

## POBLACIONES NATURALES Y CULTIVO DE CIANOBACTERIAS MARINAS DIAZOTROFICAS DEL LITORAL DEL PACIFICO PERUANO

HAYDEE MONTOYA T.<sup>1,2</sup>  
MARIO BENAVENTE P.<sup>2</sup>  
CARLA AGUILAR S.<sup>3</sup>

Laboratorio de Botánica, Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas.<sup>1</sup>  
Laboratorio de Simbiosis Vegetal, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Museo de Historia Natural.<sup>2</sup>  
Centro de Investigación para el Desarrollo de la Acuicultura, AQUAC.<sup>3</sup>

### RESUMEN

La distribución de las cianobacterias heterocistadas en las orillas rocosas está relacionada principalmente con el ciclo del carbono y nitrógeno del ecosistema marino. El muestreo de comunidades algales como matas cianobacteriales (epilíticas y epifíticas) en zonas intermareales e supramareales fueron realizados irregularmente a lo largo del litoral del Pacífico entre playa El Dorado (9° 10' LS) y Puerto Ilo (17° 39' LS). El aislamiento y cultivo de las cianobacterias marinas diazotróficas *Calothrix crustacea* Thuret y *C. scopulorum* Agardh (Rivulariaceae) se realizó usando el medio f/2. La variabilidad morfológica entre las diferentes cepas de *C. crustacea* con diversos estados vegetativos (ecomorfos) y reproductivos evidenciaron su alta plasticidad fenotípica. La sucesión estacional de la cepa de Chala de *C. crustacea* en laboratorio evidenció su mejor crecimiento entre mediados de invierno y fines de primavera de 1992 (agosto - noviembre) con un rango de temperatura entre 17 y 27°C. Interacciones de *C. crustacea* con especies asociadas como *C. scopulorum* Agardh y *Lyngbya lutea* (Ag.) Gom. permite comprender la dinámica poblacional de las comunidades algales a lo largo del litoral marino. Las especies estudiadas son nuevos registros para la flora marina peruana.

**Palabras Claves:** cianobacteria, comunidad epilítica, cultivo, heterocisto.

### SUMMARY

Natural Populations and Culture of Marine Diazotrophic Cyanobacteria from Peruvian Pacific Litoral.

Distribution of diazotrophic cyanobacteria with heterocystous forms characteristic of rocky shores is related mainly with the cycling of carbon and nitrogen in the marine ecosystem. Sampling of cyanobacterial mat communities (epilithic, epiphytic) at the intertidal and supratidal zones were carried out irregularly along the Pacific littoral between El Dorado beach (9°10' S) and Ilo Harbor (17° 39' S). Isolation and culture of the marine cyanobacteria Rivulariaceae: *Calothrix crustacea* Thuret and *C. scopulorum* Agardh were using f/2 medium. Morphological variability between the different strains of *C. crustacea* with several vegetative (ecomorphs) and reproductive stages evidenced its high phenotypic plasticity. Seasonal succession of *C. crustacea* strain of Chala beach evidenced the best growth during mid winter and late spring in 1992 (august-november) within a temperature range between 17 and 27°C in laboratory. Interactions with associated species such as *C. scopulorum* and *Lyngbya lutea* (Ag.) Gom. let us begin to understand the population dynamics of algal communities along the marine littoral. The studied species are new records for Peruvian marine flora.

**Key Words:** cyanobacteria, epilithic community, culture, heterocyst.

\*Trabajo de investigación presentado parcialmente en el XV Simposio Internacional de Algas Marinas realizado en enero de 1995 en la Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

## INTRODUCCION

El ecosistema marino de orilla rocosa contiene frecuentemente una variedad de hábitats que sirven de sustrato para organismos de las diferentes comunidades biológicas. La región intermareal es un ambiente dinámico y turbulento que experimenta fluctuaciones frecuentes. Los patrones de zonación en las orillas rocosas intermareales son particularmente notables. Esta zonación se presenta en todo el litoral marino del mundo y los límites entre los diferentes organismos son frecuentemente más bien imprecisos y uniformes que permite concluir que hay una relación causal directa entre los límites y el nivel del agua en determinados estados de las mareas (DRING, 1982; LUBCHENCO, 1980; LITTLE & KITCHING, 1996).

Las cianobacterias (cianofitas, algas azul verdes) tienen una historia marina muy antigua y presentan una considerable diversidad y abundancia en los hábitats marinos. Las matas cianobacteriales son el principal componente de algunos hábitats inter y submareales, así como los hipersalinos marinos (GOLUBIC, 1976; VINCENT et al. 1993). Las cianobacterias están notablemente bien adaptadas al ambiente marino y deben resistir amplias variaciones en la composición química del agua y la acción casi constante de las mareas. De ésta forma han evolucionado para convertirse en integrantes del ecosistema intermareal donde cada especie algal ocupa una distribución vertical característica y un tipo de microhábitat en la orilla rocosa.

Las cianobacterias heterocistadas, fijadoras de nitrógeno (diazotróficas) son típicas de las orillas rocosas y predominan entre las algas del litoral. La fijación de nitrógeno por algunas de sus especies ha sido demostrada por STEPHENSON & STEPHENSON (1949), STEWART (1965) y GALLON & CHAPLIN (1988). Algunas ventajas selectivas para la dominancia de éste grupo representan una estrategia alternativa de particular relevancia para comprender la ecología cianobacterial (WHITTON, 1992).

El presente trabajo está relacionado con las cianobacterias marinas

heterocistadas *Calothrix crustacea* Thuret y *C. scopulorum* Agardh (Rivulariaceae) con la finalidad de describirlas con énfasis en su forma de crecimiento y reproducción de poblaciones naturales y en cultivo unialgales de laboratorio. Además caracterizar la estructura y ecología de sus comunidades cianobacteriales epifíticas y epifíticas.

## MATERIAL Y METODOS

Las orillas rocosas son comunes a lo largo del litoral costero del territorio peruano. Colecciones irregulares de las comunidades algales en zonas inter y supramareales fueron realizadas entre la playa El Dorado (9° 10' LS) y Puerto Ilo (17° 39' LS) entre 1983 y 1994.

La obtención de secciones de matas cianobacteriales del sustrato, así como porciones de rocas con comunidades algales fueron extraídas. Registros de temperatura (termómetro de -10°C a 110°C) y salinidad (salinómetro A.O.T/C) fueron realizados durante las colecciones. Para estimular el crecimiento de determinadas especies y mantener las matas algales vivas con su integridad estructural, las muestras fueron transportadas en su propia de mar. El aislamiento y cultivo de las cianobacterias marinas fueron realizadas usando el medio f/2, con salinidad de 35 o/oo y pH 7 (GUILLARD, 1975). Se realizaron inoculaciones estándar de las poblaciones algales y las técnicas de cultivo fueron aplicadas en medio líquido y en placas (agar 1.5%). Los cultivos fueron mantenidos en condiciones de laboratorio con un rango de temperatura de 17-31°C con iluminación natural. La evaluación biométrica en las diferentes cepas fueron realizadas mediante observación microscópica y la identificación de especies mediante consulta con bibliografía especializada.

