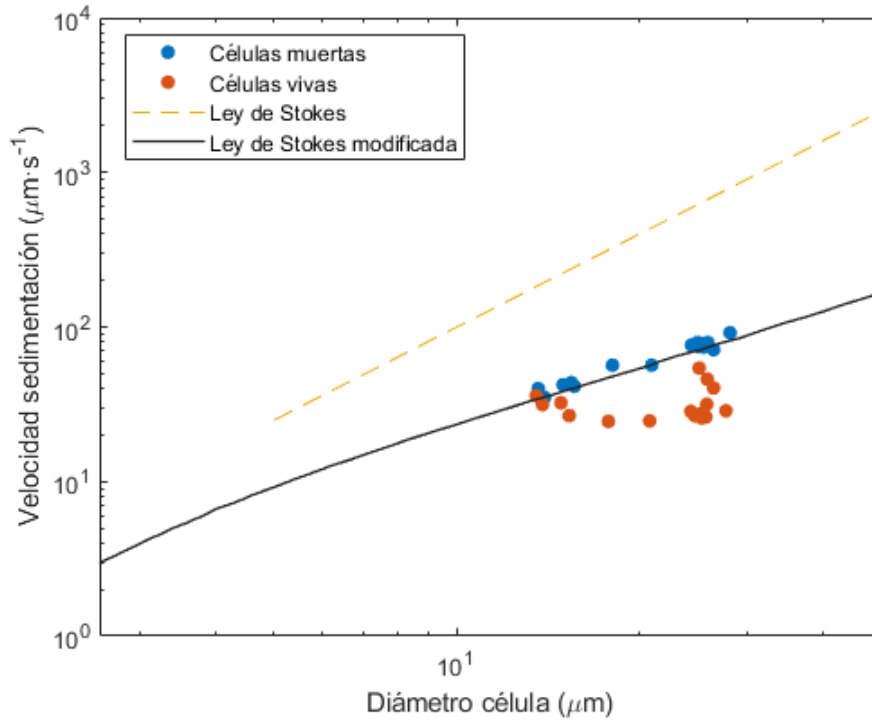


Figura 2: Gráfico de las velocidades de sedimentación en función del diámetro de las células. Datos de [20]

En esta figura 2 obtenida a partir de datos del libro *Ecology of Phytoplankton* [20], dónde las velocidades de sedimentación para células muertas están correlacionadas y se aproximan al comportamiento predicho por la ley de Stokes. En [27, 17] se obtuvieron valores de escala que iban de 1 a 2, dependiendo de la especie. Para el caso de células vivas las velocidades de sedimentación intrínsecas varían, no habiendo ninguna correlación aparente entre el diámetro de la célula y su velocidad de sedimentación. En [17] se extiende la ley de Stokes para incluir distribuciones de densidad no uniformes dónde tienen en cuenta las diferentes densidades de la frústula ( $\rho_{fr}$ ) de la célula y del citoplasma ( $\rho_{cyt}$ ), donde el grosor de la frústula es función de su radio ( $t = r^a$ ):

$$U = \frac{2g}{9\mu} \left[ \rho_{cyt} \frac{(r - br^a)^3}{r} + \rho_{fr} \frac{3r^2br^a - 3rbr^{2a} + br^{3a}}{r} - \rho_w r^2 \right] \quad (2)$$

En la figura 2 aparece representada la curva correspondiente a esta modificación de la ley de Stokes, comprobando que las velocidades de sedimentación para células muertas se ajustan perfectamente a este modelo.

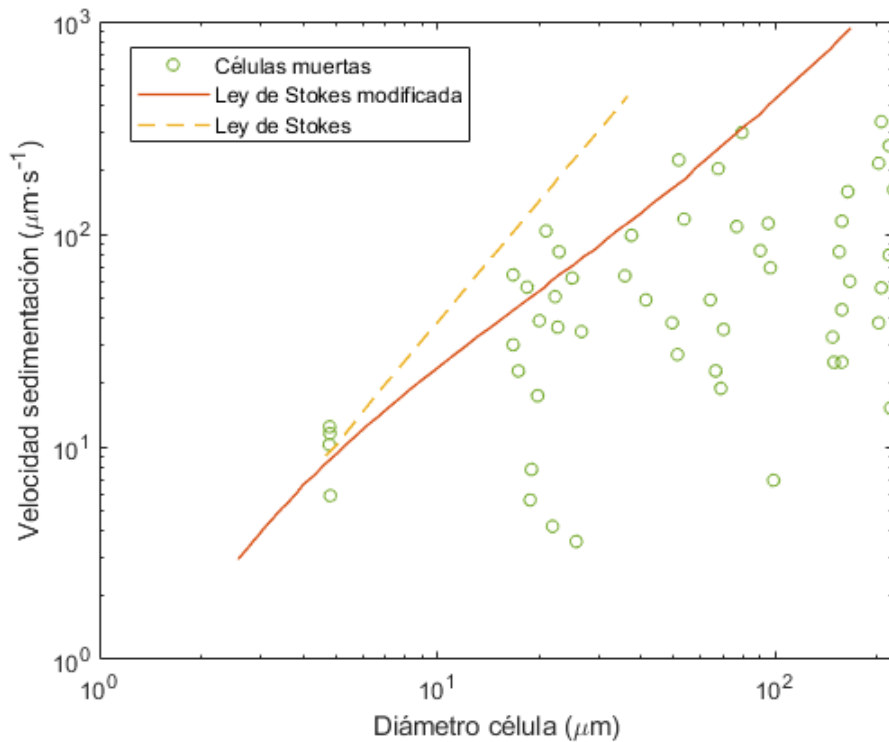


Figura 3: Gráfico de las velocidades de sedimentación en función del diámetro de las células. Datos de [17]

Se puede observar en la figura 3 que la ley de Stokes modificada (Eq. 2) también se ajusta mejor que la ley de Stokes tradicional al rango superior de datos. Aunque este modelo funciona mejor al predecir las velocidades de sedimentación, obteniendo factores de escala entre 1 y 2 dependiendo del tamaño, densidad e incluso forma de la diatomea, éste modelo sigue sin explicar porque la velocidad máxima de sedimentación de las diatomeas no sigue la ley de Stokes para diferentes tamaños para células vivas.

