

Aportaciones al conocimiento de la multiplicación vegetativa de las Diatomeas

por

STEN WIEDLING (1)

(Södertälje, Suecia)

Uno de los problemas más importantes de la investigación en las Diatomeas es, indudablemente, el de su reproducción.

Después de las primeras investigaciones algo indecisas, de tanteo, de los autores más antiguos, aparecieron en el año 1869, casi simultáneos, dos trabajos básicos, correspondientes a Mac Donal y Pfitzer, respectivamente, los cuales llevaron la cuestión de la reproducción sexual de las Diatomeas, en su relación morfológica, a una conclusión determinada, y muy particularmente después de otros trabajos de Pfitzer (1871), ha sido generalmente aceptada, y recogida en los Tratados de Botánica, la teoría de Mac Donal-Pfitzer.

Los fundamentos citológicos de las conclusiones de Pfitzer sólo se lograron después de una serie de investigaciones *individuales*, sobre todo en los últimos decenios, alcanzando la teoría su consagración con el trabajo de Geitler (1932), que abarcó en su totalidad el problema de la reproducción de las Diatomeas, constituyendo una síntesis de todas las investigaciones realizadas con anterioridad y las suyas propias, muy eficaces. El proceso general de la reproducción—en especial la sexual—de las Diatomeas pennadas, se nos presenta desde entonces, *grosso modo*,

(1) Atendiendo al ruego del Prof. Sten Wiedling se publica este trabajo en ANALES DEL JARDÍN BOTÁNICO DE MADRID, traducido del alemán por la señorita Fr. Caballero, Ayudante del Laboratorio de Ficología.

con toda claridad, aunque, como es natural, todavía se requieran muchas aportaciones para rellenar los huecos aún existentes y para aclarar cuestiones todavía oscuras.

En este trabajo se ataca una cuestión no del todo completamente aclarada: la de la manera de comportarse y, en especial, el cambio de tamaño de las Diatomeas pennadas en su reproducción asexual. Parece conveniente exponer aquí un breve resumen del problema:

El *cambio de forma* de las Diatomeas a juzgar por el actual estado de los conocimientos, según Geitler (pág. 174), se verifica del siguiente modo:

Empieza el ciclo del proceso con la auxospora, continúa con las divisiones vegetativas, con disminución de tamaño de las células y termina con la formación, *afectada sexualmente*, de las células madres de las auxosporas. En la germinación de éstas se restablece el primitivo tamaño de las células.

Si ahora nos limitamos a las Diatomeas más conocidas (bilaterales), que, como sabemos, son diplontes, vemos que en su ciclo vital se presenta una fase diploide larga (divisiones vegetativas), que se interrumpe por una fase haploide corta (formación de los gametos), para pasar, después de la copulación de éstos, nuevamente a la diplofase, y así sucesivamente.

La *duración* de la diplofase está condicionada, según Geitler (y también según Mac Donal-Pfitzer), principalmente por la disminución gradual de las células durante las divisiones vegetativas. Debido a las divisiones sucesivas—y esto constituye el postulado de todas las investigaciones—se hacen las células cada vez «menores», como consecuencia de su envoltura silícea rígida, acabando, al fin, tan pequeñas, que degeneran y mueren. Sin embargo, antes de alcanzar este tamaño mínimo se forma la auxospora; pero ésta sólo puede ser formada por células de un determinado tamaño (Geitler). Por otra parte, el «punto cardinal» para que se verifique la haplofase (formación de gametos) depende del tamaño de las células y no puede diferirse caprichosamente (Geitler). Este esquema, que corresponde al ciclo «normal» del desarrollo, fué seguido *plein d'effet* por Geitler en sus cultivos.

Sin embargo, otros autores han observado que la diplofase no transcurre en determinados casos según el anterior esquema y,

muy particularmente, que las divisiones vegetativas continuas no siempre ocasionan la disminución del tamaño de la célula. De este modo no se alcanzaría el tamaño necesario para la formación de gametos, ni se llegarían a formar las auxosporas.

En 1910, indicaban Allen y Nelson, que mantenían en cultivo puro *Nitzschia closterium* (Ehr.) W. Sm. f. *minutissima*, que en el transcurso de dos años no se observó disminución alguna en el tamaño de los individuos ni cualesquiera otros fenómenos que permitieran presagiar la formación de auxosporas. La forma aislada por los citados autores sigue todavía cultivándose en el Marine Laboratory de Plymouth y conserva su tamaño después de unos treinta años, al parecer sin formación de auxosporas (Wilson, 1946).

Geitler (1932), da noticias de sus ensayos con estirpes de *Eunotia pectinalis* var. *minor* (Kutz.) Rabh., mantenidas en cultivo durante unos ocho meses (febrero-octubre). Durante este tiempo no advirtió disminución alguna del tamaño medio de las formas cultivadas, y puesto que no se produjo la disminución del tamaño de los individuos hasta el necesario para el desencadenamiento del proceso sexual, tampoco se formaron las células madres de las auxosporas, multiplicándose de modo puramente vegetativo tales individuos y quedando en ellos suprimida la haplofase.

Wiedling (1943 b, 1944), mantuvo numerosos cultivos de especies de *Nitzschia* y observó, entre otras, en dos formas una gran constancia en el tamaño durante un largo período de cultivo. Más adelante se hablará detalladamente de estos ensayos.

Si prescindimos por completo de la experimentación con los cultivos puros, que nos ofrecen la ventaja de la exactitud, pero el inconveniente de las condiciones artificiales del medio, se advierte claramente el hecho de que en la naturaleza se observa relativamente raras veces la formación de auxosporas en las Diatomeas pennadas. También es curioso que la copulación sólo haya sido descrita en un número relativamente limitado de géneros. Muchas, incluso la mayor parte, y entre ellas formas que se presentan en masa, por ejemplo, *Synedra*, apenas si han sido sorprendidas o, a lo sumo raras veces, durante la formación de auxosporas.

En ocasiones se ha observado el desarrollo en masa de Diatomeas en la naturaleza. Según una comunicación inédita de Kol-

be, pudo éste observar un desarrollo en masa de *Gomphonema olivaceum* (Lyngbye) Kütz., en el lago Stechlin (Marca de Brandenburgo), durante un período vegetativo completo. Tal desarrollo se verificó al principio con rapidez explosiva y todos los objetos sumergidos en un gran trecho de la orilla se cubrieron con densas capas del *Gomphonema*; ésta fué cediendo después el espacio a otras algas, aunque las frústulas de aquélla perduraron durante el verano. En el transcurso de todo el período vegetativo pudieron observarse, ciertamente, algunas parejas en copulación, pero en tan escaso número que, casi con seguridad, fueron incapaces de garantizar la conservación de una mitad de la población del *Gomphonema*. El tamaño de los individuos de esta población permaneció constante durante todo el período de desarrollo, dentro de ligeras oscilaciones. Otro ejemplo se refiere (Kolbe, in litt.) al desarrollo en masa de tres especies, en condiciones naturales constantes, especialmente favorables (manantial salino de temperatura constante): *Navicula peregrina* (Ehr.) Kütz, *Surirella ovalis* Bréb. y *Caloneis amphisbaena* (Bory) Cleve. También en éstas se mantuvo constante el tamaño medio durante el período de observación (dos años), sin que pudiera advertirse ni una sola formación de auxospora.

Sin embargo de que Nipkow (1927) demostró que en algunas Diatomeas planctónicas la diplofase (más claro: el período con reproducción esencialmente vegetativa) puede durar incluso muchos años sin que se observe la formación de auxosporas en cantidades grandes, no por eso deja de ser chocante la «rareza» del proceso sexual de tales plantas.

Todo lo en resumen anteriormente manifestado, demuestra la necesidad de nuevas investigaciones respecto del problema de la reproducción vegetativa de las Diatomeas, muy especialmente en relación con la disminución del tamaño de estas plantas en la diplofase. Estos dos procesos se encuentran—como antes se ha indicado—según Geitler, en relación causal.

Para estudiar este complejo realicé detallados ensayos de cultivo, en los años 1934-1940, con ciertas especies de *Nitzschia*.

El estímulo para la realización de los ensayos aquí descritos lo recibí del profesor Herald Kylin, jefe en aquella época del Laboratorio Botánico de la Universidad de Lund, donde se realizaron

los ensayos y donde se me proporcionaron local y medios de trabajo. Su amable acogida, que me permitió trabajar en este Instituto, de tan rancia tradición en el terreno algológico, su ayuda y su constante interés en mis trabajos, hacen acreedor al profesor Kylin de mis gracias más cordiales.

El doctor R. W. Kolbe, de Estocolmo, puso a mi disposición un valioso material, todavía inédito, que resultó de gran interés para las cuestiones aquí tratadas. Por todo esto, así como también por los valiosos consejos para la conclusión de mi manuscrito, quedo sinceramente reconocido al doctor Kolbe.

Lista de las formas cultivadas y ensayadas

1. *Nitzschia ovalis* Arnott forma.—Del río Kävlinge, en Håstad, Örtofta: una estirpe.
2. *Nitzschia subtilis* var. *paleacea* Grun.—Del río Kävlinge, en Getinge: dos estirpes.
3. *Nitzschia palea* W. Sm.—Del «estanque de los Salix», en el Jardín Botánico de Lund: una estirpe.
4. *Nitzschia palea* var. *debilis* (Kütz.) Grun.—a) De un arroyo que vierte en el río Sävle, por encima de Gamlestaden, Göteborg: una estirpe.
 b) Del río Kävlinge, en Håstad: cinco estirpes.
 c) Del «estanque de los Salix», en el Jardín Botánico de Lund: una estirpe.
 d) Del lago Vattern, en la Vättersnäs: una estirpe.
5. *Nitzschia palea* var. *tropica?* Grun.—Del río Göta, en Gamlestaden, Göteborg: una estirpe.
6. *Nitzschia Kützingiana* Hilse.—Del río Kävlinge, en Håstad: dos estirpes.
7. *Nitzschia Kützingiana* var. *exilis* Grun, con la f. *multiplex* A. Cl.—a) Del río Kävlinge, en Håstad: una estirpe.
 b) Öresund (bahía de Lomma), en Bjärred: tres estirpes.
 c) De Brännö (isla en Göteborg): una estirpe.
8. *Nitzschia communis* Rabh.—a) De Öresund, en Bjärred: una estirpe.
 b) De Öresund, al Oeste de Malmö: tres estirpes.
 c) río Kävlinge, en Håstad: una estirpe.

