

Aldo Musacchio \*

Gabriele Pinto \*

Sergio Sabato \*

Roberto Taddei \*

**Aloresistenza in diversi ceppi di  
*Cyanidium caldarium* forma A e forma B \*\***

Negli ambienti fortemente acidi fu più volte segnalata la presenza dell'alga *Cyanidium caldarium* (Tilden) Geitler.

Sotto questo nome, in realtà, furono spesso confuse due differenti alghe, che DE LUCA e TADDEI (1970) indicarono con i nomi provvisori *Cyanidium caldarium* forma A e *C. caldarium* forma B.

Molteplici osservazioni di natura morfologica e ultrastrutturale (DE LUCA, TADDEI, 1970; CASTALDO, 1970), fisiologica e biochimica (DE LUCA, TADDEI, 1972; DE LUCA, MUSACCHIO, TADDEI, 1972; BOENZI, DE LUCA, TADDEI, 1977) furono eseguite sui ceppi di queste due alghe provenienti dai Campi Flegrei (Napoli, Italia); tali osservazioni evidenziarono un comportamento diverso, riguardo a molti caratteri presi in considerazione, tra la forma A e la forma B.

Il complesso di queste differenze suggerisce che le due alghe debbono appartenere a differenti entità sistematiche, di rango non inferiore alla specie (DE LUCA, TADDEI, 1976).

La presenza delle due alghe fu segnalata anche in numerose altre località italiane (DE LUCA, MORETTI, MUSACCHIO, TADDEI, 1974; DE LUCA, MORETTI, TADDEI, 1974; PINTO, TADDEI, 1975).

---

\* 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.

Nel presente lavoro abbiamo utilizzato un certo numero di ceppi della *forma A* e della *forma B*, provenienti da tali località e anche da altre, finora mai segnalate.

Scopo del lavoro è quello di determinare i limiti di alotolleranza nei diversi ceppi delle due forme, al fine di mettere in evidenza eventuali differenze tra le due alghe relativamente a questo carattere. Tale fattore è considerato infatti, nell'ambito del genere *Chlorella*, un carattere tassonomico valido a livello di specie (KESSLER, 1974).

#### MATERIALI E METODI

Abbiamo utilizzato 20 ceppi di *Cyanidium caldarium forma A* e 36 ceppi della *forma B*, isolati in colture axeniche e provenienti dalle località indicate nelle Tab. 1 e 2.

Il ceppo n° 1355/1 proviene dal C.C.A.P. di Cambridge e fu isolato da ALLEN nello Yellowstone Park (Wyoming, USA). Le osservazioni al microscopio ottico e alcune prove fisiologiche da noi eseguite su tale ceppo ci hanno rivelato che esso è identificabile con *C. caldarium forma B*.

I diversi ceppi furono posti in coltura, su terreno liquido di ALLEN (1959), a pH=1,5, in provette poste inclinate su di un piano oscillante (cfr. SHIHIRA, KRAUSS, 1965, pag. 8) di plexiglas, illuminato dal basso a luce continua con lampade Philips TLD 30 W/55 (8500 lux), in ambiente termostato a 35°C.

Quando ciascuna coltura fu sufficientemente densa, essa venne trasferita in una serie di provette con terreno di ALLEN, a pH=1,5, addizionato con NaCl nelle concentrazioni 0,1,2, . . . . , 12,13%.

Le provette furono poste sullo stesso piano oscillante, nelle identiche condizioni di luce e di temperatura.

La crescita delle alghe venne seguita mediante lettura al colorimetro (Bausch & Lomb Spectronic 20), alla lunghezza d'onda di 550 nm, effettuata ogni 24 ore. La lettura si poteva eseguire

senza bisogno di prelievi, in quanto il diametro delle provette usate (14 mm) si adatta perfettamente al pozzetto dello strumento.

Per ciascun ceppo, la coltura con la massima concentrazione di NaCl, in cui veniva osservata una crescita apprezzabile, veniva trasferita in provetta con mezzo di coltura a concentrazione in NaCl di una unità superiore; se essa presentava ancora crescita apprezzabile, l'operazione veniva ripetuta fino a che non si raggiungeva il limite di tolleranza.