Como fotosintetizadores, las diatomeas deben mantenerse en la capa más superficial de la columna de agua (la zona eufótica) para capturar la luz del sol. Éstas también necesitan nutrientes para crecer y reproducirse, que normalmente se encuentran concentradas en capas inferiores del océano. ¿Cómo consiguen, entonces, mantenerse cerca de la superficie del agua sin poseer capacidad mótil? El hecho de que las diatomeas tienen control fisiológico sobre su flotabilidad surgió tras observarse que las velocidades medias de sedimentación eran mayores en células muertas, cuando éstas son incapaces de controlar su metabolismo. Este control fisiológico ocurre mediante cambios en la densidad de la célula. Una célula puede cambiar su densidad cambiando su composición para favorecer sustancias más pesadas (carbohidratos o proteínas) o sustancias más ligeras (lípidos), o intercambiando las concentraciones de iones ligeros y pesados en su vacuola. Cambiando su densidad, las especies de diatomeas más grandes pueden incluso tener flotabilidad positiva. Las diatomeas llevan a cabo éste proceso como respuesta a variaciones en temperatura, salinidad, irradiancia y concentración de nutrientes y su respuesta puede tener lugar en escalas de tiempo de segundos. Éste comportamiento les permite modificar rápidamente sus velocidades. Así, cuando hay

nutrientes disponibles en la zona eufótica, velocidades pequeñas de sedimentación permiten a la célula mantenerse en capas superficiales donde disponen de la luz solar. Cuando, por el contrario, el acceso a nutrientes es limitado en la zona eufótica las diatomeas pueden aumentar sus velocidades medias de sedimentación permitiéndoles descender más rápidamente a profundidades donde los niveles de nutrientes son más altos.

## 1.2. Respuesta a estímulos mecánicos

Además de responder activamente a señales medioambientales como la disponibilidad de recursos o la cantidad de luz incidente, uno de los estreses abióticos más habituales a los que está sometido el fitoplancton son los estreses provocados por turbulencias y el movimiento relativo del medio fluido en el que habitan. La pregunta que nos hacemos es si las células son capaces de responder fisiológicamente a estos estímulos mecánicos.

En [8] se midió la respuesta de las diatomeas a estímulos mecánicos inyectando agua de mar artificial (ASW) con una jeringa. Estas variaciones en el flujo daban lugar a la liberación de iones de calcio citosólico ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ), señal característica de la activación de canales de transductancia (es decir, la respuesta a un estímulo percibido). También se han visto cambios en la expresión genética de algunas especies de diatomeas marinas en flujos turbulentos, incluso en medios con exceso de nutrientes, indicando que las diatomeas responden a estímulos mecánicos en escalas de tiempos de segundos después de haber sido aplicado el estímulo. Para entender un poco mejor este comportamiento de las diatomeas ante un flujo, primero hay que indagar un poco en los mecanismos de percepción de estímulos.

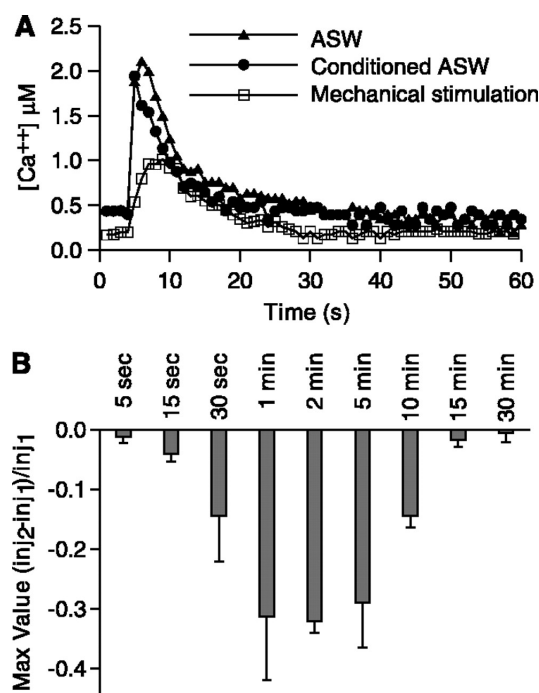


Figura 4: Gráfico donde se observa un pico de  $Ca^{2+}$  como respuesta a un estrés mecánico. Figura de [8]

Los estímulos mecánicos están presentes en todas partes. Cualquier tipo de célula, para



sobrevivir y desarrollarse, tiene que adaptarse a diversos estímulos mecánicos del medio en el que se encuentre, como flujos en el líquido para el caso de las diatomeas. Los mecanismos por los cuales las células perciben e interpretan esas fuerzas físicas por una parte y las traducen en respuestas biológicas y bioquímicas por otra es lo que se conoce como mecano-sensibilidad y -transductancia. En microorganismos mótils la mecano-transductancia facilita la formación o segregación de "clusters", variaciones en los ciclos de vida o formación de capas de fitoplancton.

