

**CYANOBACTERIAS FILAMENTOSAS, TERRICOLAS DE PUNTA FORT WILLIAM,  
ISLA GREENWICH, SHETLAND DEL SUR, ANTARTIDA**

**TERRESTRIAL FILAMENTOUS CYANOBACTERIA AT POINT FORT WILLIAM,  
GREENWICH ISLAND, SOUTH SHETLANDS, ANTARCTICA**

BÁRBEL TREIBER DE ESPINOSA (\*)

**RESUMEN**

*Los especímenes de Oscillatoria sp., Phormidium sp. y Phormidium mucicola Hub. constituyen componentes importantes de la microflora terrícola de la cobertura vegetal sobre un afloramiento rocoso de LAGO PEVIMA, Punta Fort William, Isla Greenwich, Shetland del Sur. La mayoría de individuos son observados en asociación con los musgos Polytrichum sp. y Polytrichum juniperus Hedw., y además como constituyentes del suelo. El presente estudio comprende descripciones morfológicas de los individuos mencionados. El aislamiento y cultivo de las cianobacterias se efectuó mediante el método de diluciones consecutivas en medio de cultivo según Allen (1952) y con la incubación de los cultivos a temperatura ambiental y bajo intensidad y periodicidad de luz natural, en Quito-Ecuador. El buen crecimiento de las cianobacterias bajo estas condiciones de cultivo podría aceptarse como la evidencia para actividades fotosintéticas y de fijación del nitrógeno molecular. En cultivos mixtos en cianobacterias junto a Polytrichum sp., cultivados bajo los mismos parámetros físico-químicos, en el transcurso de un año, se logró quintuplicar la biomasa inicial del musgo. Los resultados obtenidos son buenos indicios de la importante función que cumplen las cianobacterias en aportar nitrógeno combinado al ecosistema antártico.*

**ABSTRACT**

*Specimens of Oscillatoria sp., Phormidium sp. and Phormidium mucicola Hub. become an important part of the soil microflora inside of the vegetal cover of rocks around PEVIMA LAKE, Point Fort William, Greenwich Island, South Shetlands. The highest frequency of organisms was observed in association with the mosses Polytrichum sp. and Polytrichum juniperus Hedw. as well as constituent of soil. This study includes morphological descriptions of the specimens. Isolation and growth of the cyanobacteria was accomplished by the serial dilution method in culture medium proposed by Allen (1952) and incubating cultures at room temperature and at natural light intensity and periodicity in Quito, Ecuador. The vigorous growth of the cyanobacteria under this culture conditions could be accepted as an evidence for their photosynthetic and nitrogen-fixing capacity. In mixed culture of cyanobacteria together with Polytrichum sp., incubated on the same physicochemical parameters; five-fold of the initial biomass of the moss was obtained in the course of one year. These results obtained are good evidences of the important function of the cyanobacteria supplying combined nitrogen to the antarctic ecosystem.*

**INTRODUCCION**

Durante la Tercera Expedición Ecuatoriana a la Antártida en 1991, se obtuvo una colección de muestras de líquenes, musgos y suelo, provenientes del LAGO PEVIMA, Punta Fort William, Isla Greenwich, Shetland del Sur (Treiber de Espinosa y Arcos, 1993). La descripción pertinente a los factores ecológicos de la zona fue elaborada por Arcos (1990).

Las muestras fueron revisadas exhaustivamente para la búsqueda de cianobacterias. La presencia de la cianobacteria *Nostoc*, simbionte de *Stereocaulon alpinum* Laur, ha sido reportada anteriormente (Treiber de Espinosa, 1993). Este estudio se dedica específicamente a las cianobacterias de vida libre y terrícolas de la zona en investigación.

(\*) Fijación Biológica de Nitrógeno. Fax: 593-2-504613. Cádiz 167. Quito-Ecuador.

Numerosos trabajos de Holm-Hansen en ecosistemas antárticos en la década del 1960 reportan la presencia de cianobacterias y su función significativa en cuanto a la calidad de fijadores de nitrógeno (en Fogg et al., 1973).

El nitrógeno es uno de los factores que limita la productividad biológica de un ecosistema. En regiones de clima frío, en donde los procesos de descomposición son sumamente lentos, los microorganismos fijadores constituyen la fuente principal de ingresos "de novo" de nitrógeno combinado para ecosistemas (Alexander 1975, en Stewart, 1975).