## RESULTADOS

### AREA DE ESTUDIO

Las orillas rocosas a lo largo del litoral peruano proporcionan una variedad de microhábitats con una diversidad de

organismos como las cianobacterias. Las estaciones de muestreo fueron de sur a norte, en el departamento de Moquegua: Puerto de Ilo ( $17^{\circ} 39' \text{ LS}$ ,  $71^{\circ} 22' \text{ LO}$ ); departamento de Arequipa: playa de Chala ( $15^{\circ} 51' \text{ LS}$ ,  $74^{\circ} 15' \text{ LO}$ ); departamento de Ica: Mendieta ( $14^{\circ} 01' \text{ LS}$ ,  $76^{\circ} 15' \text{ LO}$ ) y Lagunilla ( $13^{\circ} 53' \text{ LS}$ ,  $76^{\circ} 18' \text{ LO}$ ) en la Bahía de Paracas; departamento de Lima: playa Ancón ( $11^{\circ} 46' \text{ LS}$ ,  $77^{\circ} 12' \text{ LO}$ ) y departamento de Ancash: playa El Dorado ( $9^{\circ} 10' \text{ LS}$ ,  $78^{\circ} 32' \text{ LO}$ ).

Comunidades epilíticas y epifitas en las zonas inter y supramareal constituidas por matas cianobacteriales están expuestas a grandes variaciones por el grado de alteraciones (acción de oleaje) y estrés (deseccación, efecto termal) que ocurren dentro de áreas relativamente pequeñas. Las cianobacterias usualmente cubren las rocas así como las fisuras y grietas como una capa o película continua ó como parches aislados de tal forma que las rocas frecuentemente tienen apariencia negruzca por éstas capas algales encrustantes. En baja marea, las zonas inter y supramareales son separadas del océano, permaneciendo agua de mar aislada en pozas de marea. En éstos hábitats efímeros del litoral rocoso donde el nivel de agua disminuye gradualmente, las comunidades de cianobacterias pueden llegar ocasionalmente a secarse. Fig. 1 y 2.

## DESCRIPCION DE ESPECIES

Las descripciones de las especies diazotróficas incluyen datos de las poblaciones naturales y de clones aislados en cultivo de laboratorio. La amplia distribución de poblaciones epilíticas de *C. crustacea* en la mayoría de estaciones muestreadas es reportada como comunidades algales florecientes (Figs. 5-8).

### *Calothrix crustacea* Thuret

Las cepas de Chala, Ilo, El Dorado y Ancón han sido reconocidas muy estrechamente por sus características similares. El talo se presenta fasciculado, como penachos agregados, crustoso, azul verde, verde amarillento o pardo oscuro, de

textura gelatinosa o más bien coriácea cuando se seca.

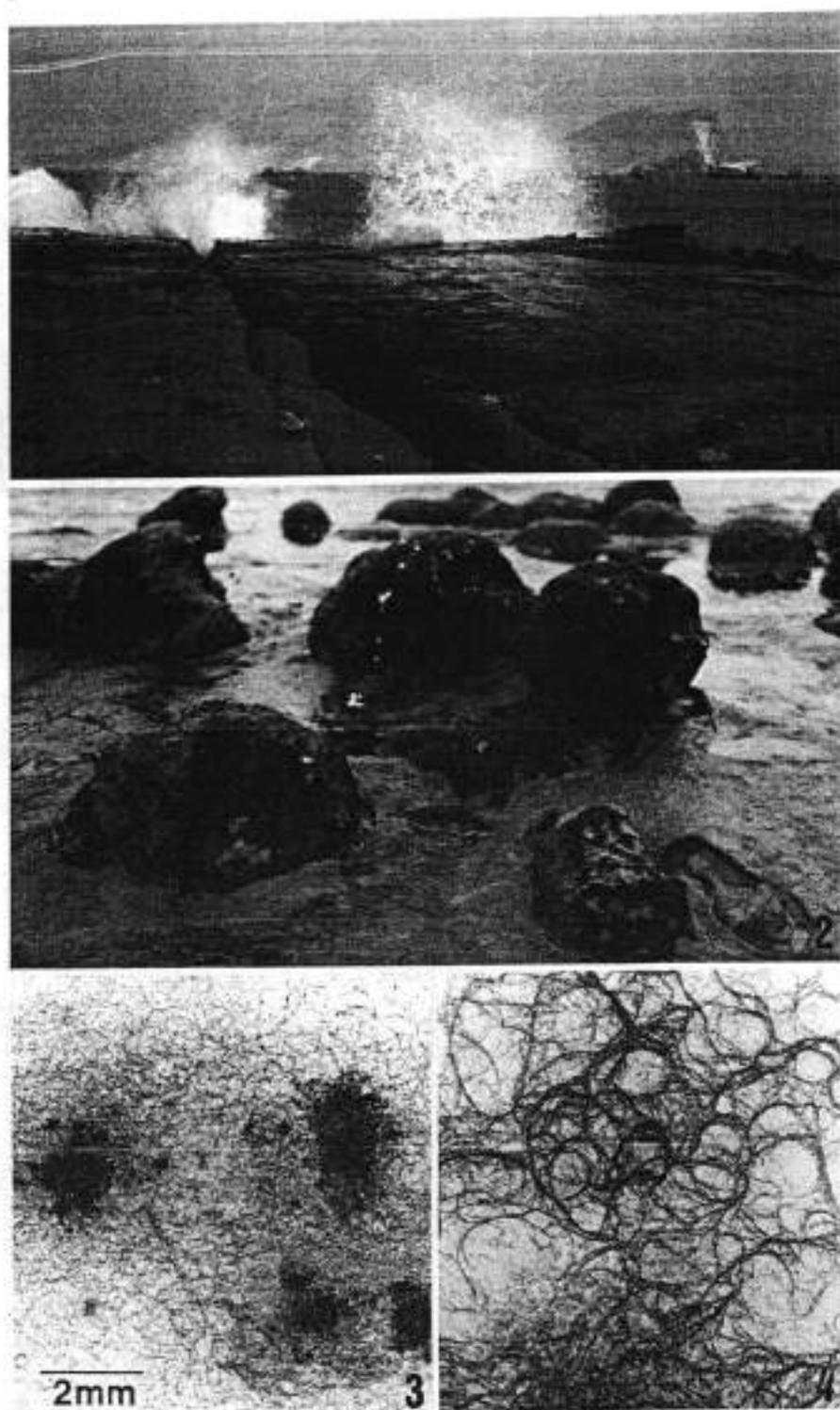
Filamentos ondulados cortos o largos, de disposición paralela como densos fascículos o laxamente juntos y entrelazados. Distribución paralela de los tricomas heterocistados basalmente curvados que proyectan su extremo distal atenuado hacia la superficie de la mata algal. La ramificación falsa unilateral puede ser continuada en sucesivas ramificaciones. La porción basal de filamentos de 10.5 - 21  $\mu\text{m}$  de diámetro con gradual atenuación hacia el ápice con diámetro de 7.5 - 9.6  $\mu\text{m}$ . Filamentos anchos hasta 27  $\mu\text{m}$  de diámetro, con divisiones oblicuas que originan hormogonios. Los filamentos con tricomas espiralados pueden dividirse en varios segmentos formando agregados densos de hormogonios que posteriormente se liberan. La célula del extremo del hormogonio es diferenciada eventualmente en un heterocisto basal. Los hormogonios fueron también diferenciados de la parte terminal de los tricomas y su liberación involucró la formación de célula necridial o disco bicóncavo. Células discoidales constrictas o ligeramente constrictas. Diámetro celular en la base de los tricomas de 6.6 a 14.6  $\mu\text{m}$ , células intermedias de 4 a 9  $\mu\text{m}$  de diámetro y 1.3 a 4  $\mu\text{m}$  de longitud. Célula apical redondeada, hemisférica, cónica o algo aguda, azul verde o pálida, de 5.3 a 14.6  $\mu\text{m}$  de diámetro y 3.3 a 8.6  $\mu\text{m}$  de longitud. Estuche gelatinoso, estratificado paralelamente, incoloro, pardo oscuro o pardo amarillento, de 0.9 a 4  $\mu\text{m}$  de espesor. Generalmente se presenta un heterocisto basal, hemisférico, verde amarillento o amarillo pálido. Heterocisto intercalar ovoide, aislado o por pares, de 5.3 a 14.6  $\mu\text{m}$  de diámetro y 3.3 a 8.6  $\mu\text{m}$  de longitud.