Aunque se desconoce el mecanismo mediante el cual las diatomeas llevan a cabo esta traducción de una señal mecánica a una respuesta bioquímica, el trabajo de Falciatore ([8]) indica que en este proceso interviene la apertura de canales iónicos. Todos los organismos poseen canales iónicos mecano-sensibles en las membranas. Estos canales, pueden ser directamente activados cuando, por ejemplo, una fuerza de cizalladura deforma la membrana, y convertir esta señal mecánica en una señal eléctrica o controlar mensajeros secundarios que a su vez, activan otros canales de iones.

### 1.3. Movimiento de una partícula en un flujo externo

La dinámica de una partícula inercial en un flujo externo viene descrita de manera bien aproximada por la ecuación de Maxey-Riley (Eq.3)

$$\begin{aligned}
\left(1 - \frac{R}{2}\right)\rho_p \frac{d^2 \vec{x}_p}{dt^2} = & - \left[ \left(1 - \frac{R}{2}\right)\rho_p - R \right] \frac{v_s}{\left(1 - \frac{3R}{2}\right)S_t} \vec{k} \\
& + R \frac{D\vec{u}}{Dt} - \frac{1}{2}R \frac{d}{dt}(\vec{u}_p - \vec{u}) \\
& + \frac{1}{S_t}(\vec{u}_p - \vec{u})
\end{aligned} \tag{3}$$

donde  $\vec{x}_p$  representa la posición de la partícula,  $\vec{u}_p$  su velocidad y  $D\vec{u}/Dt$  la derivada a lo largo de la trayectoria del flujo y  $d\vec{u}/dt$  la derivada a lo largo de la trayectoria de la partícula. También aparecen los parámetros  $S_t$  (número de Stokes) que representa la inercia de la partícula,  $R$  que define el ratio de las masas, y la velocidad de sedimentación de una partícula en un flujo que no se mueve. Lo significativo de este modelo a éste trabajo es el primer término de la ecuación (3)  $-\left[ \left(1 - \frac{R}{2}\right)\rho_p - R \right] \frac{v_s}{\left(1 - \frac{3R}{2}\right)S_t} \vec{k}$ , que define la flotabilidad de la partícula.

Para modelar los cambios en la flotabilidad cuando un estrés mecánico es aplicado, en [2] consideraron que la densidad de la partícula  $\rho_p$  cambia linealmente con la deformación local del flujo  $\dot{\epsilon}$ . Dicho modelo muestra como el control de flotabilidad reduce de manera significativa las velocidades de sedimentación al cambiar la densidad de la célula. Estos cambios en la flotabilidad tiene importantes implicaciones en la distribución espacial de las células en la columna de agua y en los tiempos de escape al fondo del océano.

En otro estudio [priv. comm.] utilizan la misma ecuación para desarrollar un modelo para simular la relación entre la regulación de flotabilidad que poseen las células de fitoplancton que no poseen motilidad y su respuesta fisiológica a estímulos mecánicos. Por primera vez se pone de manifiesto el impacto directo de la turbulencia en la distribución oceánica de

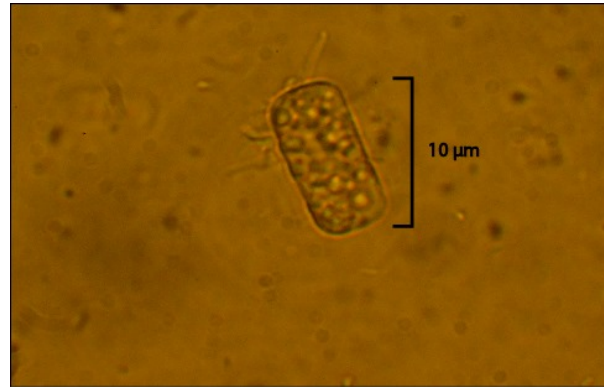
las células dando lugar a formación de "clusters", favoreciendo encuentros sexuales y otros procesos importantes para la supervivencia de la población; afectando a la velocidad media de las partículas permitiéndolas permanecer cerca de la superficie del océano para realizar la fotosíntesis o hundirse rápidamente a capas dónde la disponibilidad de nutrientes es más abundante; y también potenciando la segregación de poblaciones distintas, facilitando la competencia por los recursos.

Debido a las implicaciones ecológicas de las respuestas fisiológicas de las poblaciones de diatomeas y a pesar de las evidencias existentes de una regulación activa de la flotabilidad por parte de las diatomeas en ciertas condiciones y de la respuesta de éstas a estímulos mecánicos, nunca se han puesto ambos aspectos juntos. Con este trabajo se persigue cuantificar estas mecano-respuestas midiendo directamente cambios en el ritmo de sedimentación cuando las células son expuestas a diferentes caudales.

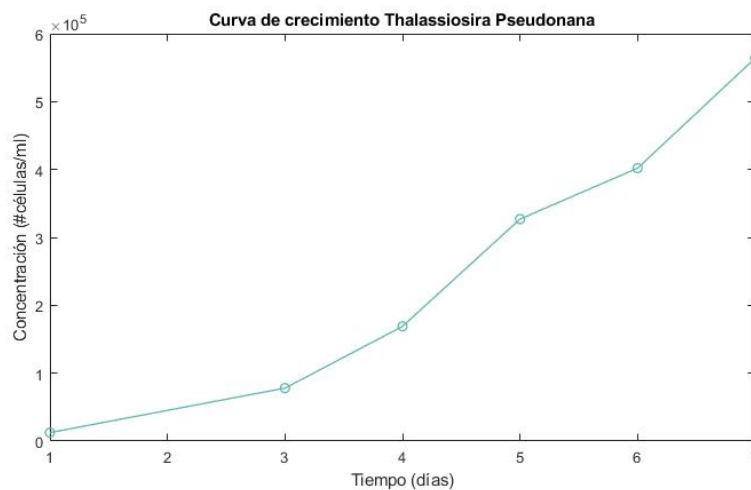
## 2. Métodos

### 2.1. Cultivo de células

Las células de *Thalassiosira pseudonana* fueron cultivadas en flascos Erlenmeyer conteniendo 100mL de medio f/2 + silicatos ( $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a  $15^\circ$ . Para mantener las células en su fase exponencial los cultivos eran transferidos una vez a la semana (diluidos un factor x20).