El material original para mis experimentos de cultivo fué recolectado durante las excursiones y viajes en Suecia meridional, en el año 1934. En la recolección de las estirpes se utilizó en unos casos una red de mano, y en otros fué cogido directamente de las plantas o del fondo, de distintas aguas. Las especies se encontraron cuando se cogía plankton:

N. ovalis Arnott (río Kävlinge), *N. subtilis* var. *paleacea* Grun.

(ibidem), *N. palea* var. *debilis* (Kg.) Grun. (ibidem; Vätter), *N. palea* var. *tropica?* Grun. (río Göta), *N. Kützingiana* Hilse (río Kävlinge), *N. Kützingiana* var. *exilis* Grun. (Brännö), *N. communis* Rabh. (río Kävlinge).

Los epifitos y en el limo del fondo, fueron:

N. subtilis var. *paleacea* Grun. (río Kävlinge), *N. palea* W. Sm. (en el estanque de los *Salix*, en el Jardín Bot. de Lund), *N. palea* var. *debilis* Grun. (río Säve; río Kävlinge; estanque de los *Salix*, Lund), *N. Kützingiana* var. *exilis* [Öresund (Bjärred)], *N. communis* Rabh. [Öresund (Bjärred, y al oeste de Malmö)].

De todo esto se deduce que se han estudiado estirpes de agua dulce, salobre y salada.

En *Wiedling* (1941, b), se encuentran otros datos acerca de las formas cultivadas.

Aislamiento y condiciones de cultivo

Las Diatomeas fueron aisladas por los métodos corrientes, por ejemplo, los indicados por Küster (1913) y Pringsheim (1924, 1946) y cultivadas en placas de agar esterilizadas en cápsulas Petri, en cultivo en estria. Como la mayor parte de las formas ensayadas eran \pm insensibles a ligeras variaciones del contenido en sal común del medio de cultivo, se nos ofreció un procedimiento cómodo para eliminar las bacterias de los cultivos en estria, por siembra sobre un agar con un contenido incrementado en sal. El método fué utilizado para algunas especies de agua dulce, así como también para formas de aguas salobres.

Pureza de los cultivos.—En el aislamiento de las diferentes razas se procuró la mayor eliminación posible de las bacterias; en muchos casos se consiguió, incluso, una eliminación absoluta de esas, demostrada por medio de los métodos usuales en Bacteriología para comprobar la esterilización (siembra en caldo, etc.). De todos modos, resulta extremadamente difícil mantener durante años completamente libres de bacterias un gran número de cultivos, sobre todo en cápsulas Petri.

En los casos relativamente escasos en que los cultivos fueron *invadidos* por determinadas bacterias, murieron Las Diatomeas. La causa de esta muerte puede deberse a la formación por los invasores de sustancias antibióticas, perjudiciales a los organismos cultivados, así como también a la variación del pH en el sentido de

la acidez y a la lucha entre las dos clases de organismos por las sustancias nutritivas, muy diluidas en el cultivo.

En conjunto, no se observaron efectos perjudiciales que pudieran influir en los resultados de los ensayos por causa de las bacterias, en relación con el desarrollo de las Diatomeas, fenómeno también observado por Geitler (1932). En tanto que el desarrollo de las bacterias se mantuvo dentro de límites moderados y no se trató de bacterias específicamente nocivas, la presencia de éstas en los cultivos careció de importancia.

Las bacterias en cantidad, aunque no sean mortales ni inhiban el desarrollo, pudieran en todo caso tener importancia desde el punto de vista nutritivofisiológico o ejercer influencia respecto de las divisiones celulares. En ciertas bacterias se conocen acciones de esta naturaleza. Cuando existe en los cultivos de bacterias una sustancia antibiótica o antibacterial en concentración todavía no mortal, puede ocurrir que no se verifiquen las divisiones celulares y que se produzcan células gigantes o de dimensiones supra-normales. Cabría pensar que, en análogas condiciones, además de las bacterias, pudieran también comportarse del mismo modo otros organismos. En mis cultivos únicamente observé, en el caso de un desarrollo mayor de las bacterias, la inhibición del desarrollo o la muerte de las Diatomeas. Cuando el contenido en bacterias era escaso no se observó ninguna influencia.

En mi opinión es posible que las Diatomeas, igual que ocurre en otras algas (por ejemplo, *Chlorella*) elaboren también sustancias antibióticas que sofoquen o impidan el desarrollo de determinadas bacterias.

Estirpe (Klone).—Para aislar las distintas estirpes se diluyó el material que contenía las Diatomeas con un sustrato líquido y se distribuyó sobre agar. De las colonias aisladas desarrolla las en las placas se hicieron nuevas diluciones que, a su vez, fueron manipuladas del mismo modo. Repitiendo varias veces este procedimiento se lograron finalmente con gran probabilidad (ya que no con seguridad absoluta) cultivos de estirpes. Los resultados de las mediciones, que acusaban siempre variaciones notablemente reducidas en el tamaño de los distintos individuos, hablan también en favor de esta probabilidad (véase mediciones). Esta escasa amplitud de variación no sólo constituye un firme apoyo de la proba-

bilidad del carácter familiar de los cultivos, sino que lo es además de las conclusiones de carácter general que se exponen más adelante.

Sustrato.—En general se emplearon tres tipos de agar: para las formas de agua dulce, una veces *agar-Benecke* modificado (Wattstein, 1921) y otras *agar-agua*; para las formas de aguas salobres y marinas una modificación del medio nutritivo para Diatomeas, de Richter. (Kufferath publicó en 1929 un resumen de los medios nutritivos para el cultivo de las algas, acompañado de una abundante bibliografía.)

El *agar-Benecke* modificado—que se designará en lo sucesivo abreviadamente *agar-B*—tien la siguiente composición:

Agua destilada.....	1.000	gr.
Agar-agar.....	10	»
Nitrato amónico.....	0,2	»
Cloruro cálcico.....	0,1	»
Fosfato disódico.....	0,01	»
Fosfato monopotásico.....	0,025	»
Sulfato magnésico.....	0,1	»
Citrato férrico.....	0,04	»
Silicato sódico o potásico.....	2 a 3	gotas.

El pH de este agar alcanzaba un promedio de 7,6 (determinado por el método colorimétrico de Michaelis). Para evitar acciones tóxicas oligodináminas se empleó, exclusivamente, agua destilada en aparatos de vidrio. El agar se lavó en agua corriente antes de su empleo.

Del *agar-B* se prepararon dos variantes: una neutra (pH = 6,8) y otra débilmente ácida (pH = 6,2), que se emplearon en los ensayos de tanteo para determinar la importancia de la reacción del medio.

El *agar-agua* (con agua de la ciudad de Lund)—que llamaremos en lo sucesivo *agar-M*—recuerda, por su composición, los medios nutritivos de Artari y Nakano:

Agua corriente.....	1.000	gr.
Agar-agar.....	10	»
Nitrato amónico.....	0,2	»
Fosfato disódico.....	0,15	»
Fosfato monopotásico.....	0,05	»
Sulfato magnésico.....	0,1	»
Citrato férrico.....	0,04	»
Silicato sódico o potásico.....	2 a 3	gotas.

Los análisis de las aguas corrientes de la ciudad de Lund se hicieron por Laudon, Pålsson y Smith, y se publicaron por Nanmam (1933). Tales aguas se componen de una mezcla constituida por agua de superficie y agua de fondo, en la proporción, ordinariamente, de 1 : 1. La dureza, que para nuestro objeto constituye un carácter de máxima importancia, se indica = 6,3 para el agua de superficie, y para la de fondo = 19,8 grados alemanes (un grado alemán corresponde a 10 mg. CaO, por litro).

El *agar-M* tenía, por término medio, un pH = 7,8. Algunas formas de agua dulce se cultivaron, a modo de ensayo, además, en *agar-turba*, según Wettstein (1921). En el cultivo de mis formas dió, en general, mal resultado este agar.

Para las formas marinas y de aguas salobres se empleó un *agar*—que llamaremos en lo sucesivo *agar-S*—que puede considerarse equivalente al medio nutritivo de Richter para Diatomeas:

Agua salobre.....	1	litro.
Agar-agar.....	10	gr.
Fosfato disódico.....	0,2	"
Nitrato potásico.....	0,2	"
Citrato férrico.....	0,04	"

El agua salobre en este caso era agua superficial de la bahía de Lomma (Öresund), cuyo contenido en sales variaba entre 6-8 por 1.000; el pH del *agar-S* era, por término medio, de 7,6.

Luz y temperatura.—Los cultivos se protegieron del sol directo, fuerte. Se pusieron en una ventana orientada al Este y recibieron, durante la estación más oscura, a diario, una iluminación complementaria de cuatro a cinco horas.

Delante de los cultivos se dispusieron, como fuentes luminosas, lámparas de 100-W, y se colocaron aquéllos en círculo, alrededor de cada una de éstas, a la distancia de 15 cms. La intensidad luminosa resultante se demostró muy apropiada (Schreiber, 1931) para las Diatomeas del tipo de penumbra y no influyó en la velocidad óptima de la multiplicación en las del «tipo de sombra». Sin embargo de no haberse empleado filtro alguno para el calor, no se produjo a esta distancia del foco luminoso un calentamiento perjudicial en los cultivos. En ciertos casos se pudo

observar durante el crecimiento una reacción fototáctica en el sentido del foco luminoso, y en otros en el sentido de la luz solar.