Varios estados de desarrollo del filamento con formas morfológicamente más complejas se presentaron en cultivos de *C. crustacea* formando talos densos azul verdes similares a almohadillados con textura aterciopelada. También la formación de asa aislada en tricomas o vueltas muy pronunciadas, con ramificación inicial unilateral o con ramas en pares fueron frecuentes. Las ramificaciones falsas unilaterales consecutivas proporcionan

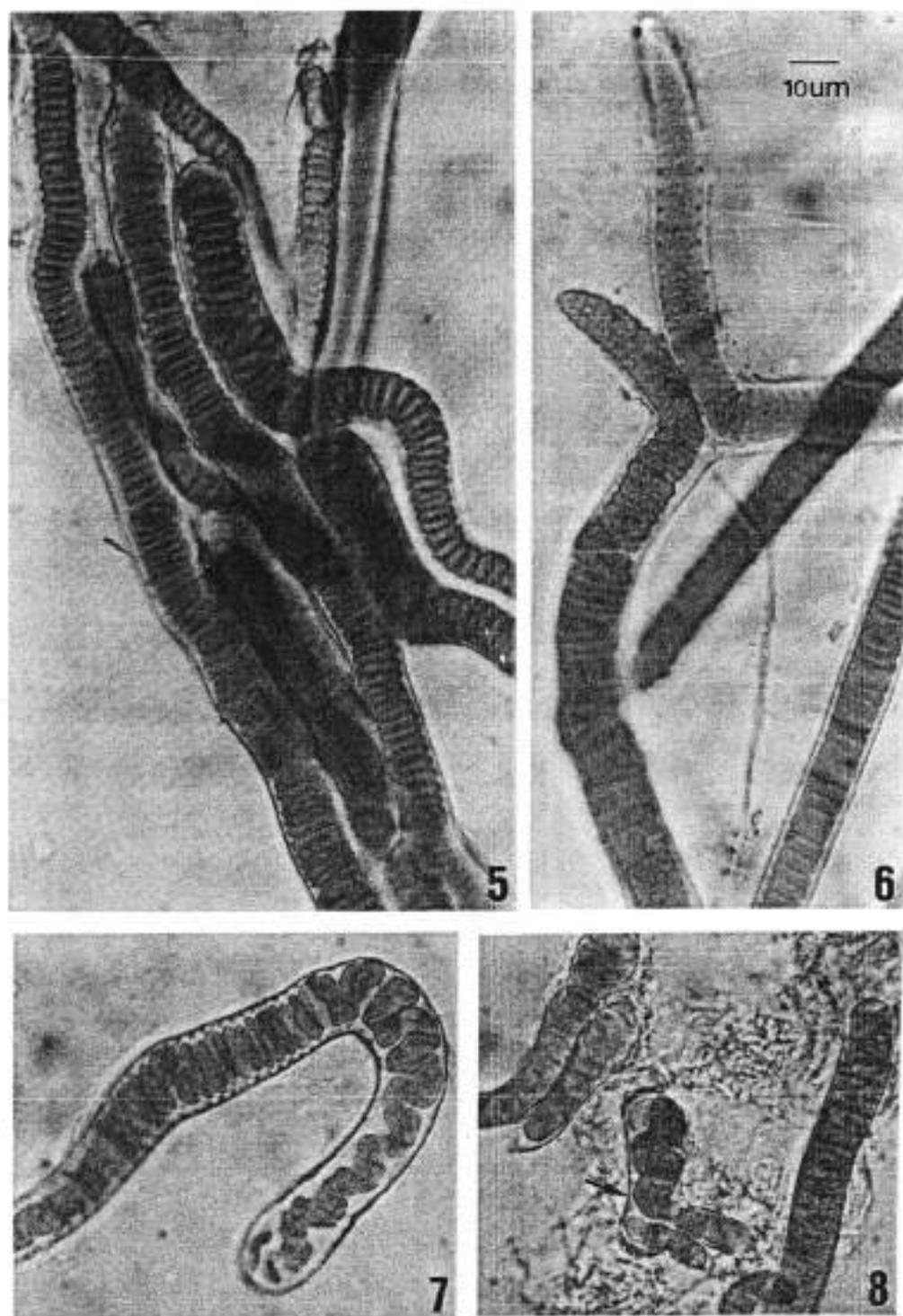
densos penachos de tricomas. Algunas veces desarrollan ramas a nivel de los heterocistos. En cultivos líquidos forman filamentos agregados similares a motas o protuberancias verdes. Tricomas espiralados rodeados por un estuche definido. Filamentos gruesos de expansión radial, con células adultas pálidas, vacuoladas (cultivo de 8 meses). Filamentos largos atenuados con secciones ensanchadas por la distensión del estuche con agregados de tricomas creciendo curvados y atenuados (cultivo de 2 meses). Células basales con notorio estuche estratificado. Hormogonios frecuentes en los extremos apicales de los filamentos, algunos hormogonios libres rodeados de estuche (encapsulados). En algunos casos los hormogonios son limitados por heterocistos terminales. En verano (fines de enero y febrero) los hormocistos (estados latentes) fueron formados por el encistamiento de hormogonios móviles que migraron al separarse del filamento principal. En cultivos de 1.5 meses, los hormocistos germinaron por fisión y protusión de las células de tricomas de ambos extremos de los hormocistos multicelulares dejando el estuche vacío, posteriormente cada filamento joven elongado crece más allá del estuche grueso del hormocisto (Fig. 8). Agregados de hormogonios curvados liberados de filamentos hinchados (cultivos de 5 meses) en primavera (mediados de octubre) fueron rodeados por estuche grueso semejanado a hormocistos. Similares hormocistos fueron reconocidos en verano (febrero) en cultivo líquido de 9 meses en filamentos con numerosos heterocistos. Cultivos viejos en placa (9 meses) casi secos (condición de

deseccación en laboratorio) exhibieron filamentos espiralados e irregulares con estuche grueso lamelado y células muertas. *C. crustacea* estuvo asociada con *C. scopulorum*, *Pleurocapsa* sp., *Oscillatoria* sp. y diatomeas pennadas en el estado inicial de su aislamiento.