(a)



(b)

Figura 5: a) Imagen de *Thalassiosira pseudonana* tomada con un microscopio a magnificaciones con una magnificación x100 donde se muestra el tamaño típico de esta especie de diatomea. b) Curva de crecimiento de *Thalassiosira pseudonana* donde se puede ver la zona de crecimiento exponencial.

### 2.2. Sistema fluídico y microscopía

Para la elaboración de los canales de microfluidica se creó un molde pegando un capilar cuadrado (dimensiones exteriores de 1.4 mm de lado, longitud: 5 cm) a un portaobjetos de cristal con pegamento óptico ultravioleta. A continuación, se vertía sobre el molde Polydimethylsiloxane (PDMS), una sustancia que pertenece al grupo de las siliconas. Al curar esta silicona a  $90^\circ$  durante 30 minutos se solidifica obteniendo canales de dimensiones 1.4 mm

x 1.4 mm x 50 mm. A continuación, se hacían dos agujeros de 1mm de diámetro a ambos extremos del canal y éste se sellaba a un portaobjetos de cristal utilizando un sistema de plasma de baja presión (CUTE; FemtoScience).

Para el montaje experimental, el canal creado se sujetaba verticalmente sobre una mesa óptica (ScienceDesk; Thorlabs) entre una lámpara de diodos emisora de luz de campo oscuro en forma de anillo (S80-55; Schott) y un microscopio de foco continuo (InfiniVar GS, 160mm lente tubular; Infinity) con una magnificación x7. Al final del microscopio se encontraba fijada una cámara de 4-megapíxeles (CMOS UI-33770CP-NIR-GL R2; iDS).

La entrada superior del canal se conectaba mediante un tubo de Tygon a una jeringa (100 $\mu$ l, modelo 1750; Hamilton) que se encontraba acoplada a una bomba de jeringa (Fusion 200; Chemyx). El extremo inferior del canal se conectaba de la misma manera a un tubo de Falcon de 15 ml que contenía la suspensión de células previamente preparada. Todo el circuito era rellenado con la suspensión cuidadosamente para no atrapar aire en el interior de los tubos o del canal. Una vez todo estaba conectado, se succionaban las células contenidas en el tubo de Falcon a 50  $\mu$ l $\cdot$ min<sup>-1</sup> durante 2 minutos utilizando la bomba de jeringa para conseguir una distribución más o menos uniforme de las células dentro del canal de observación.

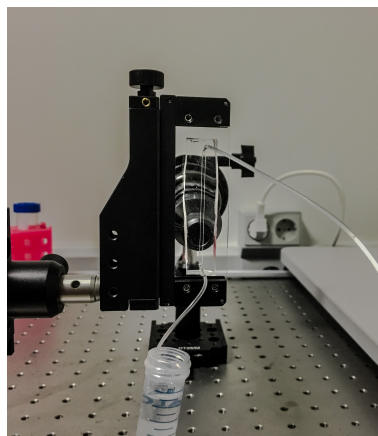


Figura 6: Detalle del canal de microfluidica una vez añadido al montaje experimental.

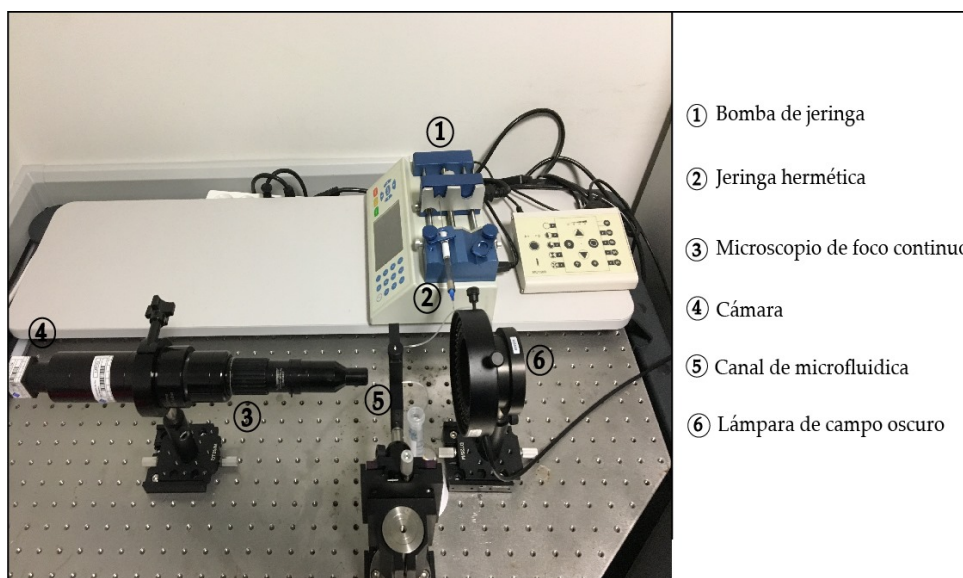


Figura 7: Imagen del montaje experimental

### 2.3. Experimento y análisis

Para crear los forzamientos sinusoidales se utilizó un algoritmo de MATLAB que se comunicaba con la bomba de jeringa. El algoritmo permite crear una función sinusoidal con una frecuencia y amplitud del forzamiento deseado. Para los experimentos se aplicaron caudales que iban desde los  $15 \mu\cdot\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  a los  $105 \mu\cdot\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  con una frecuencia de oscilación de 10s durante un sólo periodo de forzamiento. Inmediatamente después de que el flujo se detuviera, se grababa la sedimentación de las células a 2 imágenes por segundo (fps) durante 200 s (para células vivas) y 400 s (para células muertas). Este proceso se repitió 10 veces para cada amplitud del forzamiento para obtener una buena estadística.