La influencia de la temperatura en los cultivos no ha sido estudiada de manera especial, ya que éstos se encontraron sometidos a las condiciones variables térmicas del laboratorio. Durante los meses de invierno se mantuvo el local a una temperatura algo inferior a su valor medio; sin embargo, cuando actuaba la iluminación supletoria se producía una elevación de temperatura, por la irradiación térmica de las lámparas.

Por todo lo demás, en lo referente a las condiciones de cultivo, nos remitimos al anterior trabajo del autor (Wiedling, 1946 b).

Mediciones

Se realizaron las mediciones con ayuda de un objetivo de inmersión y de un ocular micrométrico; el intervalo entre las divisiones de este último correspondía, con tal combinación a $\frac{4}{3} \mu$, pero como se utilizaron también mitades de estos intervalos, resultó como unidad aprovechable el valor = $\frac{2}{3} \mu$.

La diferencia en la longitud de los distintos individuos de un cultivo resultó, relativamente, muy insignificante. En las pruebas realizadas contando unos 500 individuos, se advirtió un 87 por 100 de éstos dentro de una variación latitudinal de $\pm 1 \mu$; un 94 por 100 dentro de otra de $\pm \frac{4}{3} \mu$, etc. A causa de esta ligera variación en la latitud (discutible, por otra parte, en las células más cortas) se consideró innecesario efectuar un gran número de mediciones individuales para obtener un valor medio cierto. En vista de ello se consideró suficiente la medición de un par de docenas de los individuos de un cultivo, para obtener la longitud media.

Las mediciones se realizaron desde el año 1934 hasta 1938 incluido.

Movilidad

En el curso de estos ensayos, de varios años de duración, se caracterizaron las formas cultivadas, en general, por su movilidad. De ordinario, los individuos de mayor tamaño se movían más que

los menores, y la capacidad de movimiento disminuía en aquellas formas que mostraban en el curso del cultivo una clara disminución en longitud. Hasta cuando la movilidad no era intensa podía, sin embargo, ponerse de manifiesto fácilmente, por ejemplo, mediante movimientos fototácticos. Incluso las estirpes de crecimiento «constante» (es decir, sin disminución en longitud) mostraron una movilidad perfecta a lo largo de todo el ensayo; lo que equivale a manifestar que su manera asexual de multiplicarse es independiente de la capacidad de movimiento. Sólo resultaron inmóviles por completo aquellas formas que en el curso del cultivo perdieron definitivamente sus valvas (y con ellas su aparato ráfico) (véase: formas desnudas en *Nitzschia Kützingeriana* var. *exilis*).

PARTE ESPECIAL

I. *Nitzschia ovalis* Arnott forma.

Diagrama 1.

El material originario para la serie de cultivos de *Nitzschia ovalis* fué recolectado el día 7 de junio de 1934 en el río Kävlinge en Håstad, Örtöfta.

Se emplearon indistintamente como medios *agar-M* y *agar-B*, que resultaron mejores que el *agar-B* neutro y que el *agar-B* débilmente ácido. También dió buenos resultados el *agar-turba*. La serie de ensayos, base del diagrama 1, se realizaron en su mayor parte cultivando con *agar-B*; a partir de enero de 1937 se empleó, por el contrario; *agar-M*.

Nitzschia ovalis es considerada por Hustedt (1930) como forma de agua salada. Mi forma, como antes se indicó, procede de agua dulce; sin embargo, soporta un determinado contenido en sal del *agar* de cultivo, lo cual indica que la especie es eurihalina. Krasske (1932), que observó la especie en un manantial salino con un 50 por 100 de sal (Bad Salzungen a. d. Werra), cree, del mismo modo, que no se trata de una forma típica de aguas saladas, sino de una especie indiferente, eurihalina, dentro de amplios límites.

Después de obtenido el cultivo puro, a partir de agosto de 1934, se realizaron mediciones periódicas regulares del eje apical, que poseía en tal época una longitud media de 35μ . A partir de entonces disminuyó esa longitud con relativa rapidez—por término medio, a razón de $0,7 \mu$ mensuales—. Cuando la longitud de los individuos descendió hasta 11μ murió el cultivo, sin formación de auxosporas y, por lo tanto, sin regenerarse.

La longitud mínima de la forma es, así, de 11μ , lo cual coincide bastante bien con los datos de Grunow (1880) (mínimo, 14μ); esta última cifra es también aceptada por Hustedt (1930). La lon-

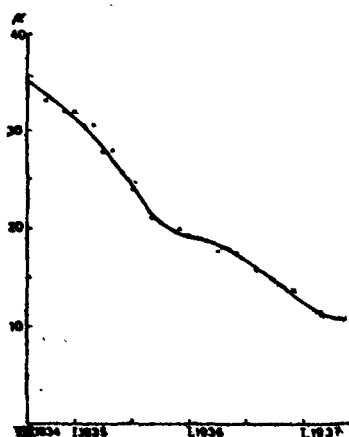


Diagrama 1.

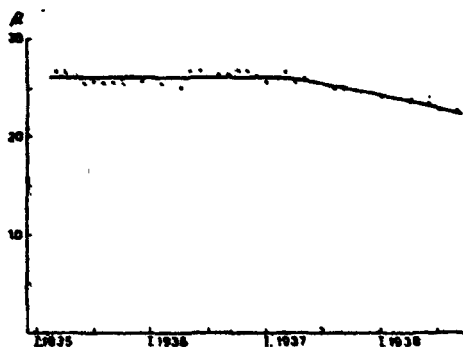


Diagrama 2.

Diagrama 1: *Nitzschia ovalis* forma. Estirpe del río Kävlinge, en Hästad, Örtofta.

Diagrama 2: *Nitzschia subtilis* var. *paleacea*. Estirpe del río Kävlinge, en Getinge.

gitud máxima medida por mí, 35μ , rebasa, por el contrario, considerablemente, la cifra de Grunow (20μ).

Ciertas oscilaciones que se observaron en la disminución de la longitud, fueron atribuidas a la desigual velocidad de la multiplicación. Esta disminuyó durante la estación oscura del año, aunque no correspondiendo del todo a las oscilaciones de la intensidad luminosa, sino con un claro retardo en primavera, debido probablemente a una temperatura más baja en el laboratorio. Con la

disminución de la longitud en los individuos se puede observar aquí—como también, con frecuencia, en otros casos—una menor escarpadura de la curva, que puede atribuirse a la disminución del grosor del cinturón y, probablemente también, a la menor vitalidad de la forma, al acercarse a sus dimensiones mínimas.

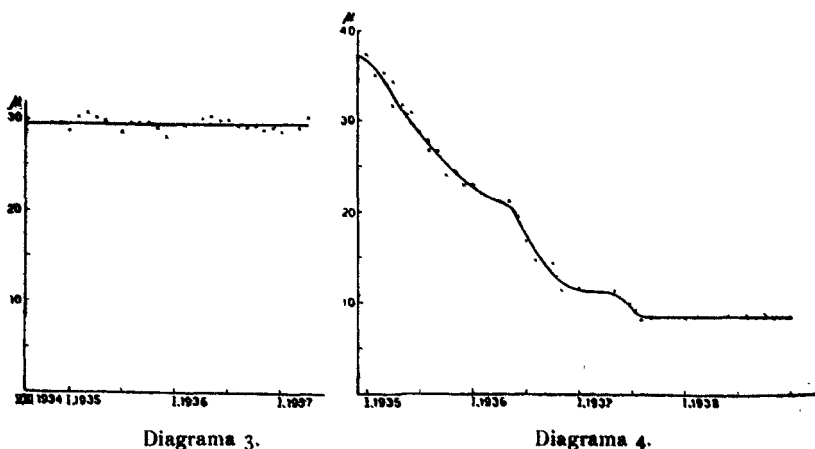


Diagrama 3: *Nitzschia subtilis* var. *paleacea*. Estirpe del río Kävlinge, en Getinge.

Diagrama 4: *Nitzschia palea*. Estirpe del «estanque de los Salix», en el Jardín Botánico de Lund.

II. *Nitzschia subtilis* var. *paleacea* Grun.

Diagramas 2 y 3.

Con *Nitzschia subtilis* var. *paleacea*, forma, según opinión general, muy próxima a *Nitzschia Kützingeriana* y *Nitzschia palea*, se hicieron dos series de cultivos, partiendo ambas de un material recolectado en el río Kävlinge, en Getinge, el día 10 de abril y el 9 de noviembre de 1934, respectivamente.

El agar-M se manifestó, como sustrato, más apropiado que el agar-B; éste, débilmente alcalino, resultó mejor que neutro, y éste, a su vez, se prefirió claramente al débilmente ácido. También se empleó con buenos resultados el agar-S, lo que demuestra el ca-

rácter oligohalobo de la forma, conforme con Kolbe (1927); según Cleve-Euler (1932), la forma es débilmente halófila.

Los individuos de una de las series (diagrama 2) tenían en la época comprendida desde marzo de 1935 hasta la primavera de 1937, una longitud apical aproximadamente constante de 26 μ , a partir de la cual se pudo señalar una lenta disminución de dicha longitud. En el otoño de 1938 alcanzaba la longitud media 22 μ , correspondiente a un acortamiento de unas 0,2 μ por mes.

Los individuos de la segunda serie (diagrama 3) se caracterizaron, desde el otoño de 1934 hasta la muerte del cultivo, en la primavera de 1937, por una longitud media constante, que, con escasas oscilaciones, resultó de 29 μ . No se observó la formación de auxosporas, lo cual es muy natural en estas condiciones; puesto que para que se formen aquéllas se requiere previamente que la forma alcance, como consecuencia de un acortamiento progresivo, una longitud mínima crítica («punto cardinal» de Geitler) y precisamente no se cumplió esta condición en nuestra raza, que, al parecer, estaba capacitada para multiplicarse vegetativamente, conservando constante su longitud.

Es cierto que pudieron observarse algunas oscilaciones, semejantes a las que advirtió Geitler (1932) en su *Eunotia pectinalis* var. *minor*, del mismo modo constante en su crecimiento, pero, como ya se ha dicho, tales oscilaciones se mantuvieron dentro de límites muy estrechos.

