

Nota preliminare sulla comparsa di adattamento al mercurio in *Galdieria sulphuraria* (Galdieri) Merola (Cyanidiophyceae, Galdieriaceae)

GABRIELE PINTO, ANTONINO POLLIO, ROBERTO TADDEI

Dipartimento di Biologia Vegetale, Facoltà di Scienze,
Università di Napoli, Via Foria 223, 80139 Napoli, Italia.

Summary

The adaptation to lethal concentrations of mercury (HgCl_2) in *Galdieria sulphuraria* can be induced by non-toxic amounts (10^{-6}M) of this metal. The extent of the adaptation was time dependent; the highest resistance was induced by 4-8 hours of exposition to non toxic amounts of mercury. A longer incubation did not increase the resistance of the alga.

The Authors hypotize that the resistance to mercury in *Galdieria sulphuraria* could be determined by the presence of high concentrations of mercury in the natural habitats of this alga.

INTRODUZIONE

Ceppi di diverse specie algali che popolano ambienti ricchi in metalli pesanti presentano spesso un fenomeno di adattamento, inteso come maggiore tolleranza verso l'azione tossica di tali elementi rispetto a ceppi delle stesse specie viventi in ambienti poveri o privi di metalli pesanti (STOKES *et al.*, 1974; WHITTON & SAY, 1975; FISHER, 1981; FOSTER, 1982; FAVALI HEDAYAT *et al.*, 1987).

Per quel che riguarda le modalità di adattamento sono stati messi in evidenza due differenti meccanismi: la volatilizzazione del metallo (mercurio) determinata da enzimi prodotti dalle cellule (DE FILIPPIS & PALLAGHY, 1976); la produzione di complessi metallo-organici (cadmio) (HART & BERTRAM, 1980; GEKELER *et al.*, 1988). Poco si conosce sui meccanismi di adattamenti di tipo

induttivo. A tal fine abbiamo condotto un'indagine preliminare sull'adattamento al mercurio (HgCl_2) in *Galdieria sulphuraria*, alga unicellulare rivelatasi molto resistente all'azione dei metalli pesanti (ALBERTANO & PINTO, 1986).

MATERIALI E METODI

Per i nostri esperimenti abbiamo utilizzato l'alga unicellulare termofila e acidofila *Galdieria sulphuraria* (Galdieri) Merola, ceppo 1355/1 (sub *Cyanidium caldarium*) della Culture Collection of Algae and Protozoa di Cambridge, proveniente dallo Yellowstone Park.

Le colture di arricchimento e le prove sperimentali furono condotte su terreno di coltura liquido Allen modificato (ALBERTANO *et al.*, 1979). Alle colture algali in fase esponenziale fu aggiunta una soluzione acquosa di HgCl_2 in modo da ottenere una concentrazione finale di mercurio di 10^{-6}M . Tale concentrazione fu scelta in quanto assolutamente non tossica (ALBERTANO & PINTO, 1986). Le colture furono mantenute in queste condizioni per tempi diversi: 0 h, 1/2 h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 16 h. Al termine di queste incubazioni furono eseguite prove di inibizione a varie concentrazioni di Hg, ad intervalli di 0,1 unità di log a partire da 10^{-6}M fino a 10^{-4}M . Le prove furono eseguite in provette 14×141 mm. utilizzando le stesse tecniche già descritte da ALBERTANO *et al.* (1980). La scelta delle concentrazioni di Hg fu fatta sulla base di prove precedentemente svolte (ALBERTANO & PINTO, 1986). L'inoculum algale iniziale era pari a 0,03 unità di assorbanza. Le provette furono poi collocate su piano oscillante (SHIHIRA & KRAUSS, 1965), in ambiente termostato (37°C), illuminato con luce continua dal basso con lampade Philips TLD 30 W/55 ($390 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

La crescita delle alghe fu misurata con letture giornaliere, mediante un colorimetro Bausch & Lomb Spectronic 20 alla lunghezza d'onda di 550 nm, dopo aver aggiunto H_2O distillata fino al livello iniziale. Le prove sperimentali durarono 30 giorni, ovvero furono interrotte quando l'assorbanza superava il valore di 0,7. Le necessarie correzioni alle letture furono operate secondo la metodica per i campioni non omogenei di ALBERTANO *et al.*, (1980). Ciascun test fu ripetuto 3 volte. Lo scostamento dalla media non fu mai superiore al 4%.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I valori dell'inibizione, sia per le alghe incubate che per quelle non incubate, furono calcolati secondo la metodica descritta da PINTO & TADDEI (1986).