Para el tratamiento con células muertas éstas eran fijadas con una disolución de Lugol ( $\text{I}_2$ ) al 1%. Durante las primeras pruebas experimentales se observó que las células muertas sedimentan mucho más deprisa que las células vivas y a lo largo del experimento se perdían aquellas diatomeas que estaban en el centro de la distribución de velocidades, quedando solamente las más lentas. Debido a esto, los resultados obtenidos durante estos primeros intentos eran incorrectos. Para solucionar este problema se aumentó la viscosidad del fluido mediante una disolución de metilcelulosa al 0.5%. La metilcelulosa es un compuesto químico derivado de la celulosa que a bajas concentraciones no afecta a la fisiología de la célula y cuyo efecto es aumentar la viscosidad del medio fluido manteniendo su comportamiento de fluido Newtoniano. Por lo tanto, el incremento de la viscosidad afecta de manera inversamente proporcional a la velocidad terminal de la partícula en el medio.

Posteriormente se analizaban las imágenes obtenidas durante la grabación con un algoritmo de MATLAB que permite realizar un seguimiento célula a célula de las trayectorias que siguen. La primera parte de este algoritmo permite fijar una serie de parámetros (radio máximo, ratio mínimo de intensidad/pixel, excentricidad del carácter) que determinan las características que tendrán las células que queremos identificar y rechazar aquellas que no queramos seguir (bien sea porque no están enfocadas o porque son otro tipo de partícula en suspensión no deseada). El resultado de esta función es una matriz MT que contiene todas las diatomeas aceptadas por el algoritmo y se realiza el rastreo de éstas células imagen a imagen, obteniendo los valores del desplazamiento que realizan. A partir de estos datos se calculaba la velocidad instantánea de las diatomeas en cada "frame".

### 3. Resultados

Se midió la variación en la velocidad de sedimentación de la *Thalassiosira pseudonana* cuando éstas eran sometidas a forzamientos de diferente magnitud. Durante el experimento, se crearon flujos periódicos de la forma  $f(t) = \epsilon \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$ . El forzamiento se fijó para un solo periodo de oscilación de  $T=10s$ . En este trabajo no se ha calculado la fuerza de la cizalladura como tal, si no el caudal que era inyectado (o succionado) por la jeringuilla ( $\epsilon(\mu l \cdot \text{min}^{-1})$ ) que a su vez es la amplitud del forzamiento sinusoidal.

En la figura 8 están representadas las velocidades medias de sedimentación para el caso de células muertas y para células fisiológicamente activas para diferentes caudales.

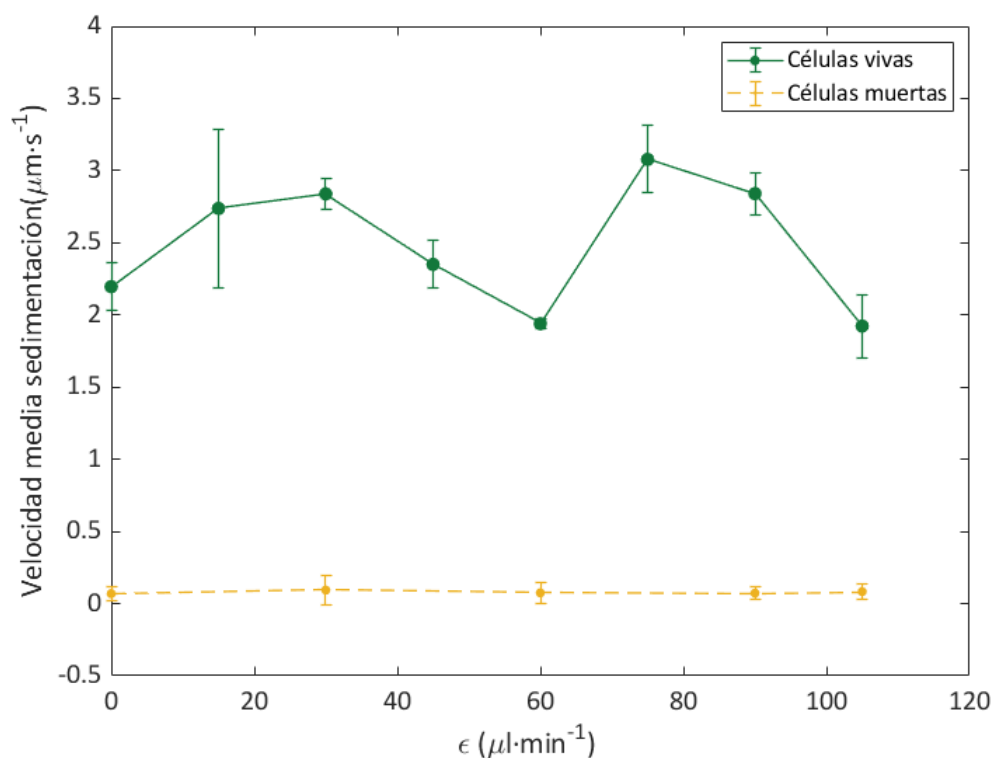
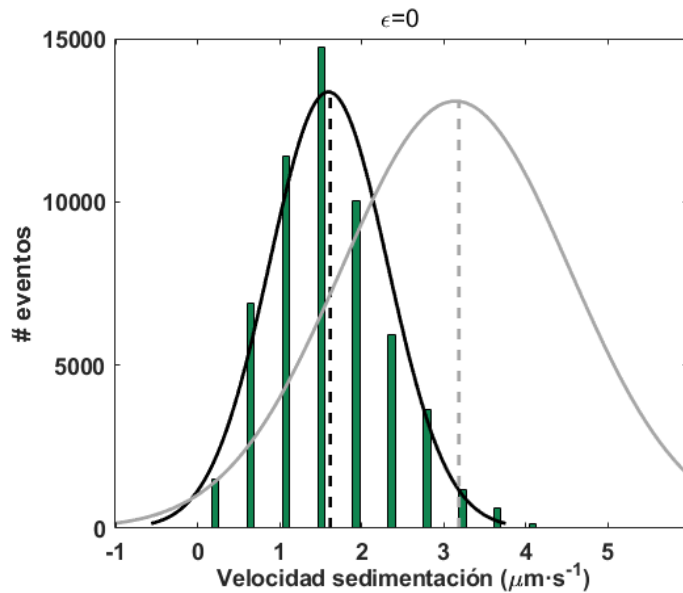