III. *Nitzschia palea* (Kütz.) W. Sm.

Diagrama 4.

El material de partida para la serie de ensayos con *Nitzschia palea* procedió del «estanque de los Salix», del Jardín Botánico de Lund, recolectado el 9 de agosto de 1934. Las mediciones se empezaron en diciembre del mismo año.

La especie se cultivó—como la mayor parte de mis formas de agua dulce—tanto en *agar-B* como en *agar-M*, sin diferencias notables, respecto de la velocidad de multiplicación.

La longitud apical de 37 μ al principio de las mediciones, dis-

disminuyó constantemente, hasta alcanzar en agosto de 1937 unas $8,5 \mu$ y, a partir de aquí, hasta diciembre de 1938—o sea, aproximadamente, año y medio—*permaneció constante*. Teníamos aquí, por consiguiente, el caso de una forma que muestra al principio una disminución «normal» de tamaño y que, después de alcanzar un tamaño mínimo determinado, sigue viviendo sin otros acortamientos ulteriores. Geitler (1932) sólo tenía en sus cultivos, por el contrario, formas que, cuando no se verificaba la formación en ellas de auxosporas, morían poco a poco.

En el espacio comprendido entre diciembre de 1934 y agosto de 1937 disminuyó, como promedio, la longitud, unas $0,9 \mu$ por mes. Pudieron observarse algunas oscilaciones en la velocidad de multiplicación, que disminuía durante el invierno, aunque sin corresponder al acortamiento de los días, para mostrar en primavera un retardo semejante al que se ha descrito en *Nitzschia ovalis*, siendo probable que este fenómeno pueda referirse a la misma causa (véase antes en *Nitzschia ovalis*).

Hustedt (1930) señala, como longitud apical de la especie, de $25-65 \mu$, en tanto que Fontell (1917) le asigna una longitud máxima de 75μ . La mínima encontrada por mí de $8,5 \mu$ es, respecto de la máxima, como 1 : 9, amplitud de variación poco frecuente en las Diatomeas. Es muy probable que se trate aquí de razas distintas, o que la forma nunca alcance esta mínima extrema en condiciones naturales.

IV. *Nitzschia palea* var. *debilis* (Kütz.) Grun.

Diagramas 5-12.

De esta forma se hicieron ocho series de cultivos. El material de partida procedía: del «estanque de los Salix», en el Jardín Botánico de Lund (una raza); de un ensayo que vierte en el río Sävve (una raza); del lago Wättern, en Wätternäs (una raza) y del río Kävlinge, en Hästar (cinco razas).

Como sustratos se emplearon el agar-B y el agar-M, que resultaron equivalentes. La manera de comportarse respecto del pH del medio coincidió con la alcalofilia de mis otras formas de agua

dulce: el *agar* débilmente alcalino resultó preferible al neutro, y éste al débilmente ácido. También sobre *agar-turba* y *agar-S* se cultivó la forma. La var. *debilis*, lo mismo que el tipo específico *palea*, parece, por esto, indiferente (Kolbe, 1927) para un débil contenido en sal. Según Cleve-Euler (1932), esta variedad, lo mismo que *Nitzschia Kützingeriana*, *N. palea* y *N. subtilis* var. *paleacea*, es una «forma débilmente halófila semejante a *Rhoicosphenia*».

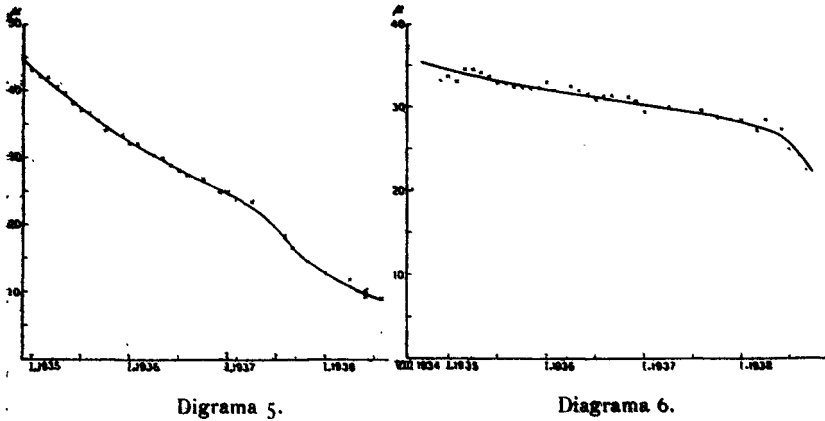


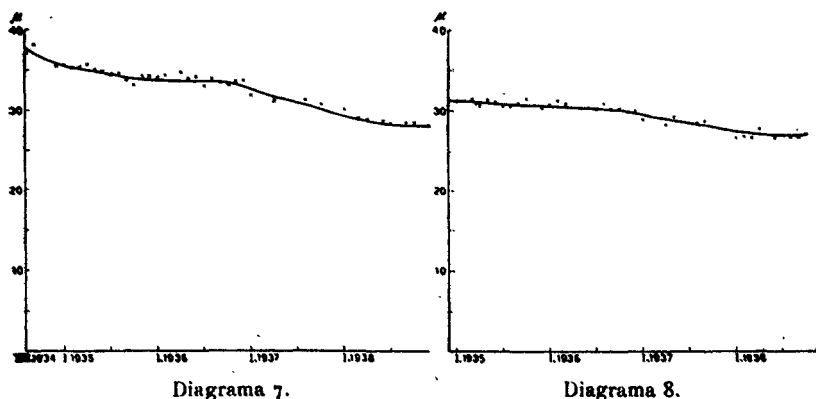
Diagrama 5. *Nitzschia palea* var. *debilis*. Estirpe del lago Vättern, en Vättersnäs.

Diagrama 6. *Nitzschia palea* var. *debilis*. Estirpe del río Kävlinge, en Hästad, Örtofta.

Las formas distintas mostraban en el cultivo un carácter también diferente. La disminución más rápida de la longitud apical se manifestó en la estirpe procedente del lago Vättern (diagrama 5), que al comienzo de las mediciones, en diciembre de 1934, era de 45μ , y en otoño de 1938 de 8μ , que corresponde a un acortamiento por mes, término medio, de $0,9 \mu$. Al principio se cultivaba esta estirpe sobre *agar-B*, pero después de su paso al *agar-M*, en enero de 1937, mostraba la curva de las longitudes un curso más escarpado, lo que indica un tiempo acelerado de multiplicación. De este hecho pudiera deducirse que el *agar-M* es un medio más apropiado para esta estirpe.

Las series de cultivos procedentes del río Kävlinge ofrecen, en general, un curso más lento en la disminución de la longitud. Las que han determinado los diagramas 6 y 7 se cultivaron exclusivamente en *agar-M*. Las que se representan en los diagramas 8, 9 y 10, en parte se cultivaron en *agar-B*, y en parte en *agar-M*, sin que el paso del uno al otro medio de cultivo influyera de alguna manera notable en el curso general de las curvas.

El acortamiento más lento—sólo un $0,1 \mu$ por mes—se advierte en las curvas 8 y 9; la longitud era en éstas al principio del



Diagramas 7-8. *Nitzschia palea* var. *debilis*. Estirpes procedentes del río Kävlinge, en Håstad, Örtofta.

ensayo de 32 y de 31μ , y después de un cultivo de cuatro años sólo había disminuído 5 y 6μ , respectivamente. El curso de las curvas muestra claramente la tendencia de las estirpes a lograr una fase de crecimiento constante (es decir, que se multiplican con una longitud constante).

Las curvas 6 y 7 muestran un acortamiento mucho más rápido, que era después de cuatro años de cultivo de 14 y de 10μ , respectivamente; correspondiendo a una reducción de longitud apical de 37 a 23μ en un caso, y de 38 a 28μ en otro. La disminución de la longitud no se verificó de un modo continuo durante el curso del ensayo, sino con determinadas oscilaciones. Así, la curva del diagrama 6 muestra en la mayor parte de su trayecto-

ría una inclinación hacia la horizontal, correspondiente a un acortamiento mensual de unas $0,2 \mu$, pero en el verano de 1936 se eleva, en cambio, la disminución de la longitud hasta, próximamente, 1μ mensual.

La curva del diagrama 7 muestra otra particularidad, descomponiéndose en dos partes: un período, desde agosto de 1934 hasta el verano de 1936 y, a partir de aquí, comienza el otro período. Durante el primero es algo inferior a 5μ la disminución de la longitud, y durante el segundo algo superior a esas 5μ . Cada uno de estos períodos se caracteriza por una disminución de la lon-

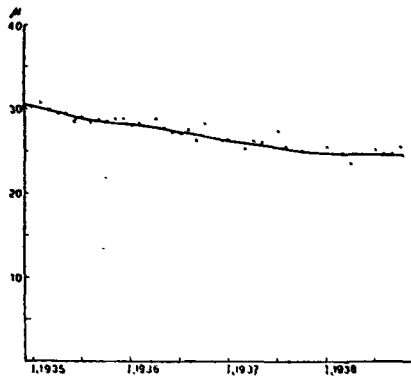


Diagrama 9.

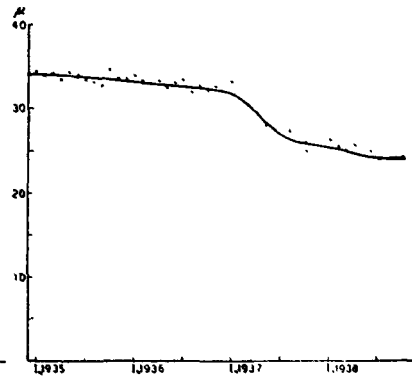


Diagrama 10.

Diagramas 9-10. *Nitzschia palea* var. *vebilis*. Estirpes procedentes del río Kävlinge, en Håstad, Örtöfta.

gitud, relativamente rápida al principio, que, poco a poco, se va haciendo más lenta, hasta que, finalmente, permanece constante o casi constante la longitud apical.

