

**Crescita comparata di due forme
di «*Cyanidium caldarium*» dei Campi Flegrei (Napoli)
in presenza di diverse fonti di azoto (**).**

La specie *Cyanidium caldarium*, alga unicellulare di ambienti fumarolici acidi, è stata oggetto di numerosi studi sotto gli aspetti morfologico, sistematico, ecologico e fisiologico. Purtroppo le descrizioni insufficienti e le illustrazioni equivocabili date da TILDEN (1898) hanno indotto a riferire alla specie *Cyanidium caldarium* (Tilden) Geitler organismi differenti presenti anche nella stessa località, come da noi messo in evidenza recentemente.

Per tale motivo principalmente le osservazioni effettuate dai vari Autori hanno talvolta dato risultati contrastanti.

In particolare ci appare opportuno segnalare che FUKUDA (1958) *** coltiva *C. caldarium* su terreno contenente nitrato come unica fonte di azoto, mentre ALLEN (1959) **** sostiene che l'alga non può utilizzare i nitrati; infine RIGANO (1968) coltiva su nitrato un ceppo di *C. caldarium* dei Campi Flegrei, dal quale estrae l'enzima nitrato-riduttasi.

* Istituto di Botanica della Facoltà di Scienze dell'Università di Napoli (Italia).

** Lavoro eseguito con un contributo, per ricerche ecologiche, del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Comitato Biologia e Medicina.

*** FUKUDA 1958 (p. 80): cfr. «Composition of culture medium».

**** ALLEN 1959 (p. 274): «..., *Cyanidium* cannot reduce nitrates to form cell material, ... ».

In lavori precedenti, nostri e di CASTALDO, è stata già segnalata la presenza, presso le bocche fumaroliche dei Campi Flegrei, di due alghe, entrambe riferibili alla specie *C. caldarium*, delle quali sono state descritte alcune differenze morfologiche e fisiologiche (CASTALDO 1968 e 1970; DE LUCA e TADDEI 1970).

Tali due alghe sono state da noi indicate con i nomi provvisori: *Cyanidium caldarium forma A* e *C. caldarium forma B*.

Scopo del presente lavoro è stato quello di verificare se per le due alghe dei Campi Flegrei esistessero differenze anche riguardo alla capacità di utilizzazione dei nitrati.

MATERIALE E METODI

Come materiale di partenza sono state utilizzate una cultura di *Cyanidium caldarium forma A* ed una di *C. caldarium forma B*, entrambe dei Campi Flegrei presso Napoli (cfr. DE LUCA & TADDEI 1970), condotte sterilmente su mezzo di ALLEN (1959).

Ai fini dell'esperimento, oggetto del presente lavoro, da ciascuna delle due colture 3 stock da 1 ml sono stati prelevati ed inoculati in altrettanti cilindri di vetro contenenti 250 ml di mezzo di ALLEN, acidificato con H_2SO_4 3 ml/litro (pH = 1,5), con le seguenti varianti:

- 1) substrato normale, cioè *Allen* con $(NH_4)_2SO_4$ 0,005 M (NH₄)
- 2) *Allen*, privo di $(NH_4)_2SO_4$, con $NaNO_3$ 0,005 M . . . (NO₃)
- 3) *Allen*, privo di $(NH_4)_2SO_4$ (senza N minerale)

A prescindere dalla composizione del terreno impiegato, tutte e sei le colture sono state condotte nelle seguenti condizioni: aerazione ottenuta mediante gorgogliamento di aria arricchita di CO₂ 5%, in condizioni sterili; temperatura 40° C; illumi-

nazione laterale continua, ottenuta con lampade Philips TLD 30 W/55 (8.000 lux alla superficie dei cilindri).

La crescita delle colture, seguita mediante lettura al colorimetro alla lunghezza d'onda di 550 m μ , è stata rappresentata graficamente nelle figg. 1 e 2.