In tale maniera si è determinata la aloresistenza di ciascun ceppo, mediante adattamento a concentrazioni crescenti di NaCl.

## RISULTATI

I limiti di aloresistenza dei 20 ceppi di *C. caldarium forma A* e dei 36 ceppi di *C. caldarium forma B* sono riportati nelle Tabb. 1 e 2.

Un solo ceppo, fra i 20 della *forma A*, non tollera concentrazioni superiori al 3%; gli altri resistono fino a concentrazioni del 6-7-8%; un ceppo cresce ancora alla concentrazione del 9%.

Per quanto riguarda la *forma B*, due ceppi non superano le concentrazioni del 7 e dell'8% rispettivamente; gli altri tollerano concentrazioni del 9-10-11%; un solo ceppo cresce ancora al 12% di concentrazione di NaCl, che è il massimo valore riscontrato.

Nel grafico della Fig. 1 sono riportati i risultati ottenuti, relativi ai ceppi di ambedue le forme dell'alga. Ciascun punto del grafico indica il numero di ceppi (ordinate), che presentano il limite di aloresistenza ad una stessa concentrazione di NaCl (ascisse).

L'andamento del grafico rivela che le due forme dell'alga presentano sostanziali differenze riguardo all'aloresistenza.

Per *C. caldarium forma A*, infatti, si nota che il limite di alotolleranza, per la maggior parte dei ceppi, è del 7-8%, mentre per la *forma B* è del 10%.

Il ceppo che mostra il più basso limite di alotolleranza, in assoluto, è il *C. caldarium forma A* della località Pisciarelli, dove, a differenza di altre località, è stata notata la presenza di questa alga anche in acque acide.

Infine bisogna riferire un'osservazione fatta nel corso dell'esperimento: i ceppi della *forma A* hanno mostrato un periodo di adattamento più lungo alle concentrazioni crescenti di NaCl; quelli della *forma B* mostravano la capacità di sopportare bene sbalzi, anche molto ampi, di concentrazioni di NaCl.

Ceppo	Provenienza	Comune (Prov.)	Alotolleranza
001	fumarole di Pisciarelli	Pozzuoli (NA)	3
020	sorgente sulfurea di Saturnia	Manciano (GR)	6
021	sorg. sulf. Bagni San Filippo	Castiglione d'O. (SI)	8
022	sorg. sulf. Terme Caronte	Sambiasi (CZ)	7
023	fumarole di Montecito	Casamicciola T. (NA)	9
024	sorg. sulf. Laghi del Vescovo	Pontinia (LT)	7
025	miniera di zolfo	Canale Monterano (RM)	7
026	sorgente sulfurea il Doccio	Murlo (SI)	7
027	fumarole dell'isola Vulcano	Lipari (ME)	7
085	sorg. sulf. Terme Luigiane	Acquappesa (CS)	7
086	soffioni sulfidrici di Sasso P.	Castelnuovo V.d.C. (PI)	8
087	sorg. sulf. Terme Segestane	Castellammare d.G. (TP)	8
089	sorg. sulf. San Giovanni	Rapolano Terme (SI)	7
090	soffioni sulfidrici Lagoni Rossi	Pomarance (PI)	7
111	miniera di zolfo la Cavaccia	Tolfa (RM)	8
112	miniera di zolfo Cozzo-Disi	Casteltermini (AG)	8
132	miniera di zolfo Trabia	Sommolino (CL)	8
141	miniera di zolfo Gessolungo	Caltanissetta (CL)	7
142	soffione di Comitini	Comitini (AG)	8
165	sorg. sulf. Acque Albule	Tivoli (RM)	8

Tab. 1 — Provenienza e limiti di alotolleranza (espressi in concentrazioni % di NaCl) relativi a 20 ceppi dell'alga *Cyanidium caldarium forma A*.