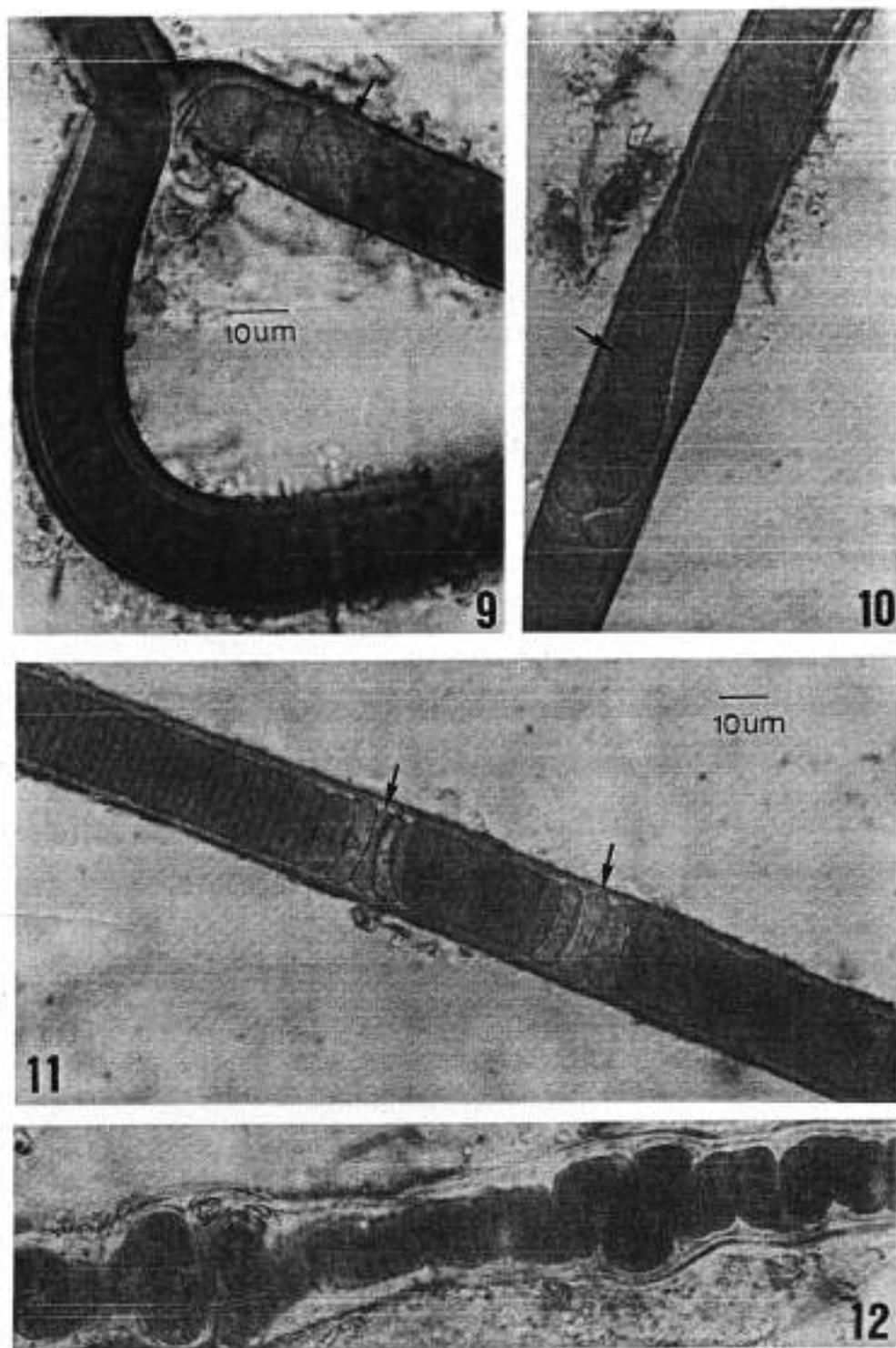
Las cepas relativamente grandes de *C. crustacea* de las playas de Mendieta y Lagunilla en la Bahía de Paracas formadas por matas cohesivas compuestas de densos filamentos coalescentes y entrelazados firmemente llegan a formar costras laminares pardo oscuras principalmente en pozas de marea en Lagunilla (Figs.9-12). La proliferación de células algales en filamentos en crecimiento mostraron tricomas azul verdosos. Filamentos largos, ligeramente atenuados, de 17 a 29.3  $\mu\text{m}$  de diámetro con notorio estuche estratificado, pardo amarillento o pardo oscuro. Filamentos con ramas falsas unilaterales o ramas pares (Fig. 9). Diámetro celular de 13.3 a 25.3  $\mu\text{m}$  y 2 a 5.3  $\mu\text{m}$  de longitud. Algunos tricomas maduros que llevan de 1 a 3 heterocistos basales en diferentes estados de desarrollo e intercalares en serie hasta 6, demostraron el incremento en diámetro celular durante el curso del desarrollo sucesivo del heterocisto (Figs.9,11). Formación frecuente de hormogonios heterocistados (1 - 4) o aheterocistados rodeados por estuche parental estratificado (Fig. 10). Heterocistos de 12 a 22.6  $\mu\text{m}$  de diámetro y 4 - 10.6  $\mu\text{m}$  longitud. En cultivos líquidos, el crecimiento algal evidenció tricomas azul verdes y espiralados formando hormogonios y estuche lamelado e incoloro (Fig. 12).



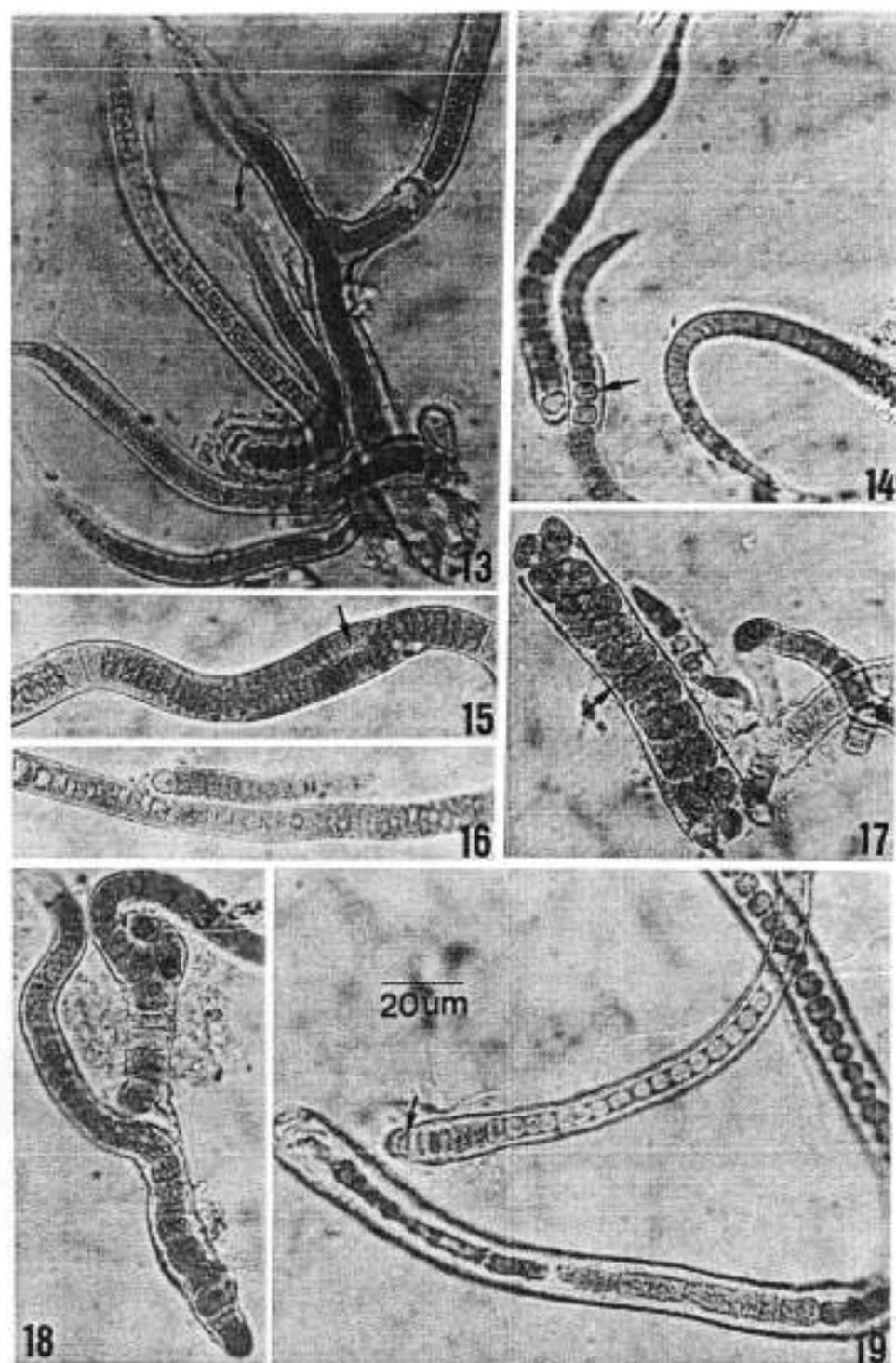
**Figura 1** Planicie supramareal en playa Mendieta, Bahía de Paracas con matas cianobacteriales perennes dominada por *Calothrix crustacea* Thuret periódicamente humedecidas por las olas rompientes en invierno. **Figura 2** Comunidades epilíticas negruzcas de *C. crustacea* en rocas aisladas y pozas de marea de zona supramareal de playa Mendieta, en invierno. **Figura 3** Filamentos de *C. crustacea* (azul verdes) asociado con los de *C. scopulorum* Agardh (parduscos) durante el proceso de aislamiento de las cepas cianobacteriales de playa Chala, en cultivos de 3 meses. **Figura 4** Filamentos de *C. crustacea* (cepa de Chala) de cultivos unalgales en placa de 5.5 meses. Escala en Figura 3 válida para Figuras 3-4.