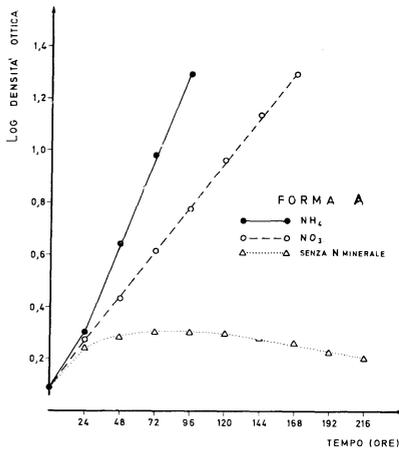


Fig. 1

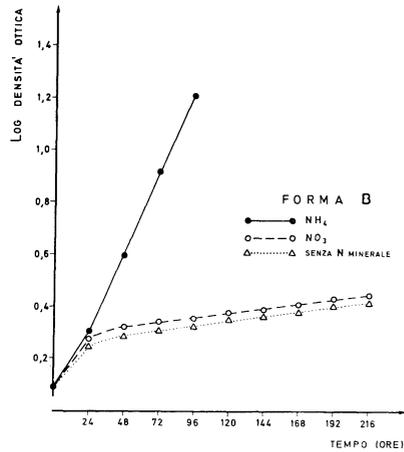


Fig. 2

Crescita di *Cyanidium caldarium* forma A (Figura 1) e di *C. caldarium* forma B (Figura 2), entrambi provenienti dai Campi Flegrei presso Napoli, coltivati su mezzi con NH₄, con NO₃ e senza N minerale. (8.000 lux; T = 40° C; pH = 1,5).

Si noti, in particolare, che la forma A utilizza i nitrati (NO₃), mentre la forma B non ne è capace. Nella Fig. 2 l'apparente lieve crescita della forma B su NO₃ non contrasta con tale affermazione, come si deduce dal confronto con la curva della crescita di tale forma in mezzo senza N minerale.

I nomi *Cyanidium caldarium* forma A e *C. caldarium* forma B sono provvisori.

RISULTATI

La crescita su NH₄ è stata la maggiore sia per *Cyanidium caldarium* forma A che per *C. caldarium* forma B.

In mancanza di sali di azoto la *forma A* non sopravvive (dopo 6-7 giorni le cellule, osservate al microscopio ottico, risultano morte per la quasi totalità). La *forma B*, invece, resiste alla mancanza di sali di azoto per periodi lunghissimi: dopo 40 giorni di permanenza nel terreno privo di azoto minerale, le cellule, osservate al microscopio ottico, si presentano ancora integre, ma con il cloroplasto ridotto ad una sottile pellicola aderente alla parete della cellula.

Le colture su NO_3 hanno dato indubbiamente i risultati più interessanti: mentre la crescita della *forma A* è stata notevole (anche se minore di quella su NH_4), la *forma B*, coltivata su NO_3 , praticamente non è cresciuta e si è comportata come in assenza di N minerale; ciò si è verificato anche per quanto riguarda le condizioni della cellula e del cloroplasto dopo 40 giorni di permanenza su tale substrato.

In conclusione, nelle nostre condizioni di coltura, indicate a pag. 4, *la forma A utilizza i nitrati; la forma B non utilizza i nitrati*, come risulta dal suo comportamento, che è identico su mezzo con NO_3 e su mezzo senza N minerale.

In questa sede ci interessa mettere in evidenza il differente comportamento nella utilizzazione dei nitrati da parte della *forma A* e della *forma B* e non avanziamo ipotesi sulla interpretazione della apparente lieve crescita della *forma B* in terreni con NO_3 e in terreni senza N minerale.

La crescita iniziale avutasi nelle due colture senza N minerale ed in quella su NO_3 della *forma B* (come si osserva dai grafici) è dovuta ad una certa quantità di NH_4 introdotta nelle colture per mezzo dell'inoculum iniziale.