Las cianobacterias se encuentran tanto en simbiosis con líquenes antárticos, como en vida libre. En este último caso son abundantes ya sea en cuerpos de agua permanente, como también en el suelo y asociaciones con musgos.

Los valores de la actividad fijadora de nitrógeno medidos en cianobacterias terrícolas de Signy Island, varían entre 23 y 180 mg N/m<sup>2</sup>/año (Alexander, 1975, en Stewart, 1975).

Los representantes de la Familia Oscillatoriaceae no poseen heterocistos. En especímenes fijadores de nitrógeno, la nitrogenasa se localiza en las células vegetativas. Un problema que presenta la nitrogenasa es su inestabilidad frente al oxígeno y junto a ello la producción de oxígeno por parte de las células vegetativas durante la fotosíntesis. Tal dificultad ha sido resuelta por estos microorganismos a través de adaptaciones, como p.e., el microorganismo que habita en un ambiente microaerófilo, o la enzima que se la encuentra dentro de compartimentos intracelulares pobres de oxígeno. De otra forma, el microorganismo realiza también una respiración acelerada para consumir de inmediato el oxígeno producido durante la fotosíntesis (Stewart, 1974, en Quispel, 1974).

En la Antártida, la vida y labor de las cianobacterias depende de cuatro factores principales: un pH alcalino del sustrato, disponibilidad de humedad, luz y temperatura (Steward, 1974, en Quispel, 1974). En lo concerniente al pH, las cianobacterias prefieren un medio alcalino. La dependencia del agua se refleja en la preferencia del hábitat por sitios húmedos y protegidos contra la acción desecante del viento. Se destaca la habilidad que poseen las cianobacterias en aprovechar mínimas intensidades de luz para realizar fotosíntesis. La temperatura influye directamente en la actividad fijadora de nitrógeno. Únicamente pocas cianobacterias fijan efectivamente nitrógeno a temperaturas bajo 0°C y su labor se vuelve significativa con temperaturas más abrigadas durante los días de verano.

El presente estudio constituye en parte el inicio de un monitoreo de cianobacterias de vida libre en sustratos terrestres en Punta Fort William, Isla Greenwich.

## MATERIALES Y METODOS

Las muestras de musgos y suelo revisadas para la búsqueda de cianobacterias terrícolas forman parte de la colección de muestras obtenidas durante la Tercera Expedición Ecuatoriana a la Antártida (Treiber de Espinosa y Arcos, 1993).

El aislamiento de las cianobacterias del suelo implicó, en primera instancia, la separación de gránulos líticos propios del suelo, dicha disgregación se efectuó de la siguiente manera: alcuotas de suelo se suspenden en agua estéril, se agita la muestra, se deja sedimentar los gránulos de suelo y por último se decanta el sobrenadante que contiene a los microorganismos más livianos. Este proceso se realiza repetidas veces. En el caso de cianobacterias que son asociadas estrechamente con las partes basales de los musgos, se realiza un raspado ligero para poder liberarlas del mismo. Para la elaboración de cultivos unialgales se maceró agregados gelatinosos formados por las cianobacterias y se aplicó la técnica microbiológica de dilución y resiembra.

Las muestras se incuban en frascos de vidrio, dotados de fragmentos de cerámica, un tapón de algodón, y provistos con 100 ml de medio de cultivo mineral, libre de nitrógeno combinado recomendado por Allen (1952); previamente toda esta instrumentación fue autoclavada tres veces a 115 °C, 15 l, 15 min. El cultivo se realizó durante más de un año bajo condiciones de temperatura y luminosidad ambiental dadas en el laboratorio en Quito, y se renovó cada quince días el medio de cultivo; al considerar la influencia que ejerce la luz y la temperatura sobre estas muestras, es importante mencionar que los recipientes se mantuvieron ubicados a dos metros de distancia de una ventana cuya dirección es el oriente.

En ensayos paralelos se inocularon fragmentos del musgo *Polytrichum* sp. con cianobacterias y se los cultivó bajo las condiciones anteriormente descritas.

Para la microfotografía se utilizó un microscopio de luz marca Carl Zeiss, modelo Axioplan con cámara MC 63 S incorporada. El material fotográfico corresponde a diapositivas marca Conica, 100 Asa.

