

NAUTOCOCCUS PYRIFORMIS (CHLOROCOCCALES, CHLOROPHYCEAE): OBSERVACIONES EN CULTIVOS UNIALGALES

Por JOSEFINA S. ALBERGHINA Y ANGELA B. JUAREZ¹

Summary *Nautococcus pyriformis* (Chlorococcales, Chlorophyceae): *Observations in unialgal cultures.* The neustonic microalga *Nautococcus pyriformis* Kors. was isolated from a temporary pond in Entre Ríos (Argentina) and is maintained in unialgal laboratory cultures. The zoosporogenesis, zoospore morphology and germination process of zoospores was followed in culture, together with changes in cell morphology, cap occurrence and type of floatation of vegetative cells. This constitutes the first record of the genus and the species for Argentina.

INTRODUCCION

El género *Nautococcus* Korschikov comprende seis especies típicamente neustónicas (Archibald, 1972), cuyas características más relevantes (Starr, 1955) son: células solitarias elipsoidales con una estructura en forma de cápsula (calota) en uno sus extremos y con un cromatóforo axial con un pirenoide central; producción de zoosporas con pared celular delgada y dos flagelos iguales.

N. pyriformis fue descrita por primera vez por Korschikov (1926), aislada de charcos de Kharkov, en Ucrania Oriental (ex U. R. S. S.). Desde esa descripción original, muy pocos autores han registrado la presencia de esta especie. Starr (1955) la aisló de suelo en Massachusetts (U. S. A.), Javornicky (1963) de un piletón de piscicultura en Praga (Checoslovaquia) y Pentecost (1984) de una laguna en Inglaterra.

En el presente trabajo se ha aislado y cultivado esta especie con el objetivo de estudiar las distintas fases de su ciclo de vida. Este hallazgo constituye un nuevo registro del género y la especie para nuestro país.

MATERIALES Y METODOS

El material estudiado se recolectó en julio de 1992, en un cuerpo de agua temporario de las proximidades de Villaguay (pcia. de Entre Ríos).

Los cultivos unialgales de *N. pyriformis* fueron obtenidos separando una célula con micropipeta bajo lupa, y transfiriéndola a un medio de cultivo BBM líquido con 3 veces la cantidad original de nitrógeno (3NBBM) (Archibald y Bold, 1970). Estos cultivos son mantenidos en el cepario de nuestros laboratorios en 3NBBM líquido y 1,5% 3NBBM agarizado, a temperatura ambiente y bajo un fotoperíodo de 12:12 L-O.

La morfología y el ciclo de vida de la especie fueron estudiados tanto en la muestra original como en cultivos en 3NBBM líquido a los 7, 15 o más días después de la siembra.

La existencia de pared celular en las zoosporas fue comprobada mediante tinción con una solución de Cl-Zn-I y "squash".

Las fotografías fueron tomadas con un fotomicroscopio Karl Zeiss Axioplan, y los dibujos fueron realizados con un microscopio Wild M20 con tubo de dibujo.

RESULTADOS

***Nautococcus pyriformis* Kors. 1926. Arch. Protistenk. 55: 453-455. Pl. 6, Figs. 6-23 y Fig. D in text.**
(Figs. 1 A-E; 2 A-G; 3 A-G)

Células vegetativas adultas en su mayoría piriformes, o esféricas en cultivos, 14-43 µm diám. x 14-48 µm long. Calota o "cap" de flotación cubriendo el polo celular más angosto, a menudo ausente en cultivos. Cloroplasto masivo axial, con un pirenoide central rodeado por un número variable de gránulos de almidón. Núcleo excéntrico, de posición parietal, ubicado en el extremo más ancho

¹ Departamento de Ciencias Biológicas, Fac. de Cs. Exactas y Naturales, U. B. A., pab. II, 1428, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