Figura 8: Comparativa de las velocidades medias de sedimentación para el caso de células vivas y células muertas.

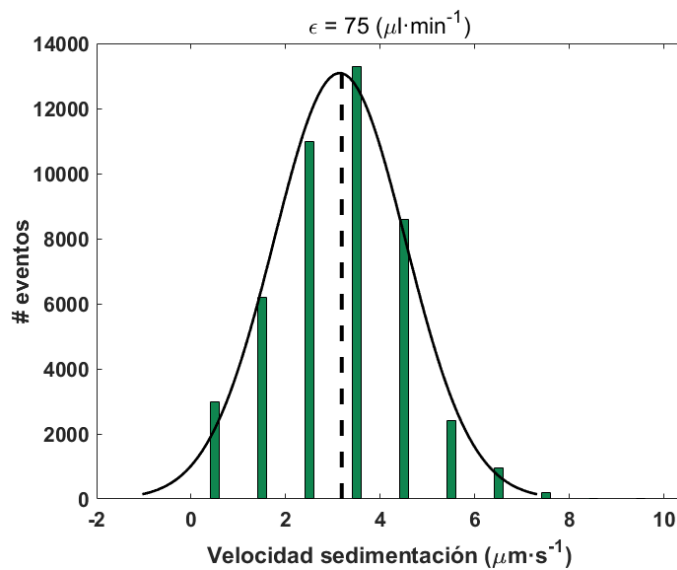
En el caso en que las células no pueden regular su flotabilidad los valores se mantienen más o menos constantes independientemente del forzamiento a la que se hayan sometido, sosteniendo los comportamientos ya vistos en otros trabajos ya mencionados. En este caso los valores de las velocidades no son representativas, ya que, como se ha comentado en el apartado de "Experimento y análisis", se aumentó la viscosidad del medio con una disolución de Metilcelulosa al 0.5%. Aunque no hemos realizado medidas independientes en este trabajo, las propiedades reológicas de la Metilcelulosa son bien conocidas.

La curva que se obtiene en el caso en que las células están fisiológicamente activas, en cambio, no es monótona, presentando una alta variación en la velocidad de sedimentación.

Estas llegan a cambiar en un 50 %, abarcando valores desde  $1.9\mu$  m·s para un caudal de  $105\mu$ l·min hasta valores de  $3.1\mu$  m·s para  $\epsilon = 75\mu$ l·s. Que los valores no sean constantes indica que existe, efectivamente, una regulación activa en la flotabilidad de las diatomeas. También vemos que la función respuesta que se obtiene no es trivial, al no ser una curva monotona, con posibles rangos naturales de optimización de la respuesta a rangos particulares de cizalladura.



(a)



(b)

Figura 9: Distribuciones de velocidades de sedimentación instantaneas para el caso a) sin ningún caudal aplicado, dónde se compara con la curva de distribución para  $\epsilon = 75\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  del histograma b)

Los histogramas ilustran el rango de velocidades de sedimentación instantaneas para diatomeas sometidas a dos caudales distintos. Para el caso en el que las células no eran sometidas a ningún estrés mecánico ( $\epsilon = 0$ ) los valores van desde mínimos de  $0,22\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  hasta máximos de  $4,09\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , valores que concuerdan con las velocidades de sedimentación medidas en otros trabajos (i.e [24]) para diatomeas del mismo tamaño. Al comparar las funciones de distribución de probabilidad para el caso  $\epsilon = 0$  y el experimento en el que las células están sometidas a un caudal de  $75\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ , vemos que no solamente la velocidad media de sedimentación aumenta, como ya se había comentado, si no que la distribución se vuelve más ancha.

#### 4. Discusión de los resultados y futuras investigaciones

Los resultados obtenidos muestran altas variaciones en las velocidades medias de sedimentación para la *Thalassiosira pseudonana* cuando las células están vivas, y esto a su vez indica un claro control fisiológico en su flotabilidad. Aún así, no podemos decir que la curva que se observa sea fiable ya que los valores medios para las velocidades han sido obtenidos sobre 10 repeticiones de las últimas medidas realizadas. Se deberían realizar más experimentos bajo las mismas condiciones para mejorar la estadística de los resultados.