La identificación de las cianobacterias y de los musgos se realizó en base a literatura específica (Geitler, 1936; Fritsch, 1945; Engler, 1954; Varverde y Arcos, 1990).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Tres tipos de cianobacterias observadas pertenecen a la Familia Oscillatoriaceae. Las características típicas de la familia expresadas por los especímenes se resumen a continuación:

Los individuos están formados por tricomas uniseriados sin ramificaciones. Las células vegetativas de los tricomas son iguales entre si y de forma discoide. Las células terminales de los tricomas se distinguen de las otras células por una menor pigmentación y por presentar una forma cónica (tricoma capitado). A menudo las células terminales apicales del tricoma producen hacia el exterior una masa gelatinosa que tiene la apariencia de una capucha (caliptra).

A menudo los tricomas se encuentran rodeados por una envoltura mucilaginosa, cuyo espesor y estructuración es variable, es de naturaleza péctica y permite absorber grandes cantidades de agua hasta transformarse en un estrato grueso gelatinoso. Frecuentemente la envoltura mucilaginosa alberga más de un tricoma.

La propagación de los especímenes se dá en la mayoría de los casos a través de la fragmentación de los tricomas en hormogonios. Para efectuarse tal proceso, las denominadas células ocasionales que se ubican intercaladamente en el tricoma, se vuelven amarillas y se desintegran por completo causando de esta manera la división en hormogonios.

En otras oportunidades se ha observado que las células intercalares del tricoma ceden en su funcionamiento y pierden su presión de turgencia. La presión que ejecutan las células vegetativas vecinas sobre ellas, ocasiona una deformación bicóncava que hace posible que estas adquieran una forma de disco lo que permite denominarlas discos de disyunción. El protoplasto de las células discoideas, ahora restringido a menos espacio, torna su coloración a un azul intenso. El proceso de fragmentación del filamento culmina en la desintegración completa de los discos de disyunción.

Los especímenes pertenecientes a la Familia Oscillatoriaceae carecen de heterocistos. En lo referente a la taxonomía dentro de la familia, en muchos casos la separación de especímenes en distintos géneros es arbitraria y frecuentemente es difícil clasificar organismos que unen en sí características de distintos géneros (Fritsch, 1945).

### *Oscillatoria* sp.

El talo está formado por filamentos uniseriados,

homótricos sin ramificaciones que a menudo llegan a una extensión considerable de 100  $\mu\text{m}$  y más. Los filamentos se disponen en forma recta o ligeramente curva; son solitarios y no forman agregados densos (Figura 1).