**Figuras 5-8.** *Calothrix crustacea* Thuret, cepa de Chala, **Figura 5** Filamentos elongados con algunos tricomas atenuados. Células vegetativas discoidales y heterocistos basales de cultivos en placa de 5.5 meses; **Figura 6** Ramas falsas en pares de filamentos en cultivos líquidos de 9 meses. **Figura 7** Tricomas espiralados rodeados de un estuche definido y grueso de cultivos en placa de 8.5 meses. **Figura 8** Germinación de hormocistos y liberación de hormogonios (flecha) de cultivos en placa de 1.5 meses. Escala en Figura 6 válida para Figuras. 5-8.



**Figura 9** *Calothrix crustacea* Thuret, cepa de Lagunilla. Rama falsa con heterocistos basales seriados (flecha) de poblaciones naturales. **Figuras 10-12.** *C. crustacea* cepa de Mendieta. **Figura 10** Formación de hormogonio heterocistado (flecha) dentro del estuche estratificado en poblaciones naturales. **Figura 11** Filamento con frecuentes cadenas de heterocistos intercalares (flechas) en poblaciones naturales. **Figura 12** Diferenciación del filamento en porciones hinchadas con tricomas espiralados y subsecuente formación de hormogonios agregados rodeados de estuche estratificado e incoloro en cultivos líquidos de 5.5 meses. Escala en Figura 11 válida para Figuras. 10-12.



Figs. 13-19. *Calothrix scopulorum* Agardh, cepa de Chala (cultivos en placa). **Figura 13** Filamentos elongados atenuados con formación de ramas unilaterales y estuche mucilaginoso definido (flecha) en cultivo de 3.5 meses. **Figura 14** Filamentos atenuados con pelo largo y heterocistos basal e intercalares (flecha) en cultivos de 2 meses. **Figura 15** Células de filamento heterocistado con divisiones periclinales (flecha) en cultivos de 2 meses. **Figura 16** Desprendimiento de filamento heterocistado de talo parental (células vacuoladas) en cultivo de 2 meses. **Figura 17** Tricomas espiralados (flecha) rodeados de un estuche grueso y desarrollo de hormogonios en cultivos de 2 meses. **Figura 18** Filamentos con ramas unilaterales consecutivas en cultivo de 4 meses. **Figura 19** Filamentos con estuche definido, heterocisto basal reducido (flecha) y forma celular variable, en cultivo de 6.5 meses. Escala en Figura 19 válido para Figuras 13-19.

*Calothrix scopulorum* Agardh

Esta especie forma matas almohadilladas parduscas con filamentos elongados, curvados, largos o cortos, gradualmente atenuados de la base al ápice. El diámetro basal de los filamentos es de 7.3 - 13.3  $\mu\text{m}$ . Heterocistos basal e intercalares de 4 a 9.3  $\mu\text{m}$  de diámetro y de 3 a 8  $\mu\text{m}$  de longitud (Figs. 14-16). Ramificación falsa unilateral algunas veces con la formación de una asa previamente. Tricomas espiralados dentro de un estuche firme, de 12 a 17.3  $\mu\text{m}$  de diámetro (Fig. 17). Los tricomas escasamente atenuados dentro de un estuche pardo amarillento ó pardo verdusco, estratificado y grueso, de hasta 4.6  $\mu\text{m}$ . Células basales e intermedias discoidales de 3 a 10.6  $\mu\text{m}$  de diámetro y de 1 a 6.6  $\mu\text{m}$  de longitud. Células apicales alargadas, cónicas y vacuoladas, alcanzando de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro y 1.5 - 4.6  $\mu\text{m}$  de longitud. (Figs. 13-19).

La porción terminal del tricoma puede metamorfosearse en un pelo largo demostrando la típica polaridad de la especie. El pelo presenta algunas células vacuoladas de 1 a 2.6  $\mu\text{m}$  de diámetro, rodeadas de un estuche lamelado amplio e incoloro. La fragmentación intercelular del tricoma en pequeñas porciones origina hormogónios heterocistados. El crecimiento y elongación de los hormogónios conduce eventualmente a la diferenciación de los tricomas de igual diámetro en los cuales los heterocistos son predominantemente intercalares. En cultivos de 6.5 meses, las células se presentan en forma de barril y con un estuche firme y grueso. (Fig. 19). Estas observaciones morfológicas fueron hechas en cultivo de cepas de *C. scopulorum* de Chala y Lagunilla.

#### COMUNIDADES DE CIANOBACTERIAS HETEROCISTADAS

La colonización de las orillas rocosas fue notoriamente conspicua con predominancia de cianofitas heterocistadas con *Calothrix crustacea* como especie dominante en comunidades ínter y supramareales.