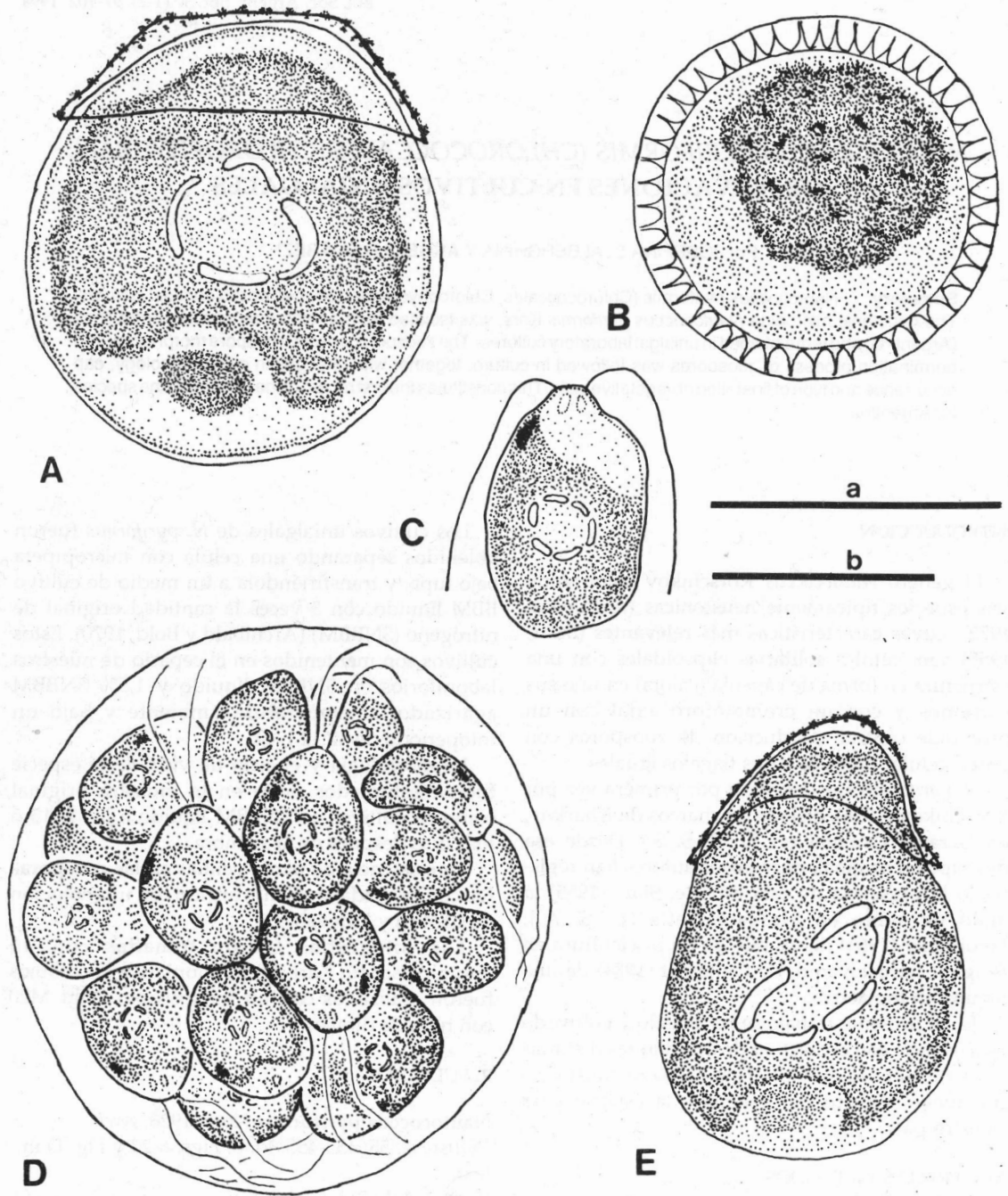


Fig. 1.— *Nautococcus pyriformis*. A: célula vegetativa esférica con calota; B: quiste esférico con pared interna espinosa; C: zoospora; D: esporangio con zoosporas maduras; E: célula vegetativa piriforme con calota. Las escalas corresponden a 10 μ m. (a: A, B, C, y E; b: D).

de la célula. Quistes esféricos a ovoides, a veces piriformes, 12 a 20 μ m diám., de pared interna espinosa, originados a partir de células vegetativas.