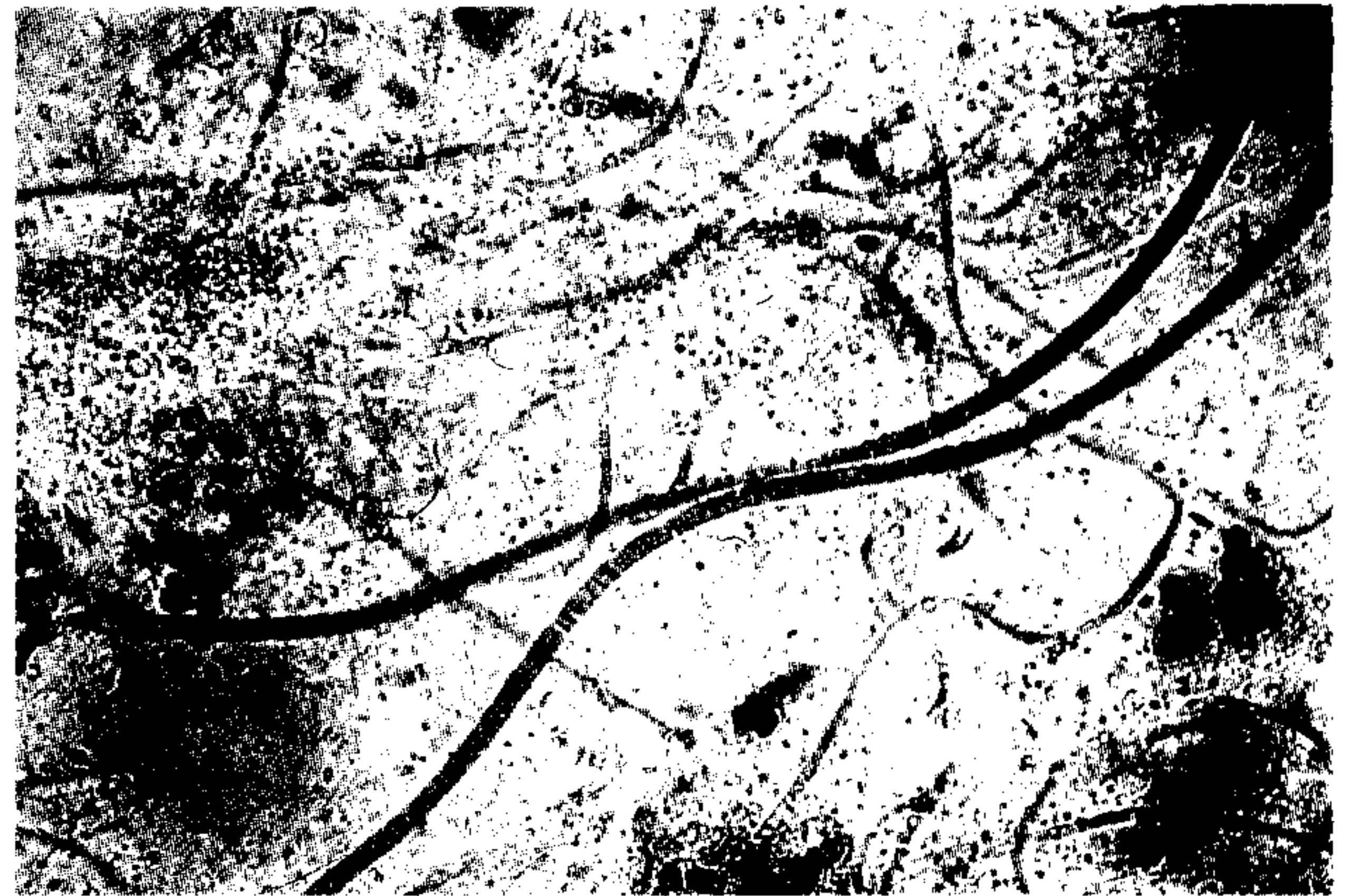


Figura 1. *Oscillatoria* sp. Disposición de dos filamentos en sustrato terrestre (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 16x vale aprox. 600  $\mu\text{m}$ ).

Las células del tricoma son de forma discoide y de un tamaño uniforme de aproximadamente 9  $\mu\text{m}$  de ancho y de 1,5  $\mu\text{m}$  de largo. El protoplasto es claramente distinguishible en un cromatoplasma periférico de un color verde-azulado pálido y un centroplasma incoloro. En el cromatoplasma, a ambos lados de los septos, se ubican numerosos gránulos de cianoficina que en microscopía de luz aparentan ser de un color negruzco. En algunas ocasiones se detecta además otro tipo de gránulos en la parte más central del cromatoplasma que en microscopía de luz y bajo el lente de alta magnificación muestran un color rojo oscuro (Figura 2). Según Klebhahn se desconoce la naturaleza de estos vacúolos de gas pero se asume que contienen nitrógeno o compuestos nitrogenados (en Fritsch, 1945).