El diagrama 10 representa una curva de forma particular. Durante los dos primeros años el acortamiento fué muy lento, de unas $0,08 \mu$ mensuales, como promedio. En la primavera y el verano de 1937 fué más rápida la disminución de la longitud—hasta de 1μ mensual, para disminuir después—. Compárese con el diagrama 6. También allí se verifica al principio una disminución lenta (curva plana), que se hace finalmente más rápida (curva más

escarpada). La curva 6, por el contrario, no se termina con una inclinación tan suave como la curva 10.

Bethge (1925) ha observado al aire libre, en *Melosira helvetica* O. M. una sucesión semejante de períodos: el primero, de disminución rápida en el tamaño, y el segundo, de disminución lenta. Aquí se vió que predominan tamaños celulares completamente definidos, y considera Bethge que, después de una serie de divisiones de sucesión rápida, relacionadas con una disminución clara de tamaño, entran las células en un período de la multiplicación, con una disminución apenas manifiesta. Probablemente se suceden también las divisiones más lentas, puesto que después de un cierto

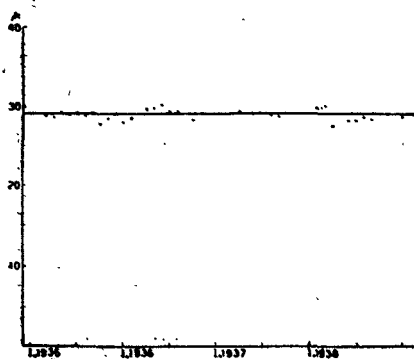


Diagrama 11.



Diagrama 12.

Diagrama 11. *Nitzschia palea* var. *debilis*. Estirpe del «estanque de los Salix», en el Jardín Botánico de Lund.

Diagrama 12. *Nitzschia palea* var. *debilis*. Estirpe procedente de un arroyo que desemboca en el río Sävve, por encima de Gamlestaden, Göteborg.

tiempo aumenta otra vez la velocidad de la división, con disminución manifiesta del tamaño.

La serie de cultivos que ha originado el material procedente del «estanque de los Salix», del Jardín Botánico de Lund (diagrama 11), realizados en *agar-M*, conservaron durante todo el ensayo —más de cuatro años— una longitud apical que oscilaba alrededor de 29 μ . Tenemos, pues, aquí, una paralela con la *Eunotia* de crecimiento constante de Geitler, con la sola diferencia de que el

tiempo de mi ensayo duró varias veces más. De modo semejante a lo que ocurrió con la *Eunotia* de Geitler se presentaron también en mi forma determinadas oscilaciones longitudinales, aunque se equilibraron recíprocamente, de manera que resultó aquí una recta, lo mismo que en el caso de Geitler.

El material utilizado en la serie de cultivos que determinaron el diagrama 12 procedió de un arroyo que desemboca en el río Sävve. Se cultivó exclusivamente sobre *agar-M*, y la longitud apical fué al principio de 33 μ .

Durante los dos primeros años se produjo una disminución lenta de la longitud y, a partir de entonces, se fijó ésta en 28 μ , que—prescindiendo de ligeras oscilaciones—permaneció constante hasta el fin del ensayo. Esta forma constituye el ejemplar típico del paso de la multiplicación con disminución de longitud a un desarrollo con longitud apical constante.

Nitzschia palea var. *debilis*, según Hustedt (1930), no puede mantenerse como variedad independiente. Todas las estirpes por mí cultivadas de esta forma (excepto la de Vättern) difieren, no obstante, esencialmente de mi estirpe de *Nitzschia palea*, por verificarse mucho más lentamente el acortamiento, o sea por la tendencia hacia una fase de «desarrollo constante», incluso cuando su tamaño mínimo no había sido todavía alcanzado. *Nitzschia palea* pasó también—como ya se indicó antes—a una fase de «desarrollo constante», pero únicamente después que sus individuos habían descendido hasta alcanzar su tamaño mínimo. Tenemos aquí, por consiguiente, una *diferencia fisiológica* evidente entre ambas formas.

V. *Nitzschia palea* var. *tropica*? Grun.

Diagrama 13.

Con esta forma designada como var. *tropica* se hizo una serie de cultivos. El material de partida fué recolectado el día 16 de septiembre de 1934 en el río Göta, en Gamlestaden, Göteborg. Se empleó al principio del ensayo como sustrato el *agar-B*, que fué sustituido en mayo por el *agar-M*. Conforme se deduce del diagrama, no se observó después del cambio modificación al-

guna en el curso de la curva; los dos medios resultaron, por lo tanto, ser equivalentes. El *agar* neutro se comportó aproximadamente como el *agar* débilmente ácido, pero resultaron inferiores al débilmente alcalino. La forma se desarrolló también sobre *agar-S*.

Después de obtenido el cultivo puro, comenzaron las mediciones en diciembre de 1934; la longitud apical en esta época era de 56μ . A partir de aquí mostró la forma un acortamiento regular, aunque en disminución progresiva, hasta que, después de descender a 21μ , murió en septiembre de 1937. La disminución de longitud fué, por término medio, de $1,1 \mu$ mensuales. Este va-

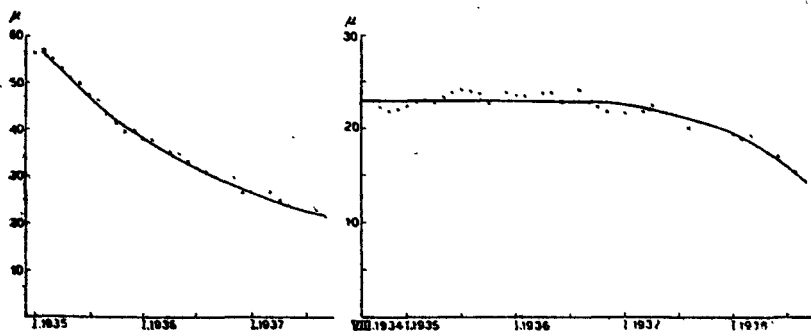


Diagrama 13.

Diagrama 14.

Diagrama 13. *Nitzschia palea* var. *tropica*? Estirpe del río Göta, en Gamlestaden, Göteborg.

Diagrama 14. *Nitzschia Kützingeriana*. Estirpe del río Kävlinge, en Hastad, Örtofta.

lor, en relación con la variación del tamaño de las otras formas más, se considera elevado.

La escarpadura, de disminución progresiva, puede explicarse por el adelgazamiento cada vez mayor de los cinturones; la muerte se explicaría por la disminución de la vitalidad al alcanzarse el tamaño mínimo, sin que se formara la auxospora.

Nitzschia palida var. *tropica* no puede ser considerada una variedad buena, como lo es la var. *debilis*, aunque la comparación entre la especie tipo y la var. *tropica* permita, sin embargo, establecer algunas diferencias: así, la var. *tropica* resultó en mis cul-

tivos la mayor de las dos formas, 56-21 μ , mientras que *Nitzschia palea* me varió entre 37 y 8 μ (Grunow, en 1880, da para las dos formas, como tamaño mínimo, 25 μ ; Hustedt 20 μ para *N. palea*). Tal vez existe una determinada proporcionalidad entre la longitud primera diferencial de las dos formas y la disminución media de esta longitud, aunque en el tipo es de 0,9 μ y en la variedad *tropica* 1,1 μ . Después de retroceder al tamaño medio de 8 μ pasa *Nitzschia palea* a una fase de longitud constante; la var. *tropica* muere después de un acortamiento lento y relativamente insignificante. La var. *tropica* de Grunow es una forma de río (río Purus, de Sudamérica), e interesa poner de manifiesto que también mi forma es de río (río Göta).

VI. *Nitzschia Kützingeriana* Hilse.

Diagramas 14 y 15.

De *Nitzschia Kützingeriana*, forma próxima a *N. palea*, se hicieron dos series de cultivos; el material de partida procedió del río Kävlinge, en Hastad. Para una de las series se recolectó el material el día 7 de junio de 1934; para la otra el 1 de agosto del mismo año.

La manera de comportarse mi forma respecto de los medios empleados, resultó igual que para mis otras formas de agua dulce: el agar-M resultó equivalente al agar-B, y el agar débilmente alcalino mejor que el neutro o el débilmente ácido. La serie primeramente utilizada se cultivó exclusivamente sobre agar-M, y la otra al principio sobre agar-B y después sobre agar-M.

Una vez logrado el cultivo puro, se iniciaron las mediciones en agosto y diciembre de 1934, respectivamente. La longitud apical en la serie primeramente nombrada, durante dos años de cultivo, era constantemente de 23 μ y disminuyó después bruscamente, descendiendo en el otoño de 1938 hasta 14 μ , que corresponde a un acortamiento mensual de 0,4 μ , durante el último período (diagrama 14).

En la otra serie, aunque muy lenta, se observó disminución en la longitud, puesto que la original de 26 μ , resultó, después de cuatro años de cultivo, de 20 μ , correspondiendo a un acortamiento mensual de 0,1 μ (diagrama 15).

Tenemos aquí otra vez, por lo tanto, una especie que se multiplica primero sin acortamiento, pero que puede abandonar esta fase constante y continuar su desarrollo de modo «vernal», según la teoría de Mac Donal-Pfitzer.

Las dimensiones de mi forma coinciden bastante bien con los datos de los autores. Boye Petersen (1928) ha medido individuos hasta de 28 μ de longitud; la mínima se da por Grunow (1880) con 14 μ y por Hustedt (1930) con 10 μ .