Se puede realizar una primera estimación de los valores de cizalladura a los que corresponden los caudales producidos en nuestro experimento si consideramos que se trata de un flujo de Poiseuille. Las velocidades de los flujos creados abarcan desde los  $0,13\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$  para un caudal de  $15\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  hasta los  $0,89\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$  para un caudal de  $105\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  que corresponden a cizalladuras de  $0,09\text{s}^{-1}$  a  $0,64\text{s}^{-1}$ . Estas cizalladuras son muy similares a valores de campo cerca de la superficie en mar abierto, cubriendo así valores habituales por debajo de la pycnoclina ( $<0,05\text{s}^{-1}$ ) hasta valores en aguas costeras ( $>1\text{s}^{-1}$ )

También sería interesante realizar los mismos experimentos para células de tamaños más grandes, ya que se han reportado en estudios como [6] o [10] altas variabilidades en las velocidades de sedimentación para *Coscinodiscus wailesii* en casos de insuficiencia de nutrientes. Esta especie de las diatomeas tienen un tamaño característico que ronda los  $300\mu\text{m}$ , por lo tanto poseen vacuolas de mayor tamaño que les permite regular sus densidades en mayor proporción que especies más pequeñas como la *Thalassiosira pseudonana* que es 30 veces más pequeña. Así pues, repetir los experimentos con células de otras especies, en particular, de diatomeas de mayor tamaño sería un paso muy interesante. Primero por que se sabe que las variaciones en la velocidad terminal son grandes como ya se ha comentado, y segundo por que las desviaciones con respecto a la Ley de Stokes parecen ser mayores para células de mayor tamaño.

En el artículo de B.J. Gemell ([10]) se menciona como la regulación de flotabilidad que presenta el fitoplancton podría ser debido a que se benefician de una mayor obtención de nutrientes. En la siguiente figura podemos ver como las diatomeas mantienen velocidades de sedimentación muy lentas cuando estas tienen suficientes nutrientes en la capa que se encuentran. Sin embargo sus velocidades instantaneas aumentan cuando los nutrientes son insuficientes y realizan excursiones a capas más bajas.



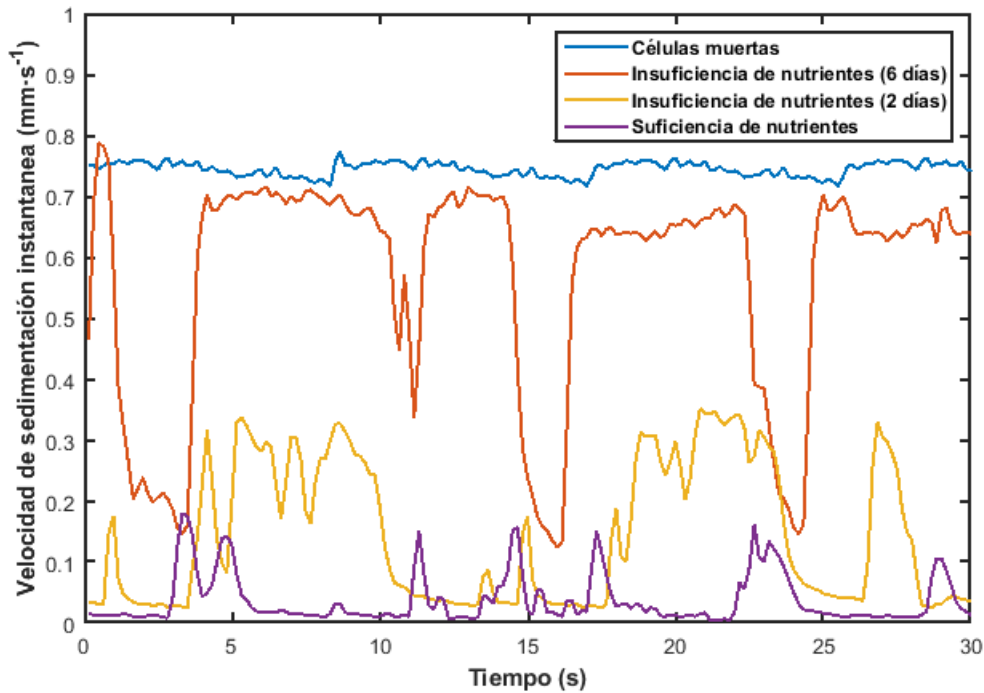


Figura 10: Velocidad de sedimentación instantánea para diversos casos de insuficiencia de nutrientes. Datos de [10]

Otro posible análisis que podría llevarse a cabo en el futuro sería someter a estreses mecánicos células que se encuentran en medios con limitación de nutrientes para medir si las regulaciones en la flotabilidad de las diatomeas son más notables bajo estas condiciones. No se ha podido realizar en este trabajo por falta de tiempo, pero queda abierto a futuros trabajos.

## 5. Conclusiones

Con este trabajo se ha realizado una caracterización experimental detallada de la respuesta celular a estreses mecánicos, más allá de los primeros resultados cualitativos llevados a cabo en el trabajo liderado por Falciatore [8] 19 años atrás. Por primera vez se ha cuantificado la respuesta fisiológica a la influencia de distintos caudales directamente midiendo los cambios en la velocidad de sedimentación.

Aunque la forma funcional obtenida es preliminar y requiere de un trabajo exhaustivo de validación bajo un rango de condiciones más amplio, así como de una mayor estadística, representa un primer paso en la dirección de responder a la hipótesis de partida de este trabajo.

Cabe destacar una vez más que este mecanismo de regulación de flotabilidad que poseen las diatomeas no es solamente propiciado por una capacidad mecano-sensora de la célula si no que las condiciones del medio en el que se encuentran (disponibilidad de nutrientes, luz, salinidad...) y su propio estado fisiológico también juegan un papel importante en la distribución de las poblaciones en la columna de agua.