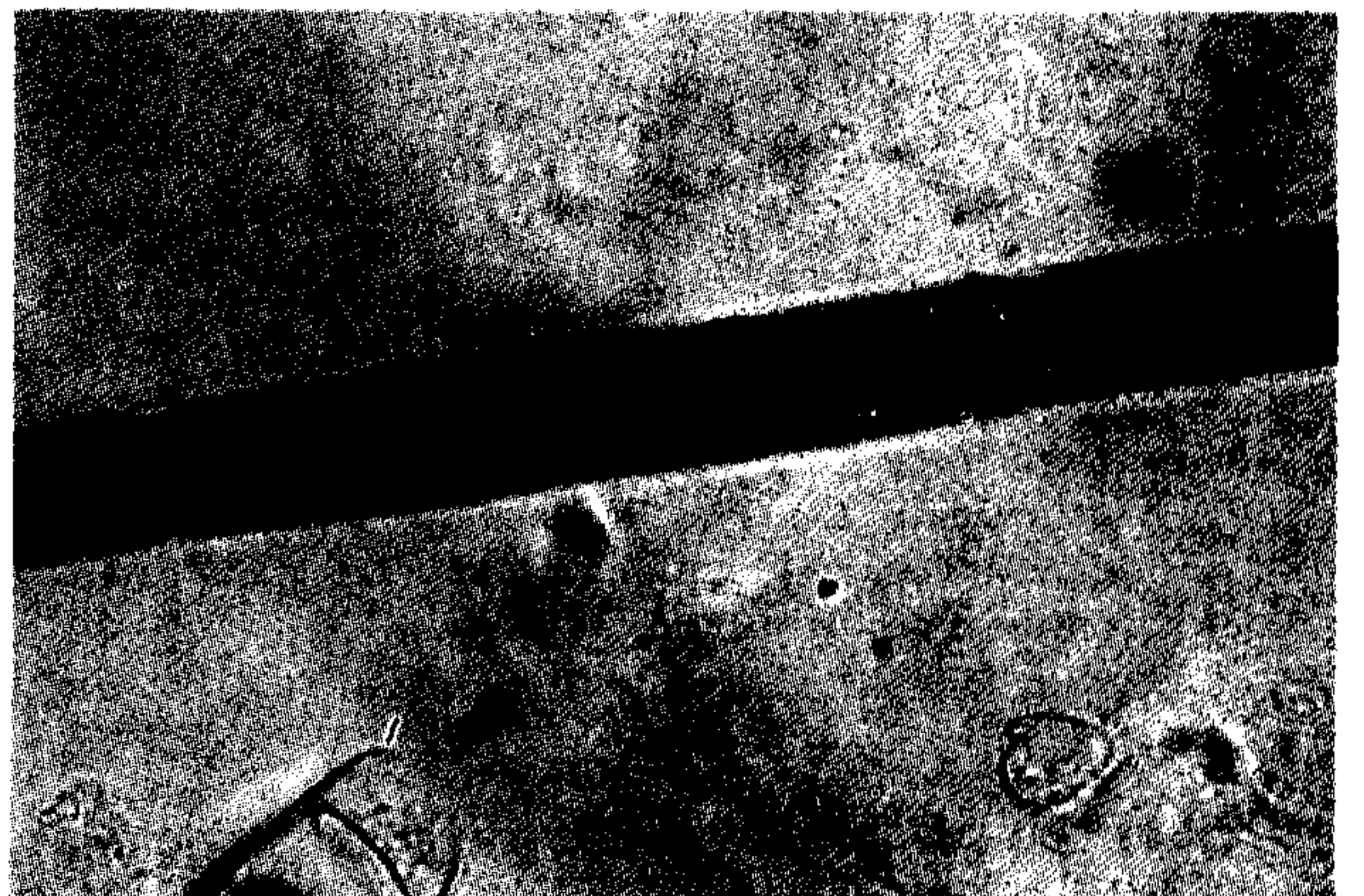


Figura 2. *Oscillatoria* sp. Tricoma constituido por células vegetativas ricas en sustancia granular en el citoplasma (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98  $\mu\text{m}$ ).

La fragmentación de los filamentos en hormogonios ocurre en intervalos de 20 a 30 células y a través de discos de disyunción. Se detecta una deformación bicóncava inicial (Figura 1) que continúa hasta que queda un anillo que posee un color azulmorado intenso (Figura 3). En el estadio más avanzado, las células pierden su color por completo y mueren (Figura 4). Los hormogonios se alejan del filamento materno mediante movimiento activo y germinan formando un nuevo individuo.

