

SOBRE LA PRESENCIA DE *CHLORELLA KESSLERI* (CHLOROCOCCALES, CHLOROPHYTA) EN AGUAS DEL COMPLEJO TERMAL COPAHUE (PROV. DEL NEUQUEN, ARGENTINA)

Por ANGELA B. JUAREZ y CARLOS G. VELEZ*

Summary: Occurrence of *Chlorella kessleri* (Chlorococcales, Chlorophyta) in the Copahue Thermal Complex (Neuquen province, Argentina). Laboratory analysis revealed that the green colour of water from Copahue Thermal Complex (Neuquen, Argentina) was due to the presence of high dense populations of *Chlorella kessleri* Fott et Nováková. Taxonomical identification was based on both morphological and quimiotaxonomical criteria. In natural environment this is the first record of the species for Argentina and the second for the world.

INTRODUCCION

Algunos de los cuerpos de agua de las Termas de Copahue, suelen presentar un intenso color verde. El análisis de dichas aguas reveló que el organismo responsable de esa coloración es *Chlorella kessleri* Fott et Nováková. Este hallazgo constituye una cita nueva para la Argentina y el segundo registro de esta especie, a nivel mundial, en un ambiente natural.

La aparición de muy altas concentraciones de un organismo tan poco frecuente, y en ambientes de características especiales como son las aguas relacionadas con procesos volcánicos, resulta de particular interés. Por esta razón, en el presente trabajo realizamos la determinación taxonómica de *C. kessleri*, no sólo basándonos en sus características morfológicas, sino también en algunos caracteres bioquímicos y fisiológicos que poseen valor quimiotaxonómico para la especie, según lo establecido para el género *Chlorella* Beij. por Kessler (1978 y 1984).

MATERIALES Y METODOS

Las Termas de Copahue se encuentran ubicadas al pie del volcán homónimo en la provincia del Neuquén (Argentina), cerca del límite con Chile, a 2.000 m sobre el nivel del mar. Están conformadas por distintas estaciones termales cuyas aguas se

utilizan con fines terapéuticos. Los materiales estudiados se recolectaron en enero de 1991. Los muestreos se realizaron en la Laguna Verde de la estación termal Copahue y en la Laguna Verde de la estación termal Las Máquinas.

Para el aislamiento y obtención de cepas uniaxiales se trabajó en condiciones de esterilidad, en cámara de flujo laminar. Se estrilaron alícuotas de las muestras vivas en cajas de Petri con medio BBM agarizado (Bischoff & Bold, 1963). De las colonias obtenidas se seleccionaron las de *Chlorella* y se las replicó a tubos en pico de flauta con el mismo medio. Las cepas axénicas se lograron según el método de Wiedeman *et al.* (1964), y se mantienen en tubos con BBM agarizado a temperatura ambiente, con un fotoperíodo de 12:12 hs. L-O, en la colección de cultivos de nuestro laboratorio. La axenicidad es verificada periódicamente en Bacto Triptic-Soy-Agar (Difco).

La morfología de *C. kessleri* se analizó sobre materiales axénicos cultivados en BBM (líquido o agarizado) (Fott & Nováková, 1969). Las observaciones y los dibujos se realizaron en un microscopio Wild M-20 con cámara de dibujo. Las fotografías se tomaron en un microscopio Karl Zeiss Axioplan. La determinación taxonómica en base a los caracteres morfológicos observados, se realizó de acuerdo con Fott y Novádová (1969), y Komárek y Fott (1983).

Los estudios quimiotaxonómicos se realizaron sobre un clon axénico aislado de materiales provenientes de la Laguna Verde de la estación termal Copahue, determinándose los siguientes caracteres: digestión de almidón según Kessler (1978),

*Laboratorios de Fisiología Vegetal, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 1428 Buenos Aires, Argentina.

hidrólisis de gelatina según Archibald y Bold (1970), actividad hidrogenasa según Kessler y Maifarth (1960) y Stiller (1966), tolerancia a la sal según Kessler (1974), y tolerancia a la acidez evaluando el crecimiento en tubos con BBM líquido en un gradiente de pH entre 2,5 y 5.