La cepa de *C. crustacea* de playa Mendieta fue muestreada de hábitats

heterogéneos en abril 23, 83; junio 12, 88 y julio 17, 93. Esta especie coloniza y florece formando una capa crustacea gruesa y continua, negruzca o pardo oscura sobre el sustrato rocoso en una planicie supramareal de aproximadamente 5 m de altura de la orilla. Densas matas de *C. crustacea* dominan el área cercana al borde de la planicie y se mantienen periódica y constantemente húmedas durante las mareas altas. Este nivel no es continuamente alcanzando por la marea, de tal forma que *C. crustacea* y especies asociadas, capaces de vivir por encima del nivel más alto de la marea, algunas veces quedan completamente sumergidas por el agua de mar. La comunidad dominante de *C. crustacea* mantiene su matrix algal perene, húmeda y fría por las olas rompientes. La salpicadura de las olas también eleva el nivel del agua por encima de la altura mareal estimada. Por consiguiente, el tiempo de emersión de *C. crustacea* es reducido en la planicie supramareal de playa Mendieta. Las poblaciones de ésta especie disminuyen conforme la distancia a la orilla aumenta. Además, piedras y rocas aisladas que permanecen en la superficie de la planicie sirven de sustrato a comunidades encrustantes de *C. crustacea*. Las salpicaduras también originan pozas de mareas temporales colonizadas por películas ó capas mucilaginosas de *C. crustacea*. Aunque ésta especie proporciona la estructura básica a la comunidad algal, especies asociadas como *Pleurocapsa* sp. y diatomeas pennadas fueron también componentes importantes. En las pozas de marea *C. crustacea* se presentó distribuida en parches dentro de la matrix algal pardo amarillenta o pardo verdosa con burbujas de oxígeno atrapadas y una capa azul verde en el interior de la matrix. Cuando la marea baja *C. crustacea* forma comunidades expuestas aéreas y subaéreas. Por consiguiente, en Mendieta el principal componente estructural de la mata algal fue *C. crustacea* dominante localmente y bien adaptada a resistir la desecación a la cual se encuentra constantemente expuesta. Además, ésta extensa comunidad de *C. crustacea* es rara en otros lugares a lo largo de nuestro litoral (Figs. 1,2).

La cepa de *C. crustacea* de la playa de Lagunilla colectada en julio 17, 93 y octubre 22, 94 formó matas membranosas lámeladas, verde oscura, verde pardusca ó amarillo parduscas, asociada con *Lyngbya aestuarii* y *Pleurocapsa* sp. en pozas temporales supramareales. Las comunidades epilíticas sumergidas llegan a secarse y los talos crustáceos y coriáceos formados se quebran durante los períodos de desecación cubriéndose con sal que los hace casi irreconocibles siendo transportados ocasionalmente por el viento. La gradual desecación de las pozas de marea origina un incremento en salinidad desde 35 a 85 ‰ (NaCl) quedando los talos expuestos a estrés salino. A fines de octubre, la temperatura del agua en las pozas fue de 31°C a las 2 p.m. mientras que el agua de mar estuvo a 17°C simultáneamente.

La cepa de *C. crustacea* colectada en la playa de Chala en octubre 7, 91 y mayo 1, 92, formó talo saxícola, membranoso y crustáceo, azul verde oscuro o pardo negruzco colonizando las zonas inter y supramareales. En rocas de rompientes se le observó epífita sobre el talo de *Pleurocapsa* sp. y epilítica formando costra oscura o verde negruzca colonizando una plataforma de concreto o rompeolas. *C. crustacea* en zonas intermareales coexiste con las macroalgas *Lessonia nigrescens* (Phaeophyta) y *Ulva costata* (Chlorophyta).

La cepa de *C. crustacea* de la playa El Dorado fue colectada en octubre 29, 92, la de playa de Ancón en abril 17, 92 y la del puerto de Ilo en noviembre 1, 91, ellas formaron costras saxícolas verdes oscuras o parduscas en zonas inter y supramareal del litoral rocoso.

La cepa de *C. scopulorum* de playa Chala fue colectada en octubre 7, 91 y la de Lagunilla en julio 17, 93 como talos crustáceos o membranosos, pardo oscuros de las zonas inter y supramareal.

#### CULTIVO Y SUCESION DE CIANOBACTERIAS

Las matas algales fueron removidas del sustrato rocoso en Chala e inmediatamente se realizó la inoculación de los tricomas de *C. crustacea* en primavera (octubre 7, 91) en medio líquido. El primer

crecimiento algal estuvo dado por la cianobacteria filamentosas y delgada *Oscillatoria* sp. quien floreció durante 4 meses a mediados de primavera y verano (noviembre 91 - marzo 92) con un rango de temperatura entre 24 - 31°C. Esta especie formó una mata laminar cohesiva azul verde que llegó a decaer con el tiempo cuando se transformó en matas blanquecinas por la muerte de sus tricomas.

La sucesión algal en cultivo con la colonización temporal de *Oscillatoria* sp. de Chala fue evidente. Esta especie floreció a mediados de primavera y verano y fue capaz solamente de resistir un rango de temperatura limitado (24 - 31°C) bajo limitación de nutrientes (cultivos viejos de 5 meses). Después de 6 meses (fines de abril, 92) de la inoculación de *C. crustacea* fue detectado su crecimiento inicial como puntos verdosos sobre las matas blanquecinas que constituyen el sustrato algal muerto de *Oscillatoria* sp. Transferencias de *C. crustacea* realizadas en junio 92 (temperatura 22°C) permitió su aislamiento de las especies asociadas. Debido al primer período de adaptación de *C. crustacea* en medio líquido donde floreció *Oscillatoria* sp., su crecimiento en placas (junio 92) fue evidente durante 2 meses (lento crecimiento). Diferentes estados vegetativos y reproductivos fueron reconocidos cuando floreció por 6 meses durante invierno y primavera (junio-diciembre 92) dentro de un rango de temperatura de 17-27°C observándose algunos de sus tricomas muertos en diciembre. Por consiguiente, el mejor crecimiento de *C. crustacea* fue observado entre agosto a noviembre, 92 (17-27°C).

*C. scopulorum* fue una de las principales especies asociadas de *C. crustacea* que creció en el primer plaqueo en julio 92. Esta especie fue claramente distinguible por su color pardusco comparado con la coloración verde azulada de *C. crustacea* (Fig.3) Esta coexistencia fue mantenida por algunos meses (4) después del cual *C. scopulorum* empezó a decaer a mediados de primavera (noviembre 92).

La inoculación en placa de la cepa *C. crustacea* de otra estación de Chala relativamente cercana a la anterior fue realizada en otoño (mayo 4, 92). Debido a

la variedad de crecimiento de otras algas filamentosas, réplicas fueron realizadas a fines de otoño (junio 11, 92). El mejor desarrollo correspondió a la cianobacteria filamentosas *Lyngbya lutea* seguida por *C. crustacea*. La demora en la colonización de la placa por *C. crustacea* evidenció su lento crecimiento comparado con *L. lutea* quien creció y dominó por aproximadamente 2.5 meses en invierno (junio-agosto,92) dentro de un rango de temperatura de 17 - 25° C e iniciándose la decadencia de sus filamentos (setiembre,92) luego de su florecimiento. *C. crustacea* que estuvo latente desde su inoculación empezó a crecer en agosto permaneciendo dominante de setiembre a diciembre (19 - 27°C). Fig. 4. Esta especie sobrevivió durante la estación de verano (fines de diciembre 92 - marzo 93). No obstante, en febrero, 93 se reconoció algunos filamentos muertos y en marzo (27 - 31° C) filamentos pálidos fueron comunes y los verdosos llegaron a ser raros. Por consiguiente, hubo una definida sucesión algal en cultivo por 9 meses donde *Lyngbya lutea*, especie asociada de *C. crustacea*, alcanzó su máximo crecimiento a inicios y mediados de invierno (junio-agosto 92). Sin embargo, *C. crustacea* consiguió proliferar desde fines de invierno a fines de primavera (setiembre - diciembre 92) después de 3 meses de adaptación.