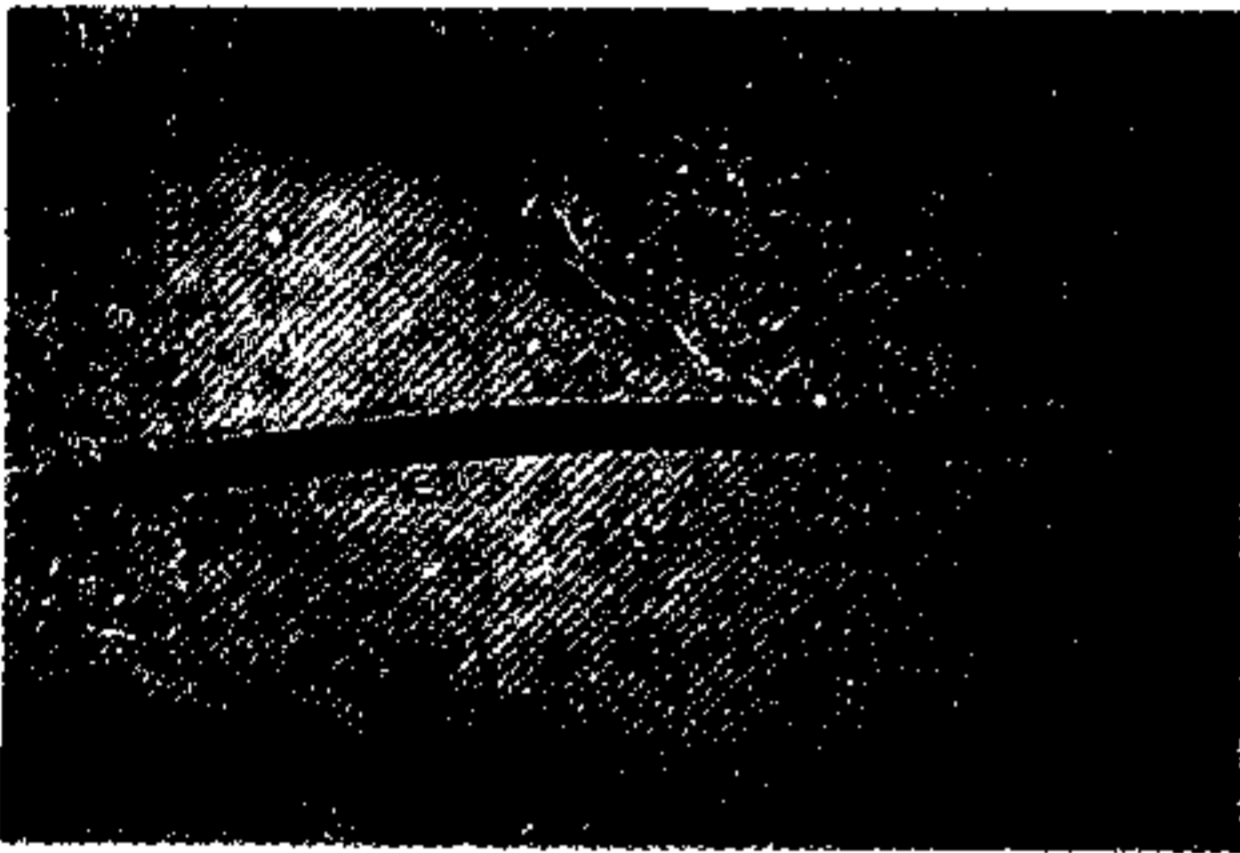


Figura 3. *Oscillatoria* sp. Discos de disyunción intercalados en el tricoma (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 40x vale aprox. 273  $\mu$ m).



Figura 4. *Oscillatoria* sp. Estadio avanzado en la fragmentación del tricoma. Obsérvese los interespacios transparentes en el tricoma (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 40x vale aprox. 273  $\mu$ m).

Las células apicales de los tricomas son de una forma cónica y poseen un color amarillo-azulado pálido (Figura 3). Frecuentemente se observa que en la parte apical de esta célula existe una calípra (Figura 5).



Figura 5. *Oscillatoria* sp. Tricoma con una calípra (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98  $\mu$ m).

El filamento está rodeado por una envoltura de variable grosor y estructuración. Existen filamentos largos que aparentemente poseen una envoltura notable y estructurada (Figura 5) mientras en otros casos queda casi desapercibida y únicamente detectable cuando el tricoma se mueve, dejando detrás de ello una envoltura vacía y con las marcas de contornos de células envueltas anteriormente (Figura 6).



Figura 6. *Oscillatoria* sp. Un tricoma que sale hacia afuera de su envoltura (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98  $\mu$ m).

Los tricomas realizan dos tipos de movimientos. El uno es el deslizamiento continuo del tricoma dentro de su envoltura y que a veces se produce a velocidad considerable. El otro, es un movimiento pendular, repentino y rápido de todo el filamento.

En lo concerniente a la ubicación taxonómica, el espécimen presenta características que de acuerdo a lo descrito concuerdan con el género *Oscillatoria*; estas son: presencia de vacuolos esféricos de gas distribuidos en la parte interior del cromatoplasma; la capa exterior de

la membrana forma una envoltura cilíndrica y continua que envuelve el filamento; ejecución de un movimiento relativamente rápido de hormogonios y tricomas dentro de la envoltura; fragmentación del filamento en hormogonios a través de un disco de disyunción (Fritsch, 1945).

**Descripción del espécimen: *Phormidium* sp.**

El talo está formado por filamentos uniseriados, homótricos sin ramificaciones. Los filamentos se disponen en forma curva y frecuentemente se observa la formación de lazos y nudos. A menudo numerosos filamentos se juntan formando agregados densos y laminares (Figura 7).