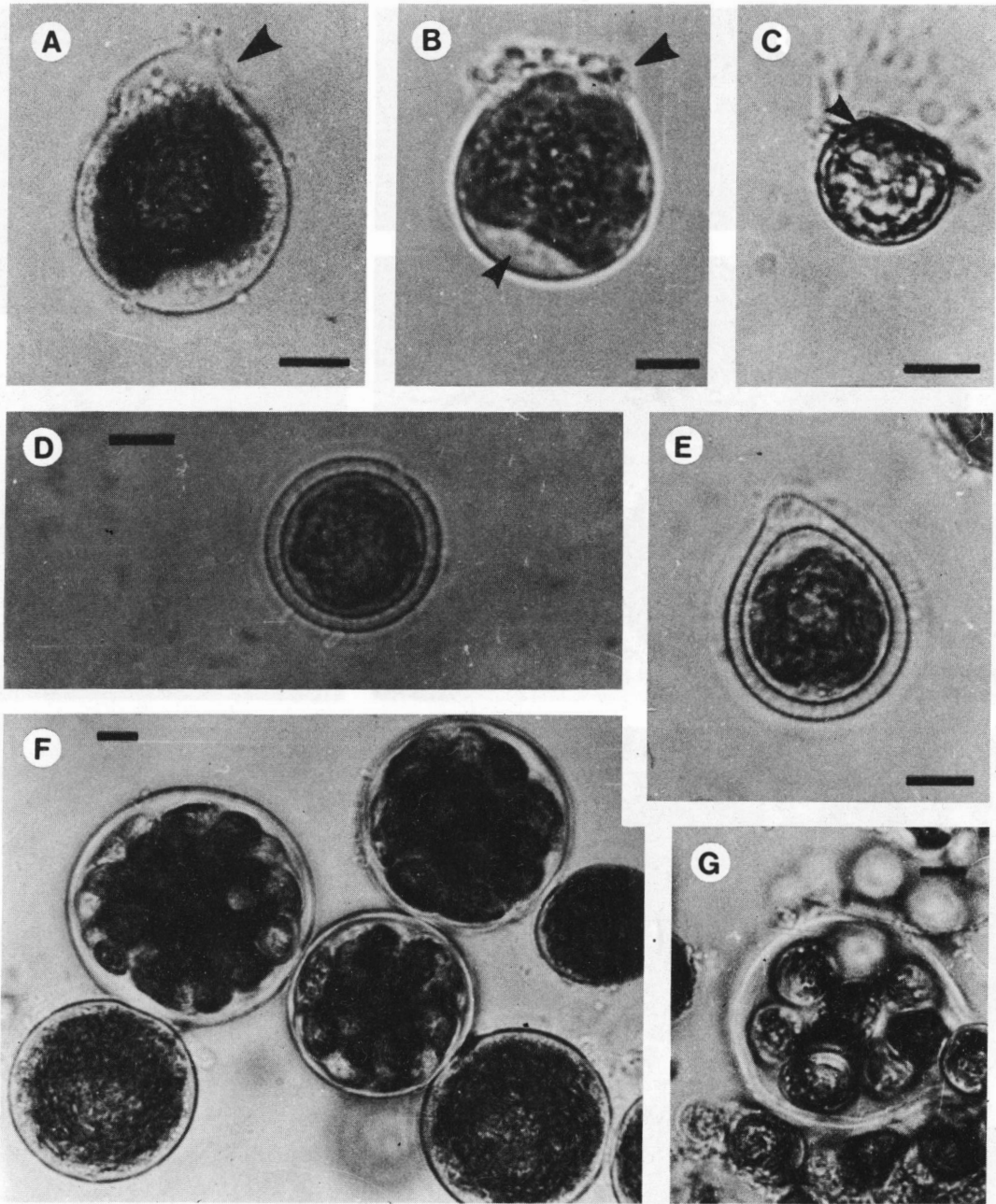


Fig. 2.— *Nautococcus pyriformis*. A: célula vegetativa con calota hialina (flecha); B: célula vegetativa con calota (flecha grande) y área nuclear (flecha pequeña); C: célula vegetativa en cultivo en ALN mostrando la típica calota de flotación (flecha); D: quiste esférico; E: quiste piriforme; F: células vegetativas esféricas y esporangios con zoósporas en número variable; G: liberación de autosporas. Las escalas corresponden a 5 μm .

