

Paolo De Luca *

Aldo Moretti *

Roberto Taddei *

**Presenza di *Cyanidioschyzon merolae*
De Luca, Taddei, Varano in ambienti acidi
extraeuropei (U.S.A. e Indonesia)****

Come riferito in una precedente serie di lavori (CASTALDO, 1968; DE LUCA, TADDEI, 1970; ecc.), presso le fumarole dei Campi Flegrei (Napoli, Italia) furono rinvenute due alghe unicellulari eucariote, termofile ed acidofile; queste alghe, riferibili secondo la letteratura corrente a *Cyanidium caldarium*, ma decisamente diverse tra di loro, furono chiamate provvisoriamente, in attesa di una più esatta collocazione sistematica, *Cyanidium caldarium forma A* e *Cyanidium caldarium forma B* (DE LUCA, TADDEI, 1970, 1976).

In questa stessa località, successivamente, fu riscontrata la presenza di una terza alga unicellulare eucariota, acidofila e termofila, mai segnalata in precedenza; ad essa fu assegnato il binomio *Cyanidioschyzon merolae* (DE LUCA, TADDEI, VARANO).

Nel corso di una spedizione scientifica in America (1) e di un viaggio botanico in Indonesia (2) sono state visitate le fumarole dello Yellowstone National Park (Wyoming, U.S.A.) e del monte Lawu (Giava, Indonesia).

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

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

(1) Organizzata grazie all'interessamento dell'Accademia Nazionale dei Lincei, che qui ringraziamo.

(2) Finanziato dal Consiglio Nazionale delle Ricerche.

Sono state raccolte e messe in coltura le alghe termofile ed acidofile che popolano quegli ambienti e sono state isolate, per ogni stazione, *Cyanidium caldarium forma A* e *Cyanidium caldarium forma B* (DE LUCA et AL., lavoro in preparazione), cioè le stesse due alghe già riscontrate in Italia presso le fumarole dei Campi Flegrei (Napoli).

Osservando al microscopio ottico questo materiale, è stata notata la presenza di una terza alga che, in base alle caratteristiche morfologiche, poteva essere attribuita alla specie *Cyanidioschyzon merolae*, già segnalata, anch'essa, ai Campi Flegrei.

Col presente lavoro vengono condotti preliminari studi comparati su *Cyanidioschyzon merolae* dei Campi Flegrei e sulle alghe extraeuropee, riferite a questa stessa specie, al fine di stabilire eventuali affinità o differenze esistenti fra di loro.

Sono state prese in esame, come preliminari indagini comparate, l'osservazione al microscopio ottico, la ricerca del pH ottimale di crescita, la crescita su diverse fonti di azoto, la crescita in condizioni di eterotrofia, la resistenza a diverse concentrazioni saline.

MATERIALI E METODI

Per le indagini effettuate in questo lavoro sono stati utilizzati il ceppo tipo di *Cyanidioschyzon merolae* dei Campi Flegrei (Napoli, Italia) e due ceppi di alghe, ad esso riferiti, provenienti l'uno dallo Yellowstone National Park (Wyoming, U.S.A.) e l'altro dal monte Lawu (Giava, Indonesia).

Per l'isolamento monoalgale dei due ceppi extraeuropei è stato seguito il metodo delle diluizioni successive, già adottato per il ceppo tipo di *C. merolae*. È stato necessario far uso di questo metodo, dal momento che la crescita di queste alghe è estremamente bassa su agar.

Le alghe sono state coltivate su terreno di coltura liquido di ALLEN (1959), a pH 1.5, con le modificazioni più sotto indicate.

Tutte le prove di crescita sono state condotte in beute di vetro da 100 ml contenenti 35 ml di terreno liquido; le beute erano poste su di un piano oscillante di plexiglas ed illuminate dal basso da lampade Philips TLD 30 W/55, a luce continua di 8.000 lux. L'ambiente era termostato a 35°C (*).

Le prove effettuate sono state:

- ricerca del pH ottimale di crescita;
- crescita in presenza di azoto ammoniacale o nitrico;
- crescita in condizioni di eterotrofia;
- aloresistenza.

Ricerca del pH ottimale di crescita. Il pH del mezzo è stato regolato, mediante aggiunta di H_2SO_4 , ai valori di 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5.

Crescita in presenza di azoto ammoniacale o nitrico. Per la crescita in presenza di sali d'ammonio il terreno di ALLEN non ha subito modificazioni; per la crescita in presenza di azoto sotto la forma nitrica $l'(NH_4)_2SO_4$ è stato sostituito con $NaNO_3$ (0,85 g/l).