Ceppo	Provenienza	Comune (Prov.)	Alotolleranza
002	<i>fumarole di Pisciarelli</i>	Pozzuoli (NA)	10
003	<i>sorgente sulfurea</i>	Sciacca (AG)	11
004	<i>sorg. sulf. Terme Segestane</i>	Castellammare d.G. (TP)	11
006	<i>sorgente sulfurea</i>	Acquasanta Terme (AP)	11
007	<i>sorg. sulf. San Giovanni</i>	Rapolano Terme (SI)	10
008	<i>sorg. sulf. Bagni San Filippo</i>	Castiglione d'O. (SI)	9
010	<i>sorg. sulf. Acque Albule</i>	Tivoli (RM)	10
011	<i>sorg. sulf. Sinuessa Terme</i>	Mondragone (CE)	12
012	<i>sorg. sulf. Buvette</i>	Telese (BN)	10
013	<i>sorg. sulf. Granata-Cassibile</i>	Alì Terme (ME)	11
014	<i>sorgente sulfurea</i>	Sclàfani Bagni (PA)	9
015	<i>sorg. sulf. Terme Luigiane</i>	Acquappesa (CS)	9
016	<i>sorg. sulf. Piscina delle Ninfe</i>	Cerchiara di C. (CS)	8
017	<i>sorg. sulf. Bagni Forlenza</i>	Contursi (SA)	10
018	<i>sorg. sulf. di Saturnia</i>	Manciano (GR)	10
063	<i>soffare di Comitini</i>	Comitini (AG)	9
064	<i>miniera di zolfo Ciavolotta</i>	Favara (AG)	10
065	<i>sorgente sulfurea</i>	Butera (CL)	7
066	<i>sorg. sulf. Ficoncella</i>	Civitavecchia (RM)	9
068	<i>fumarole di Montecito</i>	Casamicciola T. (NA)	10
069	<i>putizza la Caldara</i>	Roma (RM)	10
070	<i>putizze del vallone di Ansanto</i>	Rocca San Felice (AV)	10
071	<i>putizza di Monte Solforoso</i>	Sacrofano (RM)	9
072	<i>miniera di zolfo la Solfatara</i>	Urbino (PS)	10
075	<i>putizze di Cammarata</i>	San Giovanni G. (AG)	9
077	<i>miniera di zolfo Santa Domenica</i>	Melissa (CZ)	10
080	<i>miniera di zolfo Destricella</i>	Raddusa (CT)	10
101	<i>miniera di zolfo Baccarata</i>	Aidone (EN)	10
125	<i>putizza di Frattocchie</i>	Marino (RM)	11
126	<i>miniera le Aie di Formignano</i>	Cesena (FO)	10
153	<i>sorgente sulfurea</i>	Santa Cesàrea T. (LE)	10
162	<i>miniera di zolfo Còmero</i>	Stròngoli (CZ)	10
163	<i>miniera di zolfo Trabonella</i>	Caltanissetta (CL)	10
166	<i>lago solforico acido</i>	Manziana (RM)	11
174	<i>fumarole dell'isola Vulcano</i>	Lìpari (ME)	11
1355/1	<i>Yellowstone Park</i>	Wyoming (USA)	9

Tab. 2 — Provenienza e limiti di alotolleranza (espressi in concentrazioni % di NaCl) relativi a 36 ceppi dell'alga *Cyanidium caldarium* forma B.