Multiplicación por zoosporas o autosporas. No se observó reproducción sexual.

Zoosporas ovoides dorsiventralmente aplanadas, 6-7 μm diám. x 8,8-11 μm long. Pared celular delga-

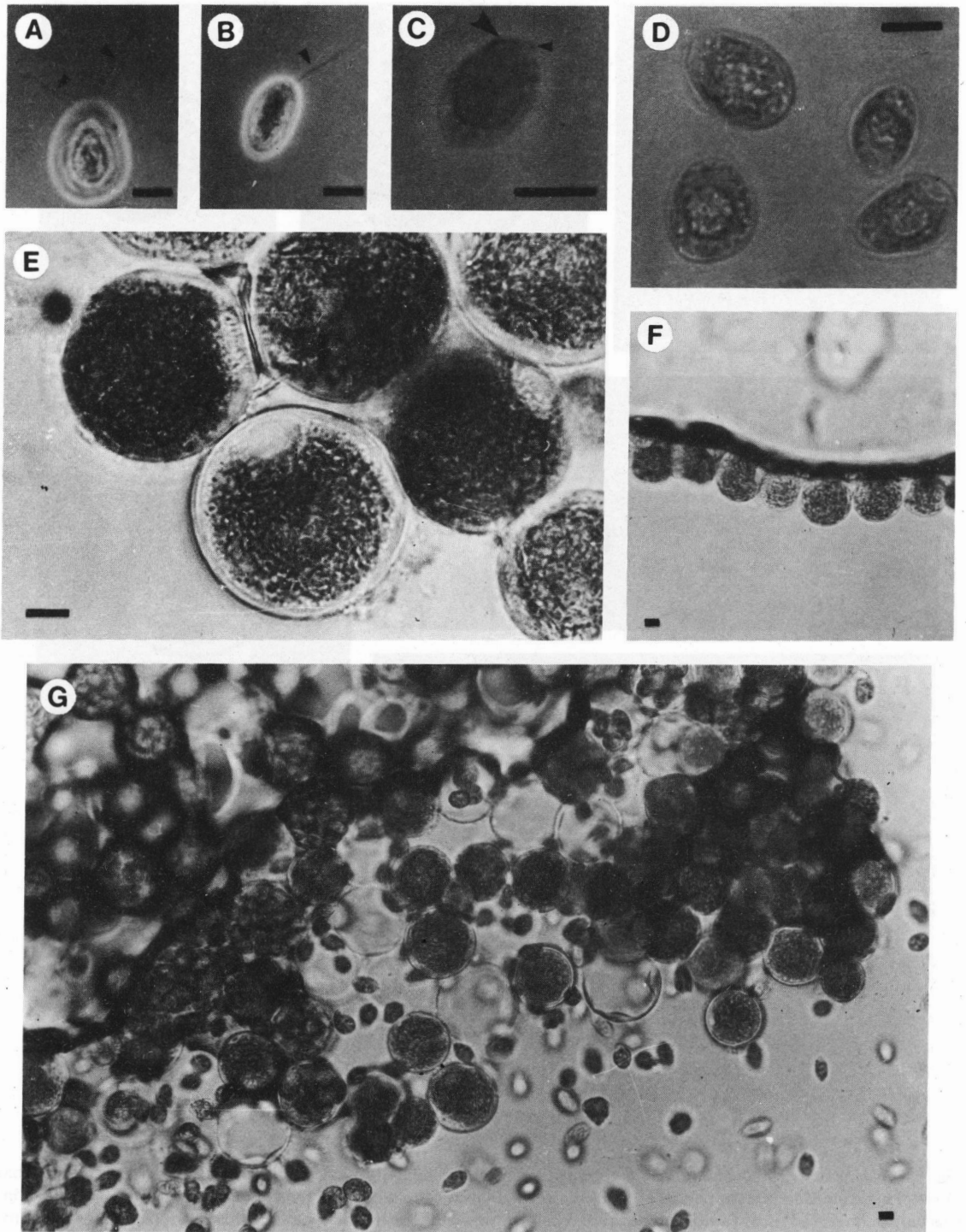


Fig. 3.— *Nautococcus pyriformis*. A: zoospora con 2 flagelos (flecha); B: zoospora con un solo flagelo (flecha) (contraste de fase); C: zoospora recién fijada, todavía con estigma (flecha grande) y papila (flecha pequeña); D: grupo de células jóvenes; E: detalle de células vegetativas adultas, nótese la burbuja de aire en el área de contacto entre células y la zona nuclear más clara; F: células vegetativas alineadas en la interfase aire-agua; G: aspecto general de células y esporangios en cultivo en 3NBBM líquido, se observan burbujas de aire y liberación de zoosporas. Las escalas corresponden a 5 μ m.

da. Dos flagelos de igual longitud insertos en una pequeña papila en el polo anterior. Cloroplasto parietal laminar con un pirenoide central. Estigma, núcleo y vacuolas, contráctiles en el polo anterior.

Distribución: Ucrania Oriental (ex U.R.S.S.), E.E.U.U., Checoslovaquia, Inglaterra. En la Argentina se registra por primera vez.

Observaciones

Tanto en las muestras originales como en los cultivos, las células vegetativas se encontraban agrupadas en la superficie del agua formando una película delgada, con su calota en contacto con el aire y el resto sumergido (Fig. 3) (hiponeustónica). En coincidencia con lo señalado por Lukavsky (1971), se observaron pequeñas burbujas de aire en los puntos de contacto entre célula y célula (Fig. 3 E).

Las células vegetativas de nuestro material mostraron, en líneas generales, la morfología típica de la especie. Los ejemplares más grandes (hasta 48 μm) fueron detectados en la muestra original, mientras que en cultivo las células presentaron menor tamaño y en su mayoría forma esférica. En cultivos envejecidos, los gránulos de almidón que rodean al pirenoide tomaron el aspecto de masas amorfas, ocupando todo el cloroplasto.

Las vacuolas contráctiles fueron observadas tanto en zoosporas libres como en zoosporas sin flagelos en proceso de transformación, pero nunca en células adultas.