In Fig. 1 è riportata la concentrazione letale mediana (LC50) in funzione dei differenti tempi di incubazione delle alghe. Da tale figura si nota che le alghe non incubate (tempo = 0) presentano un LC50 intorno a $1,5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ di mercurio.

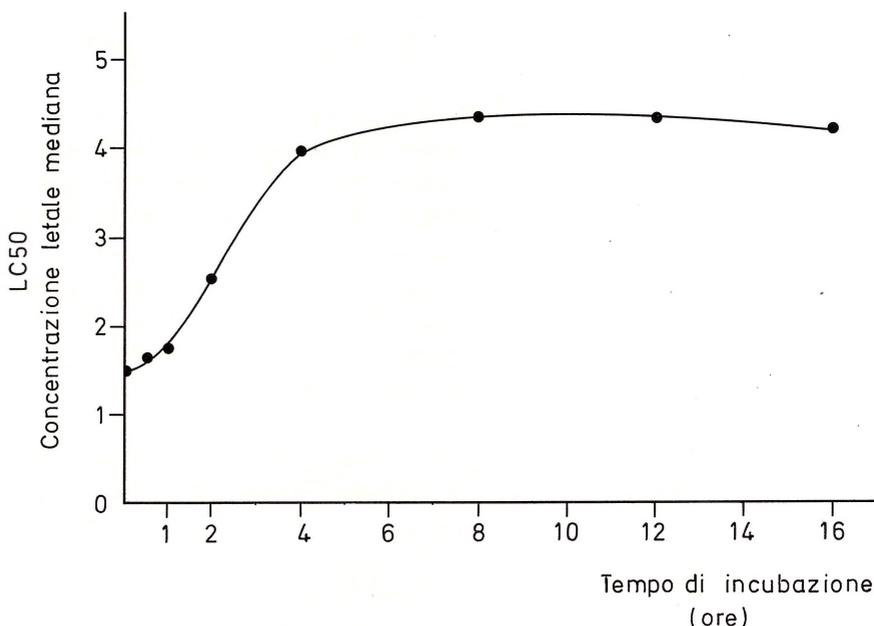


Fig. 1.- Colture di *G. sulphuraria* (ceppo 1355/1), proveniente dallo Yellowstone Park, furono incubate per tempi diversi in presenza di mercurio (HgCl_2) a concentrazioni non letali. Nella figura sono riportate le concentrazioni letali mediane (espresse in 10^{-5}M) in funzione del tempo di incubazione. L'alga presenta palesemente un adattamento al mercurio, che raggiunge il valore massimo dopo circa 4-8 ore. Dopo questo tempo la concentrazione letale mediana è circa 2,7 volte maggiore rispetto a quella delle alghe non incubate (tempo = 0).

Aumentando i tempi di incubazione (adattamento) i valori di LC50 tendono ad incrementarsi; tale incremento è massimo dopo 4-8 ore di incubazione. La resistenza al mercurio appare più che raddoppiata (2,7 volte) rispetto alle alghe non incubate.

Incubazioni più prolungate (16h) non determinano un ulteriore aumento degli LC50.

Test analoghi effettuati su un ceppo di *Cyanidium caldarium* Geitler, proveniente anch'esso dallo Yellowstone Park (DE LUCA *et al.*, 1979), hanno dimostrato che anche questa alga presenta fenomeni di adattamento al mercurio anche se di entità inferiore. In particolare il ceppo di *C. caldarium* esaminato, n. 139 (ALBERTANO & PINTO, 1986), ha presentato valori di LC50 pari a $5 \cdot 10^{-6} M$ di mercurio nelle alghe non adattate e un valore massimo di adattamento pari a $7 \cdot 10^{-6} M$.

Da tali risultati si può affermare che in *Galdieria sulphuraria* e, in misura minore, in *C. caldarium* esiste adattamento al mercurio, indotto dalla presenza del mercurio stesso. È possibile che tale adattamento sia conseguenza della colonizzazione da parte di queste alghe di particolari ambienti termali ed acidi, molti dei quali legati a fenomeni di vulcanesimo secondario (PINTO & TADDEI, 1977); in varie località italiane, in cui sono state rinvenute le alghe in questione, come si deduce dall'analisi del vapore delle bocche fumaroliche, il mercurio è presente in concentrazioni elevate e « tende a depositarsi (...) su qualsiasi corpo solido con il quale i fluidi vengono a contatto » (BRONDI *et al.*, 1986).

In particolare BROCK (1978) riporta per gli ambienti dello Yellowstone Park, in cui vive *C. caldarium* (alga che vive molto spesso associata con *G. sulphuraria*), dei valori della concentrazione di Hg pari a 0,40 mg/l ($10^{-5.7} M$), che sono prossimi a quelli da noi usati per indurre adattamento nelle alghe esaminate.