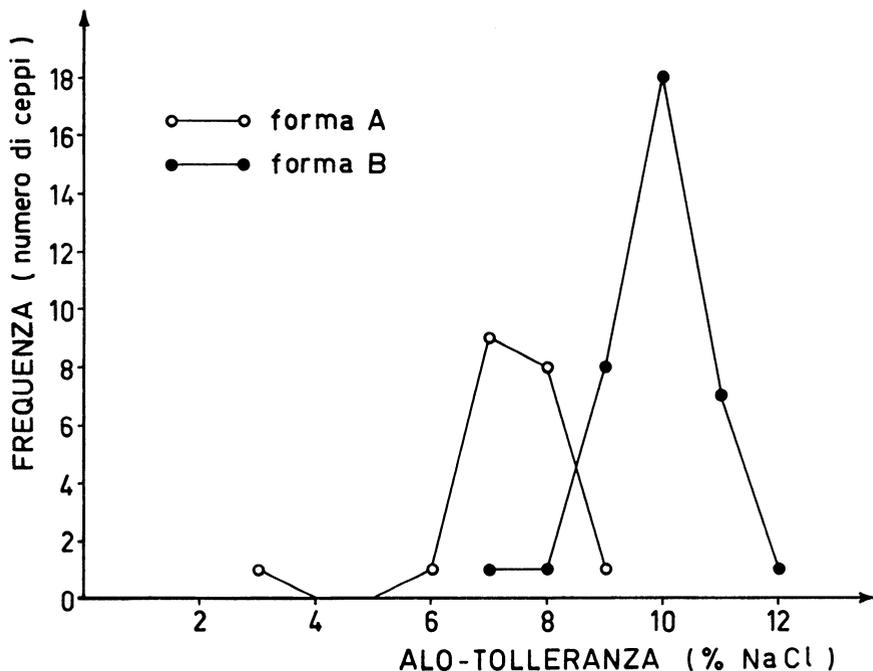


Fig. 1 — Distribuzione di frequenza del carattere « alo-tolleranza » (espresso come concentrazione % di NaCl) su 20 ceppi di *Cyanidium caldarium* forma A (o—o) e 36 ceppi di *C. caldarium* forma B (●—●).

#### CONCLUSIONI

I risultati del presente lavoro mostrano che i ceppi esaminati delle due forme di *Cyanidium caldarium* hanno in media un comportamento molto differente nei confronti dei limiti di alo-resistenza: la forma B è decisamente più resistente della forma A.

Tali risultati, insieme a quelli già ottenuti relativamente ad altri aspetti morfologici, ultrastrutturali, fisiologici e biochimici, offrono un altro elemento di distinzione tra le due alghe e sottolineano la necessità di una revisione sistematica di *Cyanidium caldarium*.

## SUMMARY

The Authors studied the salt-tolerance of 20 strains of *Cyanidium caldarium* forma A and 36 strains of *C. caldarium* forma B.

They found significant average differences between the two formae, of which forma B is more salt-tolerant than forma A.

The Authors suggest that salt-tolerance is a suitable taxonomic character, on the ground of KESSLER's works on *Chlorella*.

These results, together with other morphological, physiological, and biochemical differences, pointed out in earlier works, confirm the necessity of a systematic revision of *Cyanidium caldarium*.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLEN M. B., 1959. *Studies with Cyanidium caldarium an anomalously pigmented chlorophyte*. Arch. Mikrobiol., **32**: 270-277.
- BOENZI D., DE LUCA P., TADDEI R., 1977. *Fatty acids in « Cyanidium »*. Giorn. Bot. Ital., **111**: 129-134.
- CASTALDO R., 1970. *Ultrastruttura di due forme isolate dalle popolazioni di Cyanidium caldarium (Tilden) Geitler*. Delpinoa, **10-11**: 91-109.
- DE LUCA P., MORETTI A., MUSACCHIO A., TADDEI R., 1974. *Il primo reperto di Cyanidium caldarium (Acquasanta, Italia, 1839) e due distinte forme di quest'alga*. Delpinoa, **14-15**: 3-11.
- DE LUCA P., MORETTI A., TADDEI R., 1974. *Nuove stazioni di Cyanidium caldarium nell'Italia meridionale ed in Sicilia*. Delpinoa, **14-15**: 3-11.
- 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**: 78-89.
- —, 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.

- —, 1976. *On the necessity of a systematic revision of the thermal acidophilic alga Cyanidium caldarium (Tilden) Geitler*. *Webbia*, **30**: 197-218.
- KESSLER E., 1974. *Physiologische und biochemische Beiträge zur Taxonomie der Gattung Chlorella. IX. Salzresistenz als taxonomisches Merkmal*. *Arch. Microbiol.*, **100**: 51-56.
- PINTO G., TADDEI R., 1975. *Nuove stazioni italiane di Cyanidium caldarium*. *Delpinoa*, **14-15**: 125-139.
- SHIHIRA I., KRAUSS R. W., 1965. *Chlorella. Physiology and taxonomy of forty-one isolates*. University of Maryland: 1-97.