La multiplicación por zoosporas fue observada principalmente al pasar los cultivos que se encontraban bajo luz continua a un fotoperíodo de 12:12 L-O (Fig. 3, G): cada esporangio puede producir de 16 a 64 zoosporas, que una vez liberadas nadan a la superficie y se agrupan rodeando a las células adultas. Cada zoospora al fijarse pierde primero un flagelo (Fig. 3, B), luego el otro (Fig. 3, C) y comienza a redondearse hasta convertirse en célula vegetativa adulta ubicada en la interfase aire-agua (Fig. 3 D, E y F).

La formación de autosporas (Fig. 2 G) y de quistes con pared interna espinosa, se observó principalmente en la muestra original y en cultivos envejecidos. En estos últimos se detectaron tanto quistes piriformes (Fig. 2 E), como esféricos (Fig. 1 B y Fig. 2 D).

La típica calota color pardo fue observada con alta frecuencia en las muestras originales (Fig. 2 B), pero no en la mayoría de los cultivos. Sin embargo, en cultivos jóvenes en 3NBBM líquido se obtuvieron algunas células con incipientes calotas hialinas (Fig. 2 A), y al sembrar en medio ALN (Hill, 1980)

con bajo contenido de nitrógeno, las células formaron calotas pardas (Fig. 2 C).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El hallazgo de *Nautococcus pyriformis* en la provincia de Entre Ríos, constituye la primera cita del género y la especie para nuestro país.

Algunos autores consideran al género *Nautococcus* dentro del orden *Tetrasporales* (Bourrelly, 1966; Fott, 1972; Lukavsky, 1971), basándose en la presencia de vacuolas contráctiles, pero estas estructuras han sido observadas muy rara vez por los distintos investigadores y no en todas las células. Contrariamente, Archibald (1972), Javorniky (1963) y Starr (1955), teniendo en cuenta sus propias observaciones y las contradicciones existentes en la literatura sobre la presencia de estas organelas en células vegetativas, ubican a *Nautococcus* dentro del orden *Chlorococcales*. Los resultados del presente estudio, coinciden con la posición planteada por estos últimos autores, ya que en los materiales analizados, tampoco se han observado vacuolas contráctiles en células adultas.