## Referencias

- [1] Alberto Amato, Gianluca Dell’Aquila, Francesco Musacchia, Rossella Annunziata, Ari Ugarte, Nicolas Maillet, Alessandra Carbone, Maurizio Ribera D’Alcalà, Remo Sanges, Daniele Iudicone, and Maria I. Ferrante. Marine diatoms change their gene expression profile when exposed to microscale turbulence under nutrient replete conditions. *Scientific Reports*, 7(1):1–11, 2017.
- [2] Jorge Arrieta, Ana Barreira, and Idan Tuval. Microscale patches of nonmotile phytoplankton. *Physical Review Letters*, 114(12):1–5, 2015.
- [3] Anne Sophie Benoiston, Federico M. Ibarbalz, Lucie Bittner, Lionel Guidi, Oliver Jahn, Stephanie Dutkiewicz, and Chris Bowler. The evolution of diatoms and their biogeochemical functions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1728), 2017.
- [4] P. K. Bienfang, P. J. Harrison, and L. M. Quarmby. Sinking rate response to depletion of nitrate, phosphate and silicate in four marine diatoms. *Marine Biology*, 67(3):295–302, 1982.
- [5] Matteo Borgnino, Jorge Arrieta, Guido Boffetta, Filippo De Lillo, and Idan Tuval. Turbulence induces clustering and segregation of non-motile , buoyancy-regulating phytoplankton. pages 1–9, 2019.
- [6] Kevin T. Du Clos, Lee Karp-Boss, Tracy A. Villareal, and Brad J. Gemmill. *Coscinodiscus wailesii* mutes unsteady sinking in dark conditions. *Biology Letters*, 15(3), 2019.
- [7] Angela Falciatore and Chris Bowler. Revealing the molecular secrets of marine diatoms. *Annual Review of Plant Biology*, 53(1):109–130, 2002.
- [8] Angela Falciatore, Maurizio Ribera D’Alcalà, Peter Croot, and Chris Bowler. Perception of environmental signals by a marine diatom. *Science*, 288(5475):2363–2366, 2000.
- [9] Jonathan B. Freund, Jacky G. Goetz, Kent L. Hill, and Julien Vermot. Fluid flows and forces in development: Functions, features and biophysical principles. *Development*, 139(7):1229–1245, 2012.
- [10] Brad J. Gemmill, Genesok Oh, Edward J. Buskey, and Tracy A. Villareal. Dynamic sinking behaviour in marine phytoplankton: Rapid changes in buoyancy may aid in nutrient uptake. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1840), 2016.
- [11] Vernita D. Gordon and Liyun Wang. Bacterial mechanosensing: The force will be with you, always. *Journal of Cell Science*, 132(7), 2019.
- [12] F Gross and E Zeuthen. The buoyancy of plankton diatoms: a problem of cell physiology. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences*, 135(880):382–389, 1948.
- [13] J. W G Lund. Buoyancy in relation to the ecology of the freshwater phytoplankton. *British Phycological Bulletin*, 1(7):1–17, 1959.

- [14] Tianzhi Luo, Krithika Mohan, Pablo A. Iglesias, and Douglas N. Robinson. Molecular mechanisms of cellular mechanosensing. *Nature Materials*, 12(11):1064–1071, 2013.
- [15] Boris Martinac. Mechanosensitive ion channels: Molecules of mechanotransduction. *Journal of Cell Science*, 117(12):2449–2460, 2004.
- [16] Martin R. Maxey and James J. Riley. Equation of motion for a small rigid sphere in a nonuniform flow. *Physics of Fluids*, 26(4):883–889, 1983.
- [17] Kevin A. Miklasz and Mark W. Denny. Diatom sinking speeds: Improved predictions and insight from a modified Stoke’s law. *Limnology and Oceanography*, 55(6):2513–2525, 2010.
- [18] J. Keith Moore and Tracy A. Villareal. Size-ascent rate relationships in positively buoyant marine diatoms. *Limnology and Oceanography*, 41(7):1514–1520, 1996.
- [19] Ewa K. Paluch, Celeste M. Nelson, Nicolas Biais, Ben Fabry, Jens Moeller, Beth L. Pruitt, Carina Wollnik, Galina Kudryasheva, Florian Rehfeldt, and Walter Federle. Mechanotransduction: Use the force(s). *BMC Biology*, 13(1):1–14, 2015.
- [20] C. S. Reynolds. *Ecology of Phytoplankton*, volume 111. 1965.
- [21] S Sabater. The diatom cell and its taxonomical entity. *Encyclopedia of Inland Waters*, 1:149–156, 2009.
- [22] Theodore J. Smayda. The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. 1970.
- [23] Theodore J. Smayda. Normal and accelerated sinking of phytoplankton in the sea. *Marine Geology*, 11(2):105–122, 1971.
- [24] Theodore J Smayda and Brenda J Boleynl. Experimental observations on the flotation of marine diatoms. X(October):499–509, 1965.
- [25] V. S. Smetacek. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Marine Biology*, 84(3):239–251, 1985.
- [26] Paul Tréguer, Chris Bowler, Brivaela Moriceau, Stephanie Dutkiewicz, Marion Gehlen, Olivier Aumont, Lucie Bittner, Richard Dugdale, Zoe Finkel, Daniele Iudicone, Oliver Jahn, Lionel Guidi, Marine Lasbleiz, Karine Leblanc, Marina Levy, and Philippe Pondaven. Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump. *Nature Geoscience*, 11(1):27–37, 2018.
- [27] Anya Waite, Anne Fisher, Peter A. Thompson, and Paul J. Harrison. Sinking rate versus cell volume relationships illuminate sinking rate control mechanisms in marine diatoms. *Marine Ecology Progress Series*, 157:97–108, 1997.
- [28] Anya M. Waite, Peter A. Thompson, and Paul J. Harrison. Does energy control the sinking rates of marine diatoms? *Limnology and Oceanography*, 37(3):468–477, 1992.