## DISCUSION

Las cianobacterias son altamente exitosas en diferentes ambientes, generalmente predominan en las comunidades epilíticas marinas. Sin embargo, la excesiva alteración en las costas rocosas previenen su colonización y restringen su desarrollo en orillas rocosas expuestas al oleaje. Las especies residentes están morfológica y fisiológicamente equipadas para enfrentar grandes cambios en las condiciones ambientales. Las especies que no fueron adecuadamente adheridas a las rocas pueden ser barridas por el surgimiento o leve incremento de la acción de la marea, a veces no detectable. Este hecho puede explicar la baja diversidad de especies en las comunidades epilíticas cianobacteriales comparada con la mayoría de otras poblaciones algales no

alteradas sugiriendo que el ambiente rocoso es relativamente hostil para muchos taxa (MOORE, 1974). En la zona supramareal, los límites superiores para la mayoría de especies han sido hallados ser mayores en los lugares más expuestos como en las playas de Mendieta y Lagunilla. En Mendieta, *C. crustacea* es la especie local dominante considerando que es más bien rara en otras estaciones de muestreo. Las matas de *C. crustacea* en Mendieta constituyen microhabitats importantes dentro de la planicie del litoral y alcanzan su mayor abundancia natural en las zonas supramareales bajo condiciones fluctuantes.

La diversidad morfológica y ecológica de las cianobacterias esta relacionada con la colonización de diferentes hábitats marinos. Las especies estudiadas que crecen adheridas a superficies rocosas son morfológicamente más complejas y están relacionadas con ambientes especializados como las zonas inter y supramareales. Tricomas múltiples y espiralados incluidos por un estuche firme común en cultivos de *C. crustacea* y *C. scopulorum* demostraron un efecto de aglomeración de tricomas que crecieron rápidamente, siendo similares a los reportados para las cianobacterias *Dichothrix*, *Polythrix* y *C. desertica* (RIPPKA et al., 1979).

Muchas cianofitas filamentosas experimentan cambios morfológicos cuando están sujetas a la desecación y limitación de nutrientes como la disminución de nitrógeno, fósforo y fierro. La frecuencia de heterocistos en un tricoma puede reflejar no solamente los niveles de nitrógeno en el tricoma sino también sus niveles de molibdeno, calcio y fierro. Este último es elemento importante en el funcionamiento de la nitrogenasa (KIRKBY & WHITTON 1976, WHITTON, 1992). Entre las cepas de cianobacterias diazotróficas aisladas, la más importante fijadora de nitrógeno en las playas de Mendieta, Lagunilla y Chala fue *C. crustacea* quien exhibe considerable diversidad en su morfología, distribución y frecuencia de heterocistos. Las cepas de Mendieta y Lagunilla desarrollaron heterocistos extras, en posiciones basales e intercalares, aislados o en cadenas hasta

seis. Por consiguiente, es probable que éstas cepas hallan desarrollado estrategias con respecto a la fijación de nitrógeno y algunas ventajas selectivas para su dominancia como diazotrofos perennes.

Las cepas de *Calothrix* exhiben varias categorías de un solo carácter que evidencian su variabilidad genética. La extensión de desarrollo de los pelos en tricomas de *Calothrix* pueden variar considerablemente. Los pelos no están presentes en todos los estados de crecimiento siendo más bien liberados cuando se forman y desarrollan los hormogonios independientemente. La deficiencia de nutrientes (fosfato y hierro) y los medios de cultivo de baja salinidad producen el desarrollo de pelos en *C. viguieri* Fremy, sin embargo ésta especie no desarrolla pelos en un medio completo (WHITTON et al., 1973; MAHASHNEH et al., 1990). También, el desarrollo del pelo es reducido o suprimido completamente bajo condiciones subaéreas de campo y de laboratorio (DARLEY 1968). La presencia del pelo también fue observada en cultivos de las cepas de *C. scopulorum* de Chala y Lagunilla. La coexistencia de *C. crustacea* y *C. scopulorum* en cultivos en placa evidenció una serie de formas de crecimiento. *C. scopulorum* caracterizada por sus tricomas atenuados y pelos incoloros en presencia de abastecimiento de nitrógeno combinado, sugiere que la formación del pelo está relacionado con su potencial genético comparado con otras cepas heterocistadas las cuales producen pelos en medios exentos de nitrógeno combinado y pierden completamente la polaridad del tricoma en medios completos. (SINCLAIR & WHITTON 1977).

Entre los tipos de células especializadas de las cianobacterias, los hormocistos están compuestos de una hilera corta de células altamente granuladas y completamente rodeadas por un estuche común condensado como en *Westiella lanosa* (FOGG et al., 1973). La germinación del hormocisto de *Scytonema javanicum* (Kütz.) Bernet ha sido reportado por ALLSOPP (1968). Cultivos viejos (placas) de *C. crustacea* en verano pueden ser comparados con la desecación natural y su adaptación a altas temperaturas de verano (20) 27 - 31° C puede ser atribuida

al desarrollo de estados latentes como los hormocistos.

Las cianobacterias heterocistadas estudiadas adheridas al sustrato rocoso tienen estuches gruesos producidos por las células del tricoma que ayudan a la adhesión de la mata algal al sustrato. Además, la pigmentación del estuche puede ayudar a disminuir la intensa radiación solar que alcanza a las células. Así, en poblaciones naturales las células algales más activas se hallan dentro de la mata algal que en la superficie (FOGG et al., 1973). La scytonemina es un pigmento cianobacterial amarillo pardusco presente en los estuches extracelulares de algunas especies que florecen en hábitats expuestos a intensa radiación solar y está considerado como un pigmento protector de la radiación ultravioleta (DILLON & CASTENHOLZ 1999). En poblaciones naturales aéreas expuestas de *C. crustacea* de Mendieta y Lagunilla, la scytonemina se presenta predominante en los estuches de las partes más externas o capas superiores de las matas y costras cianobacteriales como ha sido reportado para *C. crustacea* de Baja California Sur, México (GARCIA-PICHEL & CASTENHOLZ 1991). Según ABELIOVICH & SHILO (1972), la protección del síndrome fotooxidativo producido por la luz brillante (blaqueado de pigmentos, daño en fotosíntesis y muerte celular) por pigmentos protectores debe ser de valor especial para las especies que enfrentan largos períodos de exposición es decir de especies sujetas a períodos de desecación intermitentes como se presenta en el supramareal. KIRKBY & WHITTON (1976) también reportaron el desarrollo de pigmentación pardusca en el estuche como una respuesta a la deficiencia de nutrientes (hierro, magnesio). La pigmentación del estuche exhibida por poblaciones naturales de *C. crustacea* fue perdida en condiciones de cultivo en el laboratorio. Por consiguiente, la plasticidad fenotípica de ésta especie en respuesta a cambios en condiciones ambientales fue evidente como se ha reportado para otras algas por PEARSON & KINGSBURY (1966).