Cuando Korschikov (1926) estudió por primera vez al género *Nautococcus*, señaló la presencia de zoosporas con una pared delgada. Sin embargo, Geitler (1942) describió a las zoosporas de *N. emerus* sin pared celular. Luego de realizar cuidadosas observaciones en nuestro material y de tinción con Cl-Zn-I seguida de "squash", coincidimos con Korschikov (1926), Starr (1955), Javorniky (1963) y Archibald (1972) en que las zoosporas de *N. pyriformis* poseen una pared celular delgada.

El tamaño de las células vegetativas según Korschikov (1926), no supera los 23 μm . Para Javornicky (1963) llegan a 26,5 μm long. En los materiales analizados en este trabajo, se hallaron células adultas, con pared engrosada, de hasta 48 μm long. Estas podrían corresponder a las "células gigantes" de Korschikov (1926), quien las observó en *N. mammilatus* pero no en *N. pyriformis*.

Si bien diferentes autores consideran a *N. pyriformis* como epineustónica (Fott, 1972 y Starr, 1955), o hiponeustónica (Korschikov, 1926; Javorniky, 1963 y Lukavsky, 1971), la posición de las células vegetativas en la interfase aire-agua observada en los materiales bajo estudio indicaría que esta especie es hiponeustónica (Fig. 3, F).

La cápsula de flotación ha sido considerada como una de las características distintivas del género *Nautococcus*. Sin embargo, el valor taxonómico de esta estructura debe ser revisado, ya que su presencia es variable en las distintas especies del género (Archibald, 1972). Además, los resultados obtenidos en este estudio, indicarían que la forma-

ción de calota es afectada por la composición del medio de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento al Dr. Juan Accorinti por su constante estímulo, al Lic. Carlos G. Vélez por sus valiosas sugerencias y la lectura crítica del manuscrito, al Sr. Pablo Lensi por la recolección de las muestras.

BIBLIOGRAFIA

- ARCHIBALD, P. A. 1972. The genus *Nautococcus* Korschikov (Chlorophyceae, Chlorococcales). *Phycologia* 11 (1): 207-212.
- & H. C. BOLD. 1970. Phycological Studies XI. The genus *Chlorococcum* Meneghini. *Univ. of Texas Publ.* (7015). Austin, Texas, 115 pp.
- BOURRELLY, P. 1966. *Les algues d' eau douce*. I. *Algues vertes*. Ed. Boubée, Paris, 511 pp.
- FOTT, B. 1972. *Chlorophyceae. Tetrasporales*. 6. En: G. Hüber-Pestalozzi, *Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie*. Stuttgart, 116 pp.
- GEITLER, L. 1942. Zur Kenntnis der Bewohner des Oberflächen Häuchens einheimischer Gewässer. *Biologia Gener.* 16: 450-475.
- HILL, G. J. C. 1980. Mating induction in *Oedogonium*. En: Grantt, E. (Ed.) *Handbook of Phycological Methods: Developmental & Cytological Methods*. Cambridge University Press, Cambridge: 25-36.
- JAVORNICKY, P. 1963. A new record of the neustonic alga *Nautococcus pyriformis* Korschikov. *Arch. Protistenk.* 106: 437-441.
- KORSCHIKOV, A. A. 1926. On some new organisms from the groups *Volvocales* and *Protococcales*, and on the genetic relations of these groups. *Arch. Protistenk.* 55: 439-503.
- LUKAVSKY, J. 1971. Comparative study of species *Nautococcus mammilatus* and *Nautococcus pyriformis* (Tetrasporales). *Arch. Hydrobiol. /Suppl.* 39. *Algological Studies* 5: 245-258.
- PENTECOST, A. 1984. Observations on a Bloom of the neuston alga, *Nautococcus pyriformis*, from southern England with an explanation of the floatation mechanism. *Br. Phycol. J.* 19: 227-232.
- STARR, R. C. 1955. A Comparative Study of *Chlorococcum* Meneghini and Other Spherical, Zoospore-producing Genera of the *Chlorococcales*. *Indiana Univ. Publ. Sci. Ser.* Indiana Univ. Press, 111 pp.