Il quantitativo di cellule contenute nell'inoculum è stato volutamente basso al fine di limitare quanto più possibile, durante l'esperimento, le variazioni di pH determinate soprattutto dalla sottrazione degli ioni NH_4 ovvero NO_3 da parte delle alghe. La massima variazione riscontrata alla fine dell'esperimento (*forma A* su NO_3) è stata inferiore a 0,2 unità di pH.

CONCLUSIONI

Le due alghe termali acidofile dei Campi Flegrei, in precedenza riferite entrambe alla specie *Cyanidium caldarium* e da noi indicate con i nomi provvisori *C. c. forma A* e *C. c. forma B*, risultano appartenere ad entità sistematiche diverse sulla base di osservazioni morfologiche e fisiologiche.

Abbiamo messo in evidenza infatti che, nelle nostre condizioni di coltura (mezzo di ALLEN modificato o non; 8.000 lux; T = 40° C; pH = 1,5) l'alga della *forma A* utilizza i nitrati, mentre l'alga della *forma B* non ne è capace.

Tale constatazione assume particolare importanza se messa a confronto con i risultati contrastanti relativi alla specie *C. caldarium* riportati da FUKUDA e da ALLEN.

FUKUDA (1958) riferisce infatti di aver coltivato un ceppo giapponese dell'alga su mezzi contenenti NO₃ come unica fonte di azoto, mentre ALLEN (1959) riporta che il *C. caldarium* dello Yellowstone Park non è capace di utilizzare i nitrati.

Tutto questo conferma le nostre precedenti affermazioni relative alla presenza in natura di alghe molto simili, ma diverse, riferite finora all'unica specie *Cyanidium caldarium* (Tilden) Geitler.

SUMMARY

Two thermal acidophilic algae from Campi Flegrei (near Naples), both previously ascribed to the species *Cyanidium caldarium* and here temporarily called *C. caldarium forma A* and *C. c. forma B*, show not only morphological but also physiological differences, when compared to each other.

Forma A uses nitrates to form cell material, while *forma B* can not use nitrates, at least in our cultural conditions (ALLEN's medium, modified or not; 8.000 lux; T = 40° C; pH = 1.5).

This accounts for the diverging results which have been obtained by other Authors: FUKUDA grows a Japanese strain of *C. caldarium* on media containing NO₃ as sole source of nitrogen, while ALLEN maintains that an American strain of the same species can not reduce nitrates.

This confirms the presence in nature of very similar, but different algae, actually attributed by other Authors to one and the same species, *Cyanidium caldarium* (Tilden) Geitler.

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN M. B., 1959. *Studies with Cyanidium caldarium, an anomalously pigmented chlorophyte*. Arch. Mikrobiol. **32**, 270-277.
- CASTALDO R., 1968. *Ricerche sull'ultrastruttura del Cyanidium caldarium dei Campi Flegrei*. Delpinoa **8-9**, 135-147.
- —, 1970. *Ultrastruttura di due forme isolate dalle popolazioni di Cyanidium caldarium (Tilden) Geitler*. Delpinoa **10-11**, 91-109.
- DE LUCA P. & R. TADDEI, 1970. *Due alghe delle fumarole acide dei Campi Flegrei (Napoli): Cyanidium caldarium?* Delpinoa **10-11**, 79-89.
- FUKUDA I., 1958. *Physiological studies on a thermophilic blue green alga Cyanidium caldarium*. Bot. Mag. **71**, 79-86.
- GEITLER L. & F. RUTTNER, 1935. *Die Cyanophyceen der deutschen limnologischen Sunda Expedition, ecc.* Arch. Hydrobiol., suppl. **14**, 371-481.
- RIGANO C., 1968. *Azione del trattamento termico e del pH sull'attività in « vitro » di un enzima (nitrato riduttasi) estratto da Cyanidium caldarium (ceppo Pozzuoli), alga acidofila e termale*. Delpinoa **8-9**, 75-83.
- SETCHELL W. A., 1901. *Phycotheca Borealis Americana* **18**, n° 851.
- TILDEN J., 1898. *Observations on some west american thermal algae*. Bot. Gaz. **26**, 89-105.
- —, 1910. *Minnesota algae*.