Las cianobacterias son frecuentemente abundantes en la zona supramareal de las orillas del mar porque ellas compiten satisfactoriamente con otros

organismos fotosintéticos en ambientes estresados por limitaciones en el abastecimiento de agua. Las matas laminares cohesivas de *C. crustacea* en Mendieta son perennes, algunas veces aéreas, expuestas en hábitats donde ocasionalmente experimentan desecación. En condiciones adversas el talo de *C. crustacea* empieza a secarse, aunque su estuche grueso y mucilaginoso ayuda a reducir la pérdida de agua como en otras especies algales (BONEY 1981). Sin embargo, los talos pueden llegar a desprenderse de la zona supramareal en verano como resultado de la desecación y efecto del viento. El estrés por la desecación es reducido notablemente con el incremento de la marea y la salpicadura producida por rompimiento de las olas modera el efecto adverso de emersión como la baja velocidad metabólica de las algas secas que puede incrementarse dentro de unas pocas horas cuando los talos se vuelven a humedecer (FOGG et al., 1973).

La dominancia de una especie en una comunidad algal ha sido atribuido a deficiencia de nutrientes que puede conducir a una competición exclusiva entre las especies algales como fue demostrado por LANGE (1974) cuando *Phormidium foveolarum* causó la disminución de concentración de hierro y de trazas de metales en el medio de cultivo a niveles muy bajos para el normal crecimiento de otras especies cianobacteriales como *Nostoc muscorum* y *Microcystis aeruginosa*. La deficiencia de nutrientes (cultivos viejos) causada por *Oscillatoria sp.* (Chalá) hasta niveles insuficientes para mantener su crecimiento sostenido condujo a su exclusión y a la colonización de sus matas muertas (sustrato) por *C. crustacea* (sucesión cianobacterial). Además, la estación de crecimiento de cultivos de *Oscillatoria sp.* fue restringida sólo a unos pocos meses del año (noviembre-marzo). La fuente de nitratos parecen ser el factor principal limitante del crecimiento de algas (MOORE 1974). El aspecto clave del cultivo de *Calothrix* está en el crecimiento bajo limitación de fosfatos a niveles no mayores de 1 mg/l (B.A. WHITTON comunicación personal). Este hecho puede explicar el crecimiento sucesional de *C. crustacea* bajo limitación de nutrientes

luego del florecimiento de *Oscillatoria sp.* En forma similar, la disminución y posterior exclusión de *C. scopulorum* coexistiendo inicialmente en cultivos con *C. crustacea* aparentemente fueron causadas por un abastecimiento insuficiente de ciertos nutrientes, rango de tolerancia a la temperatura ó aleloquímicos.

Aunque el cultivo de algas epilíticas de comunidades complejas en medio definido bajo condiciones controladas de laboratorio representa una gran simplificación de las condiciones naturales, la interacción de especies puede conducir a una mejor comprensión de la dinámica poblacional en las orillas rocosas marinas

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Abeliovich, A. y M. Shilo,** 1972. Photooxydative death in blue green algae. *Bacteriol.* 111: 682-689.
2. **Allsopp, A.,** 1968. Germination of hormocysts of *Scytonema javanicum* and the function of blue green algal heterocysts. *Nature.* London. 220: 810.
3. **Boney, A .D.** 1981. Mucilage: the ubiquitous algal attribute. *Br. phycol. J.* 16: 115-132.
4. **Darley, J.,** 1968. Contribution a l'étude systématique et biologique des Rivulariacées marines. *Botaniste.* I - VI. serie LI: 141-210.
5. **Dillon, J.G. y R. W.Castenholz.** 1999. Scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment, protects against uv radiation: implications for early photosynthetic life. *J. Phycol.* 35, (4) :673-681.
6. **Dring, M.J.,** 1982. *The Biology of marine plants.* E. Arnold Ltd. p.199.
7. **Fogg, G.E., W.D. Stewart, P. Fay y A.E. Walsby,** 1973. *The blue green algae.* Academic Press Int. London. p. 298-310.
8. **Gallon, J.R. y A.E.Chaplin,** 1988. Nitrogen fixation. In L.J.Rogers & J.R.Gallon (eds.). *Biochemistry of the Algae and Cyanobacteria.* Clarendon Press. Oxford. p. 147-173.
9. **García-Pichel, F. y R.W. Castenholz,** 1991. Characterization and biological implications of scytonemin, a

- cyanobacterial sheath pigment. *J. Phycol.* 27: 395-409.
10. **Golubic, S.**, 1976. Organism that build stromatolites. In M.R. Walter (ed.), *Stromatolites*. Elsevier Scientific, Amsterdam. 113-126.
  11. **Guillard, R.L.**, 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In W.L. Smith & M.H. Chanley (eds.), *Culture of marine invertebrates animals*. Plenum Press, New York. 29-60.
  12. **Kirkby, S.M.** y **B.A. Whitton**, 1976. Uses of coded data in study of *Calothrix* and *Rivularia*. *Br. Phycol. J.* 11: 407-416.
  13. **Lange, W.**, 1974. Competitive exclusion among three planktonic blue-green algal species. *J. Phycol.* 10 (4): 411-414.
  14. **Little, C.** y **J.A. Kitching**, 1996. *The Biology of Rocky Shores*. Oxford University Press, U.K. p.150.
  15. **Lubchenco, J.**, 1980. Algal zonation in the New England rocky intertidal community: an experimental analysis. *Ecology*, 6 (2): 333-344.
  16. **Mahasneh, I.A., S.L. Grainger y B.A. Whitton**, 1990. Influence of salinity on hair formation and phosphatase activities of the blue green alga (cyanobacterium) *Calothrix viguieri* D253. *Br. Phycol. J.* 25: 24-32.
  17. **Moore, J.W.**, 1974. Benthic algae of Southern Baffin Island. III Epilithic and epilithic communities. *J. Phycol.* 10 (4): 456-462.
  18. **Pearson, J.E.** y **J.M. Kingsbury**, 1966. Culturally induced variation in four morphologically diverse blue green algae. *Am. J. Bot.* 53:192-200.
  19. **Rippka, R., J. Deruelles, J.B. Waterbury, M. Herdman y R. Y. Stainer**, 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microbiology*, 111: 1-61.
  20. **Sinclair, C.** y **B.A. Whitton**, 1977. Influence of nutrient deficiency on hair formation in the Rivulariaceae. *Br. Phycol. J.* 12:297-313.
  21. **Stephenson, T.A.** y **A. Stephenson**, 1949. The universal features of zonation between tidemarks on rocky coasts. *J. Ecol.* 37: 289-305.
  22. **Stewart, W.D.P.**, 1965. Nitrogen turnover in marine and brackish habitats. I. Nitrogen fixation. *Am. Bot.* 20: 229-239.
  23. **Vincent, W.F., R.W. Castenholz, M.T. Downes y C. Howard-Williams**, 1993. Antarctic cyanobacteria: light, nutrients and photosynthesis in the microbial mat environment. *J. Phycol.* 29: 745-755.
  24. **Whitton, B.A., S.M. Kirkby, A. Peat y C. Sinclair**, 1973. Environmental effects on the morphology of Rivulariaceae trichomes. In *Abstracts of Symposium on Prokaryotic photosynthetic organisms*. Freiburg, Br. Germany, 19-23.
  25. **Whitton, B.A.**, 1992. Diversity, ecology and taxonomy of the Cyanobacteria. In N.H. Mann & N.G. Carr (eds.), *Photosynthetic Prokaryotes*. Plenum Press, New York. 1-51.