

MÉTODO SENCILLO PARA CONSERVAR ALGAS AZULES *

Por DELIA R. DE HALPERIN **

SUMMARY

A SIMPLE METHOD FOR PRESERVING BLUE-GREEN ALGAE. — The strains *Microcoleus vaginatus* (Vaucher) Gomont (*Oscillatoriaceae*); *Anabaena variabilis* (Kützinger) Bornet et Flahault and *Nostoc muscorum* Agardh (*Nostocaceae*); *Microchaete diplosiphon* Gomont and *Scytonema hofmannii* Agardh (*Scytonemataceae*) and *Calothrix parietina* (Nägeli) Thuret (*Rivulariaceae*) grown in test-tubes on sterile vermiculite soaked in nutritive medium under the suitable light, are found to be alive even after six years.

En un trabajo anterior sobre preservación de algas azules bajo aceite mineral (Halperin, 1967)¹, se informó respecto de la eficacia de este método a los 3 años de conservación en la condición *temperatura ambiente - luz difusa*. El ensayo se había realizado en tubos de ensayo; las cepas se sembraron sobre vermiculita² estéril embebida con el medio nutritivo³, y una vez desarrollados los cultivos, se recubrieron con

* Contribución Técnica Nº 7 del Centro de Investigación de Biología Marina (CIBIMA). Esta nota complementa la Contribución Técnica Nº 4 del CIBIMA.

** Investigador permanente del CIBIMA, Libertad 1235, Buenos Aires. Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina.

- 1 *Bol. Soc. Arg. Bot.*, 11(2/3): 165-171, 1967. Contr. Téc. Nº 4 del CIBIMA.
- 2 La vermiculita solamente se utilizó como soporte físico (Halperin, *Darwiniana* 12 (4): 559-567, 1963).
- 3 Medio de cultivo L + C (Léffèvre - Jakob - Nisbet, *Ann. St. Centr. Hydrob. Appl. Min. Agric.*, 4: 5-198, 1952) algo modificado: NO₃K 0,200 g; PO₄HK₂ 0,040 g; SO₄Mg 7H₂O 0,030 g; (NO₃)₂Ca 0,030 g; Cl₃Fe trazas; extracto de suelo 10 cc; agua destilada 1.000 cc. Esterilizar 15' a 120 °C y agregar 1 cc de solución A₄ de elementos menores (Arnon, *Am. J. Bot.*, 25(5): 322-325, 1938).

aceite mineral. Los testigos correspondientes, —cultivos sin recubrir con vaselina líquida—, mostraron según los resultados entonces obtenidos una viabilidad positiva pero retardada con respecto a la de los cultivos mantenidos bajo aceite. Aún teniendo en cuenta este retardo, sugeríamos en dicho trabajo que la siembra en vermiculita embebida con la solución nutritiva, podría representar un método adecuado de preservación.

En la nota presente se consignan los resultados de un nuevo control de viabilidad realizado a los 6½ años de iniciado el ensayo, los que por una parte confirman aquella sugestión, y por otra indican el límite máximo de preservación para las cepas mantenidas bajo aceite mineral.

En el cultivo de las algas azules, si bien algunos autores habían observado que éstas crecen mejor cuando se introduce en el medio un soporte físico, como bloques de yeso (Bold, 1942)⁴, lana de vidrio (Allen, 1952⁵; Taba y El Refai, 1963⁶), vermiculita (Halperin, 1963 l. c.) etc. en ninguno de estos casos se pensó en utilizarlo sistemáticamente como medio de conservación.