Crescita in condizioni di eterotrofia. Sono stati aggiunti al mezzo 3 g/l di glucosio e le beute sono state ricoperte con uno strato di carta argentata.

Aloresistenza. Sono stati utilizzati terreni di coltura contenenti quantità di NaCl varianti da 0 a 8%, con intervalli di una unità.

Per tutte le prove la crescita delle alghe è stata controllata, ogni ventiquattro ore, mediante lettura ad un colorimetro Bausch & Lomb, alla lunghezza d'onda di 550 nm.

(*) Si è operato ad una temperatura prossima a quella misurata sulle zone di raccolta delle alghe.

RISULTATI

I risultati delle indagini effettuate sono stati i seguenti (vedi anche la Tab. 1).

Osservazione al microscopio ottico. Il ceppo dello Yellowstone Park (Wyoming, U.S.A.) ed il ceppo del monte Lawu (Giava, Indonesia) hanno presentato caratteristiche del tutto coincidenti con quelle del ceppo tipo di *Cyanidioschyzon merolae* dei Campi Flegrei (Napoli, Italia): cellule a forma di clava, divisione longitudinale in due, mancanza di fenomeni di sessualità o di auto-sporia (cfr. DE LUCA, TADDEI, VARANO).

Lievi discordanze sono state rilevate per quanto riguarda le dimensioni cellulari, come si può notare dalle misure riportate in Tab. 1.

Ricerca del pH ottimale di crescita. I tre ceppi sono cresciuti su tutti i terreni preparati a pH diversi; la migliore crescita si è avuta, per tutti, al valore di pH = 1,5.

Crescita in presenza di azoto ammoniacale o nitrico. I tre ceppi sono in grado di assimilare azoto sia sotto la forma ammoniacale sia sotto quella nitrica, sebbene presentino una crescita leggermente maggiore se coltivati su azoto ammoniacale.

In una prova parallela, in mezzo privo di azoto minerale, non si è avuta crescita.

Crescita in condizioni di eterotrofia. Coltivato in presenza di glucosio, al buio, nessuno dei ceppi esaminati è riuscito a sopravvivere.

Aloresistenza. Il ceppo dello Yellowstone Park ed il ceppo del monte Lawu hanno resistito fino ad una concentrazione di NaCl pari al 3%; il ceppo dei Campi Flegrei fino a quella del 5%.

	Campi Flegrei (Italia)	Yellowstone Park (U.S.A.)	Giava (Indonesia)
crescita su NH_4^+	SI	SI	SI
crescita su NO_3^-	SI	SI	SI
crescita in eterotrofia	NO	NO	NO
pH ottimale	1,5	1,5	1,5
aloresistenza	5%	3%	3%
dimensioni (in μ)	3,5 x 1,5	5,5 x 1,3	3,0 x 1,4

TABELLA 1 — Caratteristiche colturali e dimensioni cellulari in tre ceppi di *Cyanidioschyzon merolae*, provenienti da tre diverse località: Campi Flegrei (Napoli, Italia); Yellowstone National Park (Wyoming, U.S.A.); monte Lawu (Giava, Indonesia).

CONCLUSIONI

Le indagini svolte in questo lavoro dimostrano l'esistenza di una chiara uniformità, fra il ceppo tipo di *Cyanidioschyzon merolae* dei Campi Flegrei ed i ceppi dello Yellowstone Park e del monte Lawu, per quanto riguarda la morfologia, il tipo di riproduzione, l'acido-resistenza, la termofilia, l'assimilazione di determinati composti contenenti azoto, l'autotrofia obbligatoria.

Lievi discordanze presentano, invece, le dimensioni cellulari ed i valori di aloresistenza.

Le differenze riscontrate non ci sembrano tanto rilevanti da determinare una separazione dei tre ceppi a livello tassonomico; pertanto pensiamo di poter attribuire le due nuove alghe extra-europee alla specie *Cyanidioschyzon merolae*.

L'indagine sinecologica delle zone di raccolta dimostra che i tre ceppi esaminati vivono frammisti a *Cyanidium caldarium forma A* e a *C. caldarium forma B*.

I risultati delle prove di questo lavoro sui ceppi di *Cyanidioschyzon merolae* e i dati ricavati da lavori precedenti, relativi

a *Cyanidium caldarium forma A* e a *C. caldarium forma B* dei Campi Flegrei, dimostrano l'esistenza di una maggiore affinità di *Cyanidioschyzon merolae* con *Cyanidium caldarium forma A* piuttosto che con *C. caldarium forma B*.