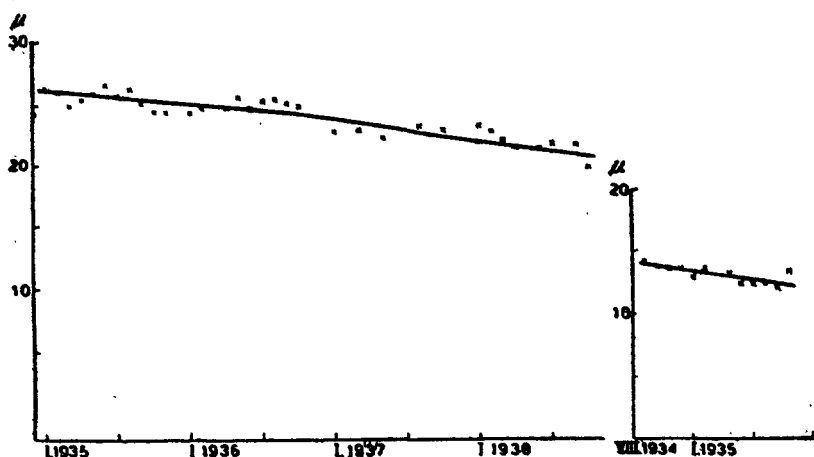


Diagrama 15.

Diagrama 16.

Diagrama 15. *Nitzschia Kützingiana*. Estirpe del río Kävlinge, en Hästad, Örtofta.

Diagrama 16. *Nitzschia Kützingiana* var. *exilis*. Estirpe del río Kävlinge, en Hästad, Örtofta.

VII. *Nitzschia Kützingiana* var. *exilis* Grun.

con f. *multiplex* A. Cl.

Diagramas 16-20.

Con esta forma se realizaron cinco series de ensayos. El material de partida procedió: de Öresund, en Bjärred, 28 de mayo de 1934 (tres estirpes, diagramas 17-19): de Brännö, en los escollos de Göteborg, 16 de septiembre de 1934 (una estirpe, diagrama 20),

y del río Kävlinge, en Håstad, 1 de agosto de 1934 (una estirpe, diagrama 16).

Nitzschia Kützingiana var. *exilis* es considerada por Kolbe (1927) como indiferente y eurihalina. Este dato se conforma por los ensayos con mis formas, que comprenden material de agua dulce, del agua salobre de Öresund y del agua marina de Brännö. En los cultivos pudo variarse el contenido en sal en todas las estirpes; así, la forma procedente de Håstad prosperó, no sólo en el agar-B y en el agar-M, sino también sobre agar con una cantidad de sal, hasta del 20 por 100 (cantidad máxima de sal empleada).

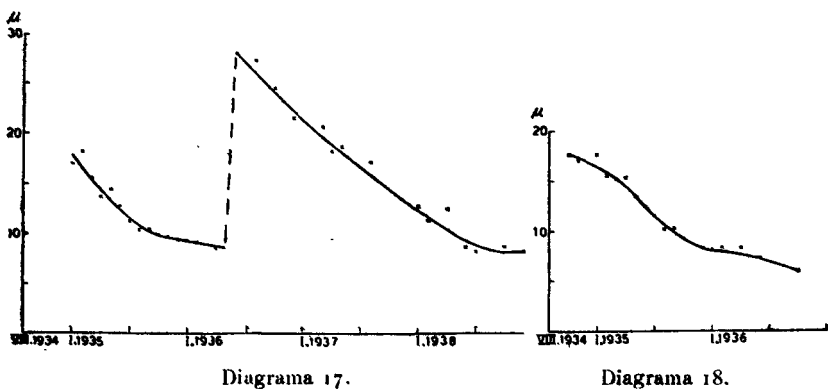


Diagrama 17. *Nitzschia Kützingiana* var. *exilis*. Estirpes del Öresund (bahía de Lomma), en Bjärred.

Diagrama 18. *Nitzschia Kützingiana* var. *exilis*. Estirpe del Öresund (bahía de Lomma), en Bjärred.

Gracias a esta cantidad tan grande de sal empleada, pudieron eliminarse las bacterias y otros organismos que impurificaban los cultivos. Por otra parte, la forma de Brännö pudo cultivarse lo mismo sobre agar-M que sobre agar-S, cuyo contenido en sal le era por completo suficiente y se desarrolló por lo menos tan bien sobre este último salobre, como sobre otro agar con mayor cantidad de sal.

La estirpe de Håstad cultivada sobre agar-B murió al año, aproximadamente, de cultivo y mostró la misma intensidad en la multiplicación sobre agar débilmente alcalino que sobre agar neutro. También se mostró menos favorable en este caso el agar débil-

mente ácido. La disminución de la longitud fué bastante lenta, con $0,2 \mu$ mensuales escasamente; la de la forma—12 a 14μ —corresponde a la longitud indicada por Grunow (1880), que es de 13μ .

Mejor se logró el cultivo de las estirpes de Bjärred y Brännö, empleando el agar-S, que, como ya se indicó, dió excelentes resultados.

La longitud era, en las tres estirpes de Bjärred, al comienzo de las mediciones, de 18μ (diagramas 17-19). Dos estirpes murieron respectivamente, después de un cultivo de dos y de un año, luego de alcanzar una longitud de 6μ y de 9μ . Aquí se nos presentó

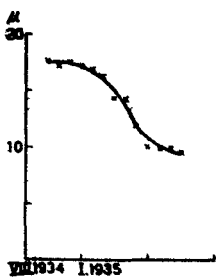


Diagrama 19.

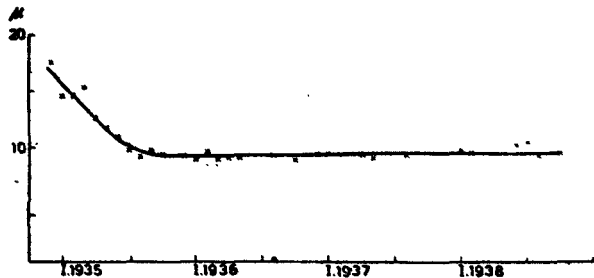


Diagrama 20.

Diagrama 19. *Nitzschia Kütsingiana* var. *exilis*. Estirpes del Öresund (bahía de Lomma), en Bjärred.

Diagrama 20. *Nitzschia Kütsingiana* var. *exilis*. Estirpe de Brännö (islas de Göteborg).

probablemente un caso de muerte de células *enanas*, que no llegaron a formar auxosporas, como ya había sido indicado por Geitler.

En la tercera de las estirpes de Bjärred (diagrama 17), con una longitud apical de 9μ , se presentó claramente la formación de auxospora, a continuación de lo cual se elevó la indicada longitud a 28μ , es decir, tres veces mayor que la mínima. No se observó, en realidad, el acto de la formación de la auxospora; probablemente se presentó inmediatamente después de una inoculación sobre un medio nuevo, a partir de lo cual se verificó en seguida la multiplicación vegetativa. En el otoño de 1938 había descendido otra vez la longitud apical a $8-9 \mu$, siendo, por término medio, 1μ el acortamiento apical por mes en las estirpes de Bjärred.

El acortamiento de la forma de Brännö (diagrama 20) se verificó al principio de igual manera que en las estirpes de Bjärred. La longitud inicial era en ella escasamente de 18 μ . La disminución de la longitud alcanzó aproximadamente 1 μ por mes, hasta que ésta descendió a 9-10 μ . Con este tamaño se mantuvo la forma—sin más acortamientos y sin formar auxosporas—durante otros tres años, e incluso pareció ofrecer una cierta tendencia al *aumento* en longitud. Así he encontrado individuos de 16-18 μ de longitud, en una parte de los cultivos, en el verano de 1937 hasta el de 1938. No he podido observar formación de auxosporas.

Es poco probable que la cantidad de sal—escasa en comparación con la del lugar de origen de la forma—del medio de cultivo fuera la causa que impidió la formación de las auxosporas. Más bien, por el contrario, un aumento de la salinidad suele, de ordinario, sofocar la formación de las auxosporas.

La manera de comportarse en el cultivo las formas de Brännö coincide con la de *Nitzschia palea*. Igual que en ésta, se verifica primero en aquéllas una disminución regular de la longitud, hasta alcanzar un determinado tamaño mínimo, y cuando éste se ha conseguido se presenta una fase de desarrollo constante, sin acortamiento alguno, de modo que el alga no muere, sino que sigue viviendo, aunque con escasa intensidad divisional.

En los cultivos de las estirpes de Brännö y de Bjärred se observaron con frecuencia *uniones en las células*, constituyendo *agregados cintiformes*. Cleve-Euler propone para éstos la denominación de forma *multiplex*, basándose en la característica del desarrollo, probablemente debido únicamente a las condiciones del cultivo artificial (Wiedling, 1941 a).

N. Kützingeriana var. *exilis* mostró una tendencia evidente, a la vez que perdía sus valvas, hacia una fase «desnuda». En la forma anormal desapareció el esqueleto silíceo después de habérsela mantenido en cultivo varios años, y durante este tiempo disminuyó la longitud apical hasta que alcanzó una *mínima* determinada (Wiedling, 1941 a). Esto se halla en contradicción con las formas «desnudas» descritas por Richter (1909), Bachrach (1928), Geitler (1930), v. Stosch (1942) y Hendey (1945), fenómeno que había que atribuir probablemente (y en los dos últimos autores con seguridad) a factores del medio.

Las estirpes de Bjärred muestran una estructura valvar algo más fina que las otras: así, el número de los puntos de la quilla es aproximadamente de 19-20 en 10μ , mientras que en los individuos «normales» es de 17-18. Además, los extremos de las valvas apenas son prolongados. Sin embargo, Cleve-Euler, considerando estas diferencias, cree que no se puede separar esta forma de la var. *exilis*.

Grunow (1880) asigna a la var. *exilis* una longitud máxima de 13μ y la forma, según mis mediciones, tiene por lo menos 28μ , es decir, la misma longitud que la especie tipo. La longitud mínima fué en las formas de Brännö de 9μ , y algo menos en las de Bjärred.

La separación de las var. *exilis* de la especie tipo o principal la encuentra «apenas justificada» Hustedt (1930). Las curvas de las formas de Brännö y Bjärred muestran, sin embargo, un curso esencialmente distinto, comparado con el de la especie tipo, caracterizado especialmente por una disminución más rápida de la longitud—y sobre todo en la forma de Brännö—por una tendencia a la multiplicación con longitud constante, pero sólo después de haber alcanzado una longitud mínima. Además de todo esto, puede añadirse su manifiesta predilección a formar agregados cintiformes y formas desnudas.