Las estimaciones de abundancia se hicieron con cámara de Neubauer sobre muestras fijadas con formaldehído 4%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Clase *Chlorophyceae*
Orden *Chlorococcales*
Familia *Chlorellaceae*

Chlorella kessleri Fott *et* Nováková, Stud. in Phycol., Acad., Prague: 26, Pl. 4, 1969. (Figs. 1 A-D y 2 A-E)

Células adultas esféricas, células jóvenes elipsoidales. Pared celular delgada. Cloroplasto laminar, ocupando toda la célula y dejando una pequeña abertura ("mantel - shaped" según Fott y Nováková (1969)). Pirenoide elipsoidal, rodeado

por dos (raramente más) gránulos de almidón en forma de copa. Presencia de pequeñas gotas lipídicas, y vacuolas a veces numerosas. Núcleo levemente excéntrico. Reproducción por medio de 2 - 4 - 8 a 16 autosporas elipsoidales, a veces poliédricas. La pared de la célula madre, se fragmenta en forma de escamas, que mantienen unidas a las autosporas por un corto tiempo. Dimensiones: células 2,5 - 8,9 (raramente 10) μm diám.; autosporas 3 - 5 μm diám.

Los resultados de los estudios quimiotaxónómicos indicaron que la cepa estudiada presenta actividad hidrogenasa en anaerobiosis, no hidroliza almidón ni licua gelatina, y no tolera niveles de acidez por debajo de pH 3 ni concentraciones de NaCl superiores al 2%.

Distribución: En colecciones de cultivo (Fott & Nováková, *op. cit.*), aerofítica en Rusia (Komárek y Fott, 1983). En la Argentina se la registra por primera vez.

Aunque las especies del género *Chlorella* son en su mayoría cósmopolitas y se encuentran por lo

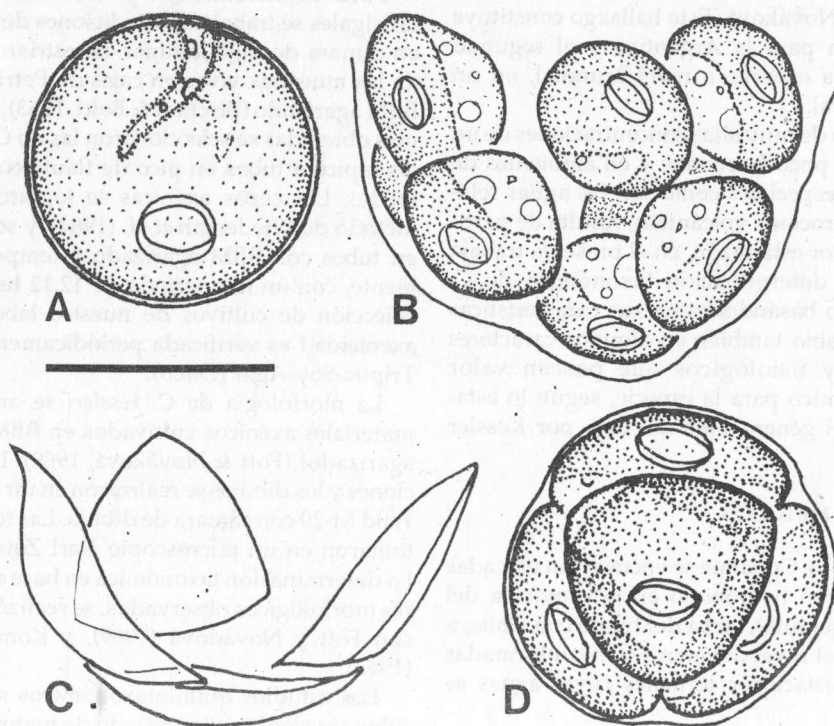


Fig. 1.— *Chlorella kessleri*; A: Célula adulta; B: liberación de ocho autosporas por rotura de la pared celular madre; C: restos de la pared celular madre; D: esporangio con cuatro autosporas. La escala equivale a 5 μm .

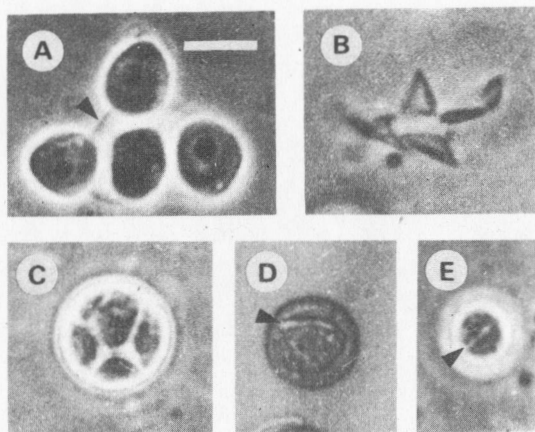


Fig. 2.— *C. kessleri*; A: cuatro autosporas adheridas a restos de la pared celular madre (flecha); B: restos de la pared celular madre; C: vista superficial de un esporangio, mostrando autosporas en formación; D: vista superficial de una célula adulta, en la que puede verse la estrecha abertura del cloroplasto (flecha); E: Idem D, en otra célula. A, B, C y E con contraste de fase. La escala de la fig. A equivale a 5 μ m y es válida para el resto de las figuras.

general en todo tipo de ambientes, la presencia de poblaciones naturales de alta densidad como la detectada, ocurre principalmente en aguas contaminadas o en cuerpos de agua artificiales (Fott & Nováková, 1969).