Con miras a la producción de cuerpo algal, algunas especies se cultivaron sobre diversos substratos sólidos. Así, Watanabe (1959)⁷ cultivó *Tolypothrix tenuis* y *Calothrix brevissima*, sobre una tierra volcánica especial que se vende en Japón bajo la forma de una grava fina y porosa denominada "Kanuma-tsuehi", en la que estas cepas en condición semiseca se mantuvieron viables durante 5 años, si bien la capacidad de crecimiento fue disminuyendo sensiblemente con el tiempo. Con este método Watanabe logró mantener viables cantidades masivas de *T. tenuis* destinadas a ser incorporadas a los arrozales como abono verde. Venkataraman (1961)⁸ y también con propósitos de siembra, ensayo un método para preservar algas azules en estado seco: utilizando arena de cuarzo como substrato, verificó durante 2 años la capacidad del alga seca para reactivarse y crecer. Utilizó una cepa de *Nostoc* endófito y 3 algas verdes (*Chlorella* sp., *Selenastrum westii* y *Scenedesmus* sp.), con resultados variables: mientras *Nostoc* sp. es preservable, las 3 especies de *Clorofíceas* no fueron viables aún en las pruebas realizadas inmediatamente después del tratamiento.

Teniendo en cuenta la escasa experiencia sobre conservación de cultivos algales, consideramos de interés dar a conocer estos resultados que pueden ser de utilidad en el manejo de una colección de cultivos.

⁴ Bot. Rev., 8: 69-137, 1942.

⁵ Arch. f. Mikrobiol., 17: 34-53, 1952.

⁶ Zeitschr. f. Allg. Mikrobiol., 3(4): 282-288, 1963.

⁷ J. Gen. Appl. Microbiol., 5(3): 153-157, figs. 1-2, 1959.

⁸ J. Gen. Appl. Microbiol., 7(2): 96-99, 1961.

RESULTADOS: Los controles actualmente realizados, a los 6½ años de iniciado el ensayo, indican que las cepas mantenidas bajo aceite mineral no son ya viables. La observación microscópica de estos cultivos revela que el material está completamente desintegrado; además, en las cepas que normalmente forman acinetas como *Anabaena variabilis* (nº 61) y *Nostoc muscorum* (nº 23) tampoco se observan vestigios de estos elementos de resistencias, aún cuando en el control realizado a los 3 años de preservación se habían encontrado numerosas esporas, muchas de ellas en vías de germinación.

De estas observaciones inferimos que la conservación con aceite mineral, —si bien eficiente durante un cierto tiempo—, tiene una duración limitada que en el caso de las cepas ensayadas alcanzaría los 4-4½ años como límite máximo.

En cambio, los cultivos testigos mantenidos desde entonces a la luz, se fueron deshidratando progresivamente. Si bien con bastante retardo respecto a los tiempos mencionados en el trabajo anterior, crecen al adicionarles medio nutritivo. El control microscópico de los mismos indica la presencia de filamentos algales de aspecto y color normal, así como formación de acinetas en las especies correspondientes a la familia *Nostocaceae*.

Estos resultados nos permiten aconsejar el siguiente método para conservar algas azules: tubos de ensayo de 16 x 160 mm con vermiculita hasta 1/3 del volumen se esterilizan en autoclave durante 30' a 130° C. Agregar estérilmente el medio nutritivo indicado (L+C) en cantidad suficiente como para embeber la vermiculita y dejar una capa delgada sobrenadante de unos 5 mm de espesos aproximadamente. Sembrar las cepas a conservar en la superficie del medio y exponer los tubos a la luz.

Cubrir los tapones de algodón con papel de aluminio o con cilindros metálicos de este mismo material, a fin de preservarlos del polvo atmosférico.

En estas condiciones, las cepas *Microcoleus vaginatus* (Vauch.) Gomon (Nº 52: *Oscillatoriaceae*); *Anabaena variabilis* (Kütz) Bornet et Flahault y *Nostoc muscorum* Agardh (Nos. 61 y 23 respectivamente: *Nostocaceae*); *Microchaete diplosiphon* Gomont y *Scytonema hofmannii* Agardh (Nos. 92 y 82 respectivamente: *Scytonemataceae*) y *Calothrix parietina* (Nageli) Thuret (Nº 72: *Rivulariaceae*), se mantienen viables durante más de 6 años, lapso que consideramos muy conveniente en el manejo de una colección de cultivos.