VIII. *Nitzschia communis* Rabh.

Diagramas 21-25.

Con *Nitzschia communis* se realizaron cinco series de cultivos y el material de partida procedió unas veces del agua dulce (una estirpe del río Kävlinge, en Hastad, diagrama 21); otras de la salobre, es decir, una estirpe del Öresund, en Bjärred (diagrama 22) y las restantes, tres, del Öresund, al oeste de Malmö (diagramas 23-25).

Se advirtió que la forma procedente del agua dulce podía vivir también sobre *agar*-agua salobre, mientras que, en cambio, las estirpes del Öresund se desarrollaban lo mismo en agua dulce (*agar*-B o *agar*-M) que sobre un *agar* con un 20 por 100 de sal, es

decir, que contenía más de dos veces la cantidad de sal en relación con la del lugar de origen de las formas.

Nitzschia communis se considera por Grunow (1880) como forma de agua dulce; pero como también se presenta en el agua salobre, es para Kolbe (1927) oligohaloba. Por la manera de conducirse en los cultivos, parece pertenecer a la sección halófila de los oligohalobios.

La longitud apical alcanza, según Hustedt (1930), de 20-40 μ . El más largo de mis individuos de agua salobre fué de 67 μ , y el más corto de 6 μ , siendo muy probable que se trate aquí de dos

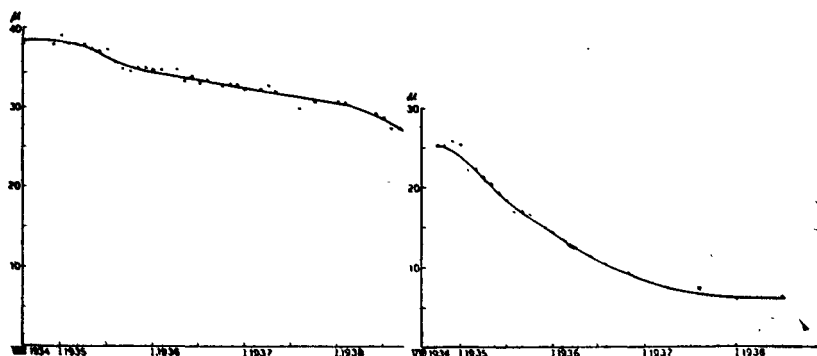


Diagrama 21.

Diagrama 22.

Diagrama 21. *Nitzschia communis*. Estirpe del río Kävlinge, en Hastad, Örtofta.

Diagrama 22. *Nitzschia communis*. Estirpe del Öresund, en Bjärrred.

estirpes de longitud desigual. La estirpe de agua dulce se mantuvo, en cambio, dentro de los límites señalados por Hustedt. Nuestro concepto acerca de la amplitud de variación de esta especie ha de ser sustancialmente revisado.

En las diferentes estirpes es muy desigual el curso respectivo de las curvas. Las curvas pertenecientes a las formas de las aguas salobres indican una disminución de la longitud, generalmente rápida; tres de esas curvas (diagramas 22-24) discurren sin complicación alguna, en tanto que la cuarta (diagrama 25), con una longitud apical de 28 μ , muestra claramente formación de auxos-

pora. Aquí aumentó la longitud apical en los meses de mayo-julio de 1936 a 57μ .

Es notable que el aumento del tamaño medio, desde 28 a 57μ , no se verificó de manera inmediata, sino de un modo *sucesivo*. Después de confirmado, en una época determinada, por una medición (antes de la resiembra en nueva placa de *agar*) un aumento de la longitud media (inferior, sin embargo, a la longitud máxima de 57μ), aumentó en cada nueva siembra la longitud, hasta que, finalmente, se alcanzó la media máxima de dichas 57μ y, a partir de aquí, no hubo ya más aumentos. La duración de estos

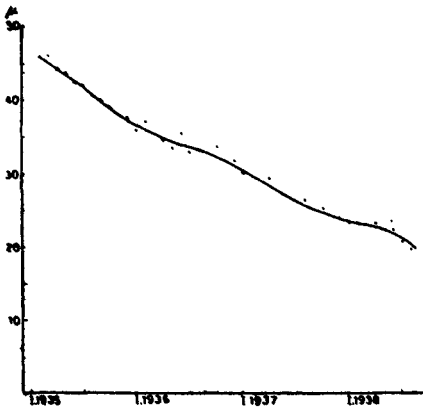


Diagrama 23.

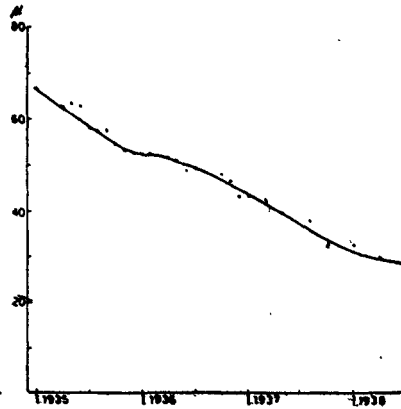


Diagrama 24.

Diagrama 23. *Nitzschia communis*. Estirpes del Öresund, al oeste de Malmö.

Diagrama 24. *Nitzschia communis*. Estirpes del Öresund, al oeste de Malmö.

aumentos sucesivos fué, como ya se ha dicho, de dos-tres meses.

Es posible que este aumento sucesivo del tamaño medio pueda compararse con un proceso que ha observado Schreiber en *Melosira nummularioides*. En esta forma se desarrollaron después las auxosporas ya formadas y alcanzaron su tamaño definitivo al día siguiente (véase también Gemeinhardt, 1926, 1927).

Durante el año 1938 mostró la misma serie, otra vez, una tendencia al aumento de tamaño, a pesar de que la longitud apical había antes descendido a 37μ .

El acortamiento medio del eje apical, durante los períodos en que se verificó, fué de 1μ mensual. El mismo tiempo en el acortamiento se deduce aproximadamente del diagrama 24. La serie correspondiente a este ensayo tenía una longitud inicial de 67μ , que descendió a 26μ en el otoño de 1938, sin que entre tanto se presentase formación de auxosporas. La curva del diagrama 23 representa un acortamiento más lento, de unas $0,6 \mu$ mensuales, que equivale a una disminución de longitud desde 46 a 20μ .

La forma de agua salobre procedente de Bjärred (diagrama 22) mostró durante el tiempo del ensayo un acortamiento desde 26 a

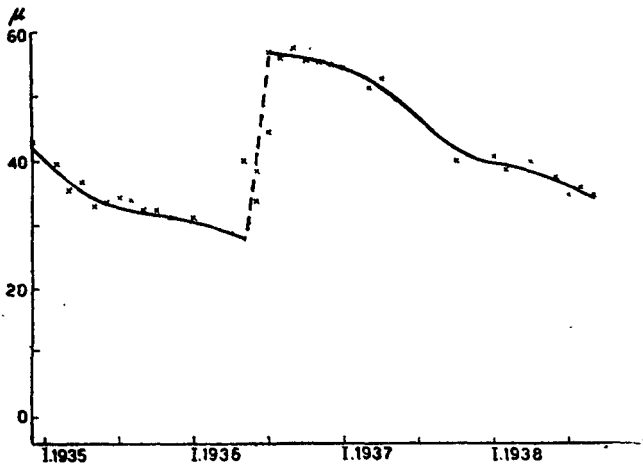


Diagrama 25.

Diagrama 25. *Nitzschia communis*. Estirpe del Öresund, al oeste de Malmö.

6μ , es decir, como promedio unas $0,5 \mu$ mensuales. La curva pone de manifiesto una disminución lenta del espesor del cinturón y de la vitalidad. Esta forma nuestra también al aproximarse al tamaño mínimo una tendencia a la formación de cintas, de la misma manera a como se observó en los cultivos de *Nitzschia Kützingiana* var. *exilis*. La estructura valvar se hace extremadamente fina, a medida que la forma se aproxima a sus dimensiones mínimas.

La forma de agua dulce (diagrama 21) coincide con las otras estirpes, en lo referente a la variación del tamaño. Sin embargo, la

disminución de éste se verifica de manera mucho más lenta: en cuatro años decreció su longitud desde 39 a 27 μ , es decir, como promedio mensual unas 0,3 μ .

Como medio se empleó hasta diciembre de 1936 *agar-B*, y después *agar-M*, sin que pudiera señalarse modificación alguna en el curso de la curva. La forma se desarrolló también sobre *agar-turba* y—como ya se ha mencionado—sobre *agar-S*.

COMENTARIOS Y RESUMEN DE LOS RESULTADOS

Si resumimos los resultados de mis ensayos de cultivos, tenemos lo siguiente:

1. Ofrecieron un ciclo de desarrollo completamente cerrado, con diplo y haplofase, conforme a la teoría de Mac Donald-Pfitzer, es decir, comprendiendo un período vegetativo largo con disminución continua del tamaño, formación de gametos y auxosporas, restitución del tamaño normal y recuperación de la multiplicación vegetativa:

Una estirpe de *Nitzschia Kützngiana* var. *exilis* (diagrama 17);
Una estirpe de *N. communis* (diagrama 25).

2. En oposición a esto transcurrió la multiplicación de las formas que luego se indican completamente en la diplofase, de manera puramente vegetativa, sin disminuir el tamaño y sin formación de auxosporas:

Una estirpe de *N. subtilis* var. *paleacea* (diagrama 3);
Una estirpe de *N. palea* var. *debilis* (diagrama 11).

En el desarrollo de las restantes estirpes, que, por decirlo así, se movían entre estos dos extremos, pudieron observarse los siguientes casos:

3. Después de una multiplicación vegetativa de \pm duración, que se verificaba con disminución continua de la longitud, se presenta, una vez alcanzado un determinado tamaño, un desarrollo ulterior sin disminución del tamaño:

Una estirpe de *N. palea* (diagrama 4);
Una estirpe de *N. palea* var. *debilis* (diagrama 12);
Una estirpe de *N. Kützngiana* var. *exilis* (diagrama 20).