Las Termas de Copahue no presentan esas características. Sus aguas son sulfatadas cálcicas (ácido sulfúrico libre), sulfurosas, sulfhídricas, silicatadas, ligeramente ferruginosas y aluminicas (estación Copahue; Anón., 1976). El pH de las mismas, de acuerdo a lo registrado durante la campaña, varía entre 2,5 y 3; y su temperatura oscila entre 22 y 30°C. (estación Copahue) pudiendo alcanzar hasta 35°C (estación Las Máquinas). Debido a su relación con procesos volcánicos y a su elevada acidez, muy pocos organismos pueden prosperar en este tipo de cuerpos de agua (Margalef, 1983). En concordancia con esto, las muestras estudiadas presentaban una diversidad específica muy baja y *C. kessleri* no solamente era la especie dominante, sino que además se encontraba en concentraciones muy altas, del orden de 2×10^7 cél/ml (estación Copahue). Kessler (1985), analizando los límites de tolerancia para el género *Chlorella*, encontró que *C. kessleri* tolera valores de pH menores que 4 y temperaturas superiores a 34°C. Además, sería la única especie de este género que prospera cuando ambas condiciones se dan simultáneamente.

A partir de lo expuesto, podríamos concluir que las condiciones extremas de pH y temperatura de las aguas de Copahue, no serían limitantes para el desarrollo de *C. kessleri*, determinando que ésta constituya la especie dominante en los cuerpos de agua estudiados.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento al Dr. Juan Accorinti por su constante apoyo y por sus valiosas sugerencias, así como a los Dres. G. Tell, V. Conforti y J. Dadón por la lectura crítica del manuscrito. Agradecemos también al Ente Provincial de Termas del Neuquén por la financiación del viaje de recolección.

BIBLIOGRAFIA

- ANON. 1976. Panorama hidrotermal argentino. Ministerio de Economía de la Nación, Instituto Nacional de Ciencia y Técnica Hídricas: 87-92.
- ARCHIBALD, P. A. & H. C. BOLD, 1970. Phycological studies. IX. The genus *Chlorococcum* Meneghini. *Univ. of Texas Public.* 7015. Austin, Texas, 114 pp.
- BISCHOFF, H. W. & H. C. BOLD, 1963. Phycological Studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. *Univ. of Texas Public.* 6318, Austin, Texas, 95 pp.
- FOTT, B. & M. NOVAKOVA, 1969. A monograph of the genus *Chlorella*. The fresh water species. En: *Studies in Phycology* (B. Fott, ed.). Academia, Prague: 10-74.
- KESSLER, E. 1974. Physiologische und biochemische Beiträge zur Taxonomie der Gattung *Chlorella*. IX. Salzresistenz als taxonomisches Merkmal. *Arch. Mikrobiol.* 100: 51-56.
- 1978. Physiological and biochemical contributions to the taxonomy of the genus *Chlorella*. XII. Starch hydrolysis and a key for the identification of 13 species. *Arch. Microbiol.* 119, 13-16.
- 1984. A general review on the contribution of chemotaxonomy to the systematics of green algae. En: *Systematics of the green algae* (D.E.G. Irvine and D.M. John, ed.), Academic Press, London, 391-407.
- 1985. Upper limits of temperature for growth in *Chlorella* (Chlorophyceae). *Pl. Syst. Evol.* 151: 67-71.
- & H. MAIFARTH, 1960. Vorkommen und Leistungsfähigkeit von Hydrogenase bei einigen Grünalgen. *Arch. Mikrobiol.* 37: 215-225.
- KOMAREK, J. & B. FOTT, 1983. Chlorophyceae: Chlorococcales. En: G. Huber-Pestalozzi, *Das Phytoplankton des süßwassers, Die Binnengewässer* 7. Ed. Schweizerbartsche verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 1044 pp.
- MARGALEF, R. 1983. Limnología. Omega, Barcelona, 1010 pp.
- STILLER, M. 1966. Hydrogenase mediated nitrite reduction in *Chlorella*. *Plant Physiol.* 41: 348-352.
- WIEDEMAN, V.E., P.L. WALNE & F.R. TRAINOR, 1964. A new technique for obtaining axenic cultures of algae. *Can. J. Bot.* 42: 958-959.