Figura 7. *Phormidium* sp. Disposición de los filamentos en sustrato terrestre (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 40x vale aprox. 273 µm).

Las células vegetativas tienen una forma cilíndrica y son de tamaño uniforme de aproximadamente 6 µm de ancho y de 5 µm de largo. La parte central de las células alberga un gran número de gránulos negruzcos, blanquecinos y rojo oscuros. Su distribución es dispersa en todo el protoplasto (Figura 8).



Figura 8. *Phormidium* sp. Tricoma constituido por células vegetativas. Obsérvese las inclusiones citoplasmáticas granulares (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98 µm).

La propagación se realiza a través de la fragmentación de los filamentos en hormogonios, de un número limitado de células (entre 4 y 8). Este proceso se inicia con la muerte de células intercalares del tricoma que se desintegran por completo dejando en su lugar un espacio vacío. Los hormogonios migran fuera del filamento materno y se dispersan en el ambiente. Con frecuencia se puede observar que los hormogonios, con alta actividad de división celular, poseen menos cuerpos granulosos en el protoplasto que en filamentos de mayor edad; la distribución heterógena del cromatoplasto dá al protoplasto la apariencia de estar dividido en celdas (Figura 9, margen izquierdo superior).



Figura 9. *Phormidium* sp. Las células vegetativas de hormogonios tienden a poseer un cromatoplasma heterogeneo (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98 µm)

Las células terminales del tricoma son ligeramente redondeadas y en algunos casos se las observa menos pigmentadas. No se puede observar la presencia de caliptras.

El tricoma está rodeado por una envoltura muy fina que se deja apreciar con claridad únicamente cuando un tricoma está en movimiento (Figura 10) y tiende a desleírse.



Figura 10. *Phormidium* sp. Tricoma con envoltura (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 40x vale aprox. 273 µm).

Características como: una envoltura que se deshace fácilmente, la formación de agregados laminares formados por numerosos filamentos dentro de una matriz mucilaginosa, y la distribución de los gránulos en el protoplasma comparten estos especímenes con las descritas para el género *Phormidium*.

**Descripción del espécimen: *Phormidium mucicola* Hub.**

Los filamentos del espécimen son uniseriados, homótricos y no ramificados; la envoltura es delgada; las células tienen una forma subcuadrática y son de tamaño uniforme de 1  $\mu\text{m}$  de ancho y de 1-1,5  $\mu\text{m}$  de largo. El cromatoplasma periférico es de color verde-azulado pálido. La parte central de las células aparentemente carece de gránulos (Figura 11, filamentos centrales).



Figura 11. *Phormidium mucicola* Hub. Tricoma con envoltura (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98  $\mu\text{m}$ ).

Las células apicales de los tricomas no presentan una diferenciación especial. La multiplicación se realiza a través de hormogonios. La fragmentación del filamento ocurre en los discos de disyunción; estos son de color azul oscuro (figura 12). Los hormogonios salen activamente del filamento. Frecuentemente se observa



Figura 12. *Phormidium mucicola* Hub. Disposición de los discos de disyunción dentro del tricoma (el canto mayor de la fotografía para el aumento de 100x vale aprox. 98  $\mu\text{m}$ ).

un gran número de filamentos enlazados entre sí en hacecillos y absorbidos por una masa gelatinosa común. A menudo filamentos individuales se apartan de los hacecillos y se caracterizan por una envoltura más firme y de coloración parda (Figura 11).

Las características morfológicas mencionadas concuerdan con un espécimen descrito por Priddle and Belcher (1981) e identificado como *Phormidium mucicola* Hub. La ausencia de gránulos citoplasmáticos en el individuo de estudio es diferente de las observaciones de Desikachary y Geitler sobre esta especie (en Priddle and Belcher, 1981).

**Hábitat**

En lo que se refiere al hábitat de *Oscillatoria* sp., los especímenes son observados en el suelo, predominantemente asociado con el musgo *Polytrichum* sp., de preferencia en su parte basal y sobre la tierra húmeda y mezclada con partes caducas de musgo. Al espécimen se lo encuentra solitario y muy raramente dentro de agregados de otras cianobacterias filamentosas que habitan en el mismo lugar.