Cyanidioschyzon merolae e *Cyanidium caldarium forma A* presentano, infatti, analogo comportamento per quanto riguarda l'autotrofia obbligata (DE LUCA, MUSACCHIO, TADDEI, 1972), la capacità di utilizzare i nitrati (DE LUCA, TADDEI, 1972) e l'alo-resistenza (MUSACCHIO, PINTO, SABATO, TADDEI, 1978).

Viceversa, *Cyanidium caldarium forma B* riesce a vivere in condizioni eterotrofiche, non è capace di assimilare i nitrati e presenta valori nettamente superiori di alo-resistenza (*ll. cc.*).

Tutto ciò conferma l'ipotesi di DE LUCA, TADDEI e VARANO, fatta sulla base di dati ultrastrutturali, a proposito dell'esistenza di una stretta relazione di *Cyanidioschyzon merolae* con *Cyanidium caldarium forma A*.

RIASSUNTO

Presso le fumarole dello Yellowstone National Park (Wyoming, U.S.A.) e presso quelle del monte Lawu (Giava, Indonesia) sono stati raccolti e isolati due ceppi di alghe riferibili, in base alle prime osservazioni, alla specie *Cyanidioschyzon merolae* De Luca, Taddei, Varano, alga unicellulare eucariota, termofila e acidofila, finora segnalata unicamente presso le fumarole dei Campi Flegrei (Napoli, Italia).

I risultati di preliminari studi comparati, condotti sul ceppo tipo di *C. merolae* (Campi Flegrei) e sui due nuovi ceppi, hanno dimostrato che le due alghe extraeuropee possono essere attribuite senz'altro alla specie *C. merolae*.

Il confronto fra questi risultati e quelli analoghi, precedentemente ottenuti per *Cyanidium caldarium forma A* e per *Cyanidium caldarium forma B* dei Campi Flegrei, ha dimostrato che esiste una più stretta relazione di *Cyanidioschyzon merolae* con *Cyanidium caldarium forma A* piuttosto che con *C. caldarium forma B*.

SUMMARY

Near the fumaroles of the Yellowstone National Park (Wyoming, U.S.A.) and those of Mount Lawu (Java, Indonesia) two strains of algae have been collected and isolated that, on the ground of preliminary observations, can be referred to the species *Cyanidioschyzon merolae* De Luca, Taddei, Varano, a unicellular euchariotic, thermophilic and acidophilic alga, until now recorded only near the fumaroles of Campi Flegrei (Naples, Italy).

Some preliminary comparative studies have shown that a complete omogeneity exists between *C. merolae* and the new strains insofar as the following characteristics are concerned, viz, claviform aspect, the modality of reproduction by means of longitudinal fission, acidophily, thermophily, strict autotrophy, and the ability to employ both nitrates and ammonium. Slight differences, on the other hand, have been observed concerning halotolerance and the sizes of cells.

These results show that the new strains can be attributed beyond any doubt to the species *C. merolae*.

The comparison between these data and the similar ones already obtained for *Cyanidium caldarium forma A* and *C. caldarium forma B* from Campi Flegrei (Naples, Italy), has shown that *Cyanidioschyzon merolae* is more similar to *C. caldarium forma A* than to *C. caldarium forma B*; earlier hypotheses advanced on the basis of ultrastructural data have thus been confirmed.

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 (Tilden) Geitler dei Campi Flegrei (Napoli)*. Delpinoa, 8-9: 135-147.
- DE LUCA P. et Al. Lavoro in preparazione.
- DE LUCA P., MUSACCHIO A., TADDEI R., 1972. *Diverso comportamento in eterotrofia delle due forme di «Cyanidium caldarium» dei Campi Flegrei (Napoli)*. Delpinoa, 12-13: 19-27.
- DE LUCA P., TADDEI R., 1970. *Due alghe delle fumarole acide dei Campi Flegrei (Napoli): Cyanidium caldarium?* Delpinoa, 10-11: 79-89.

- DE LUCA P., TADDEI R., 1972. *Crescita comparata di due forme di « Cyanidium caldarium » dei Campi Flegrei (Napoli) in presenza di diverse fonti di azoto.* Delpinoa, 12-13: 3-8.
- DE LUCA P., TADDEI R., 1976. *On the necessity of a systematic revision of the thermal acidophilic alga « Cyanidium caldarium » (Tilden) Geitler.* Webbia, 30: 197-218.
- DE LUCA P., TADDEI R., VARANO L. *Cyanidioschyzon merolae: a new alga of thermal acidic environments.* Webbia, in stampa.
- MUSACCHIO A., PINTO G., SABATO S., TADDEI R., 1978. *Aloresistenza in diversi ceppi di Cyanidium caldarium forma A e forma B.* Delpinoa, 18-19: 37-44.