È possibile che tale adattamento, dato il tempo relativamente breve di incubazione necessario alle alghe, sia imputabile all'azione di enzimi inducibili.

RIASSUNTO

Gli autori hanno studiato l'adattamento al mercurio (HgCl_2) nell'alga unicellulare *Galdieria sulphuraria*. Le prove sperimentali hanno dimostrato che l'adattamento è induttivo; quantità non tossiche di mercurio (10^{-6}M) inducono nell'alga una maggiore resistenza allo stesso metallo. Aumentando il tempo di incubazione tale resistenza tende ad incrementarsi, raggiungendo il massimo dopo 4-8 ore; ulteriori prolungamenti del tempo di incubazione sono ininfluenti.

Gli autori ipotizzano che tale adattamento si sia determinato in *G. sulphuraria* come conseguenza della colonizzazione da parte di quest'alga di ambienti ricchi in mercurio.

BIBLIOGRAFIA

- ALBERTANO P., PINTO G., 1986. *The action of heavy metals on the growth of three acidophilic algae*. Boll. Soc. Natur. in Napoli, 95: 319-328.
- ALBERTANO P., PINTO G. and TADDEI R., 1979. *Evaluation of toxic effects of heavy metals to unicellular algae. I- The influence of inoculum concentration on the evaluation of toxicity*. Delpinoa, 20: 75-86.
- ALBERTANO P., PINTO G. and TADDEI R., 1980. *Evaluation of toxic effects of heavy metals on unicellular algae. II- Growth curves with different concentrations of heavy metals*. Delpinoa, 21: 23-34.
- BROCK T.D., 1978. *The genus Cyanidium*. In: *Thermophilic microorganisms and life at high temperatures* (Ed. M.P. Starr) Springer-Verlag New-York: 255-302.
- BRONDI M., DALL'AGLIO M. and GHIARA E., 1986. *Elementi in traccia di interesse geochimico e tossicologico nei fluidi termali e geotermici dei Campi Flegrei e di Larderello*. Acqua-Aria, 10: 1103-1111.
- DE FILIPPIS L.F. and PALLAGHY C.K., 1976. *The effect of sublethal concentrations of mercury and zinc on Chlorella. III Development and possible mechanisms of resistance to metals*. Z. Pflanzenphysiol., 79: 323-335.
- DE LUCA P., GAMBARDILLA R. and MEROLA A., 1979. *Thermoacidophilic algae of North and Central America*. Bot. Gaz., 140: 418-427.
- FAVALI HEDAYAT M.A., FERRARI G. and GARIBALDI L., 1987. *Effect of heavy metals and adaptation of the green algae Coccomyxa and Scenedesmus*. XIV International Congress of Botany. Berlin.
- FISHER N.S., 1981. *On the selection for heavy metal tolerance in diatoms from the Derwent estuary. Tasmania*. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 32: 555-561.
- FOSTER P.L., 1982. *Metal resistance of Chlorophyta from rivers polluted by heavy metals*. Freshwater Biol., 12 (1): 41-62.
- GEKELER W., GRILL E., WINNACKER E.L. and ZENK M.H., 1988. *Algae sequester heavy metals via synthesis of phytochelatin complexes*. Arch. Microbiol., 150: 197-202.

- HART B.A. and BERTRAM P.E., 1980. *A cadmium binding protein in a cadmium tolerant strain of Chlorella pyrenoidosa*. Environ. and Exp. Bot., 20: 175-180.
- PINTO G. and TADDEI R., 1977. *Le alghe delle acque e dei suoli acidi italiani*. Delpinoa, 18-19: 77-106.
- PINTO G. and TADDEI R., 1986. *Evaluation of toxic effects of heavy metals on unicellular algae. VI — Analysis of the inhibition manifesting itself with an increased lag phase*. Boll. Soc. Natur. Napoli, 95: 303-316.
- SHIHIRA I. and KRAUSS R.W., 1965. *Chlorella. Physiology and taxonomy of forty-one isolates*. University of Maryland, 1-97.
- STOKES P.M., HUTCHINSON T.C. and KRAUTER K., 1974. *Heavy metal tolerance in algae isolated from contaminated lakes near Sudbury, Ontario*. Can. J. Bot., 51 (11): 2155-2168.
- WHITTON B.A. and SAY P.J., 1975. *Heavy metals*. In: *River Ecology* (Ed. B.A. Whitton), Blackwell Scientific Publications. Oxford: 304-305.