Con respecto al hábitat del espécimen *Phormidium* sp., se lo observa especialmente asociado con los musgos *Polytrichum juniperus* y *Polytrichum* sp. y de manera particular en la superficie de la tierra del sustrato inmediata a los musgos.

El espécimen *Phormidium mucicola* Hub. habita sobre tierra húmeda y a menudo se asocia con musgos.

**Cultivo**

Los especímenes cultivados bajo las condiciones de cultivo anteriormente descritas muestran un crecimiento vigoroso. En los cultivos mixtos del musgo *Polytrichum* sp. con cianobacterias, ambos integrantes del cultivo proliferan considerablemente. El musgo logra quintuplicar su biomasa en el lapso de un año.

**CONCLUSIONES**

Las observaciones realizadas en cultivos de cianobacterias, permiten hacer las siguientes conclusiones:

Las cianobacterias sobrevivieron el transporte desde la Antártida a Quito-Ecuador y lograron crecer en condiciones de laboratorio; esto indica un amplio rango de adaptabilidad a cambios de temperatura, altura, intensidades de luz, disponibilidad de agua, etc.

El crecimiento en condiciones fotoautótrofas demuestra actividades fotosintéticas.

La sobrevivencia en medio de cultivo libre de nitrógeno combinado es una prueba indirecta para su capacidad fijadora de nitrógeno.

La considerable proliferación del musgo en cultivos mixtos junto a cianobacterias permite que estas últimas satisfagan los requerimientos de nitrógeno del musgo.

La última conclusión induce a creer firmemente en la proto-cooperación en situ.

## AGRADECIMIENTOS

La autora hace presente su agradecimiento al INOCAR dado a través de los directivos del Programa Antártico Ecuatoriano por su apoyo logístico y económico; de manera muy especial al Sr. M. Sc. Fernando Arcos, Srta. María Fernanda Aguirre e Ing. Tomás Espinosa por la revisión y lectura del trabajo, a la Escuela Politécnica Nacional a través de los directivos del Instituto de Investigaciones Tecnológicas por el acceso al fotomicroscopio.

## BIBLIOGRAFIA

- Alexander, V., 1975. Nitrogen Fixation by blue-green algae in polar and subpolar regions. En: Nitrogen Fixation by free-living micro-organisms, W.D.P. Stewart (ed.), Cambridge Univ. Press, London: 175-187.
- Allen, M.B., 1952. The cultivation of Myxophyceae. Arch. Mikrobiol., 17: 34-52.
- Arcos, F., 1990. Estudios preliminares de un cuerpo de agua dulce de Punta Fort Williams, Isla Greenwich. Acta Antártica Ecuatoriana, 2 (1): 57-67.
- Engler, A., 1954. Syllabus der Pflanzenfamilien, Band I: Allgemeiner Teil, Bakterien bis Gymnospermen. Gebrueder Borntrager. Berlin. 367 pp.
- Fogg, G. E., W.D.P. Stewart, P. Fay and A.E. Walsby, 1973. The Blue-Green Algae. Acad. Press, London. 458 pp.
- Fritsch, F.E., 1945. The structure and reproduction of algae; Vol. II. Cambridge Univ. Press. Cambridge: 939 pp.
- Geitler, L., 1936. Handbuch der Pflanzenfamilien, II. Abt. Band VI. I. Teilband: Schizophyceen. Gebrueder Borntrager. Berlin. 139 pp.
- Priddle, J. and J.H. Belcher, 1981. Freshwater Biology at Rothera Point, Adelaide Island; II. Algae. Br. Antarct. Surv. Bull., 53: 9 pp.
- Stewart, W.D.P., 1974. Blue-green algae. En: The Biology of Nitrogen Fixation, A. Quispel (ed.). North Holland Publishing Company, Amsterdam: 202-237.
- Treiber de Espinosa, B., 1993. *Nostoc* sp. ficobionte de *Stereocaulon alpinum* Laur. Acta Antártica Ecuatoriana, 3(1): 67-70.
- Treiber de Espinosa, B. y F. Arcos, 1993. Cianobacterias en sustratos terrestres de Punta Fort William, Isla Greenwich, Shetland del Sur. Acta Antártica Ecuatoriana, 3(1): 55-58.
- Valverde, F. y F. Arcos, 1990. Estudios preliminares de la cobertura vegetal en Punta Fort Williams, Isla Greenwich. Acta Antártica Ecuatoriana, 2(1): 47-61.