La fase «constante» podía presentarse:

a) Cuando la población había alcanzado un tamaño mínimo determinado (*N. palea*, diagrama 4; *N. Kützingiana* var. *exilis*, diagrama 20); o

b) Ya mucho antes, cuando todavía la disminución era insignificante (*N. palea* var. *debilis*, diagrama 12).

Los diagramas 7, 8 y 9 (*N. palea* var. *debilis*) muestran también una clara tendencia de las estirpes a lograr una fase de crecimiento constante.

4. Primero una multiplicación vegetativa sin disminución de tamaño; después de un desarrollo largo con longitud constante se presenta, gradual o bruscamente, el acortamiento del eje apical y, en ocasiones, la muerte gradual. Sin formación de auxosporas:

Una estirpe de *N. subtilis* var. *paleacea* (diagrama 2);

Una estirpe de *N. Kützingiana* (diagrama 14);

Una estirpe de *N. paleacea* var. *debilis* (diagrama 10) puede incluirse también aquí (véase, además, diagrama 7).

5. Un desarrollo puramente vegetativo, con disminución constante, ± rápida, del tamaño. En ocasiones sucede a esto la muerte. Sin formación de auxosporas durante el cultivo.

Una estirpe de *N. ovalis forma* (diagrama 1):

Dos estirpes de *N. palea* var. *debilis* (diagramas 5, 6);

Una estirpe de *N. palea* var. *tropica?* (diagrama 13);

Una estirpe de *N. Kützingiana* (diagrama 15);

Tres estirpes de *N. Kützingiana* var. *exilis* (diagramas 16, 18, 19);

Cuatro estirpes de *N. communis* (diagramas 21, 22, 23, 24).

La velocidad según la cual se verificaba la disminución de la longitud era, en general, muy grande en *N. ovalis*, *N. palea*, *N. palea* var. *tropica*, *N. Kützingiana* var. *exilis* y *N. communis*; más lenta, por término medio, en el acortamiento eran *N. subtilis* var. *paleacea*, *N. palea* var. *debilis* y *N. Kützingiana*. En *N. palea* var. *debilis* puede alternar una disminución rápida del tamaño con otra lenta.

Desde el punto de vista de la historia del desarrollo, serían los casos 2 y 3 antes descritos los más interesantes. Demuestran

que la multiplicación de las Diatomeas puede transcurrir en ocasiones, dentro por completo de la diplofase, sin que se presente disminución del tamaño ni formación de auxosporas. A la especie cultivada por Allen y Nelson (1910), *N. clostericum* f. *minutissima* y a la *Eunotia pectinalis* var. *minor* investigada por Geitler (1902), se añaden ahora otros dos ejemplos de conservación de la longitud original sin formación de auxosporas: *N. subtilis* var. *paleacea* y *N. palea* var. *debilis*.

Inesperada es la observación de que algunas formas, después de una disminución inicial del tamaño, a partir de una época determinada puedan pasar a una fase de multiplicación vegetativa con longitud constante.

Es además notable que el empequeñecimiento de las formas, que al principio tenían una longitud de 37μ (*N. palea*, diagrama 4), con una longitud apical de $8,5 \mu$ no ocasiona la muerte del cultivo y que, incluso, en estos casos pueda presentarse la fase estacionaria antes mencionada.

Estos casos no encajan dentro del esquema normal de Mac Donal-Pfitzer; a todos ellos les es común la falta de la haplofase—el proceso sexual está suprimido y la multiplicación se verifica de manera puramente vegetativa.

Si se comparan estos resultados con las experiencias realizadas *in situ*—en los lugares de habitación naturales de estos organismos—(véase Introducción, pág. 133), en los cuales sólo escasas veces se observa formación de auxosporas, no creo que Geitler tenga razón cuando desecha su sugerencia, de la que se trató al principio, acerca de la «prescindibilidad» de la reproducción sexual (en condiciones determinadas) como «cosa de poco fundamento» (Geitler, 1932, pág. 138, nota al pie). Más bien creo yo, con Kolbe (1933), que la disminución de las células en una multiplicación vegetativa de larga duración, no es condición necesaria y que, por el contrario, los casos de multiplicación asexual prolongada son en la naturaleza más frecuentes de lo que se supone.

En la mayor parte—probablemente en todos—de los grupos de algas se provoca el paso de la multiplicación vegetativa a la reproducción sexual por un cambio de las condiciones externas (o—probablemente en relación con ellas—del estado fisiológico interior). Si las condiciones exteriores se modifican, puede ocurrir que

la multiplicación vegetativa de un organismo se prosiga de manera ilimitada. En algunas algas (*Dinoflagellatae*, *Pleurococcaceae*, *Blastophoraceae*, incluso determinadas *Siphonales*, etc.) sólo se conocen fases vegetativas. Según la teoría de Mac Donal-Pfitzer, a la cual se adhiere Geitler en este punto, este cambio en las Diatomeas de la diplo a la haplofase se determina, sin embargo, principalmente, por la consecución de un tamaño celular crítico y éste, a su vez, está condicionado por una disminución de tamaño de los individuos, durante el período vegetativo. Pero esto, según los resultados anteriores, no es, en general, valedero: no siempre se verifica una disminución celular y, con seguridad, estos casos no constituyen excepciones. La multiplicación vegetativa puede ser de *duración ilimitada*, cuando las condiciones externas permanecen constantes.

¿Cómo es posible la conservación del tamaño de la célula, considerando la peculiaridad del mecanismo de la división y la constitución de la membrana de las Diatomeas, en su multiplicación vegetativa? Geitler (1932, pág. 88) da una explicación para *Eunotia pectinalis* var. *minor*. No es asunto de este trabajo tratar de estas cuestiones, menos todavía porque nuestros conocimientos respecto de la naturaleza de la relación entre valvas, manto valvar y cinturón pero, en especial, la manera de conducirse estos órganos durante la división celular, son completamente insuficientes. Probablemente será cuestión ésta que se encargará de aclarar el electromicroscopio.

Para la taxonomía de las Diatomeas pueden resultar algunas sugerencias de la demostración del desarrollo vegetativo con longitud constante. El hecho de retroceder una forma a una fracción de su tamaño «normal» (y además modificar su figura), para proseguir después con estos tamaños y figura nuevos, desarrollándose de manera constante y asexual, puede descubrir relaciones directas entre los tipos específicos y las formas subordinadas (raza, variedad, etc.), y considerar estas últimas como verdaderas fases del desarrollo de la especie principal o tipo, sobre todo en determinados casos. Ciertas «variedades» suelen ser a veces muy constantes en sus dimensiones y su figura; en la misma localidad no suelen entonces encontrarse formas de transición entre la variedad y el tipo. De lo dicho se deduce que en estos casos no tiene

por qué tratarse de variedades, sino casi siempre de fases del desarrollo.

En un cierto número de estirpes, especialmente de *N. palea* var. *debilis*, pudo ya antes demostrar el autor (Wiedling, 1941, c, d, e; véase 1942) la acción inhibitoria del desarrollo que ejercen las sulfanilamidas sobre las Diatomeas y además el antagonismo entre aquéllas y el ácido p-aminobenzoico (llamado también vitamina B₂ o sustancia de crecimiento BY o H'; factor del complejo B₂ en estos organismos autótrofos.

Demostrado también este antagonismo en plantas superiores por el autor (en *Pisum*, Wiedling, 1943 a) y consiguiéndolo además en otros organismos vegetales, apoyándose en la teoría de Woods & Fildes, cree tener fundamento para suponer que el ácido p-aminobenzoico constituye un «essential metabolite» de naturaleza universal en el reino vegetal (Wiedling, 1943 c).

Puesto que, al mismo tiempo, se ha demostrado que el ácido p-aminobenzoico forma parte del ácido pteroilglutámico (con frecuencia llamado ácido fólico, conocido también como vitamina B₉, B₁₀, B₁₁ o M y factor U; factor de elución del complejo B₉), la hipótesis del autor se presenta bajo una nueva luz.

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN (E. J.) & NELSON (E. W.): On the artificial culture of marine plankton organisms. *J. Mar. Biol. Ass. Unit.* 8, 421, 1910.
- BACHRACH (E.) & LEFÈVRE (M.): Disparition de la carapace siliceuse chez les Diatomées. *C. R. Soc. Biol.* 98, 1510, 1928.
- BETHGE (H.): Melosira und ihre Planktonbegleiter. Jena, 1925.
- CLEVE-EULER (A.): Die Kieselalgen des Tåkernsees in Schweden. *K. Sv. Vet.-Akad. Handl.* 11, Nr. 2, 1932.
- FONTELL (C. W.): Süßwasserdiatomeen aus Ober-Jämtland in Schweden. *Arch. Bot.* 14, Nr. 21, 1917.
- FRITSCH (F. E.): The structure and reproduction of the algae. Cambridge, 1935, 1945.
- GEITLER (L.): Studien über den Formwechsel der pennaten Diatomeen. *Biol. Zbl.* 50, 65, 1930.
- Der Formwechsel der pennaten Diatomeen (Kieselalgen). *Arch. Protistenkunde* 78, 1, 1932.
- GEMBINHARDT (K.): Die Gattung *Synedra* in systematischer, zytologischer und ökologischer Beziehung. Jena, 1926.
- Beiträge zur Kenntnis der Diatomen. IV. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 45, 570, 1927.

- GRÜNÖW (A.): Beiträge zur Kenntniss der arctischen Diatomeen. *K. Sv. Vet.-Akad. Handl.* 17, 1 b, 1880.
- HENDEY (N. I.): Extra-frustular diatoms. *J. R. Micr. Soc.* 65, 34, 1945.
- HUSTEDT (F.): Bacillariophyta (Diatomeae). Jena, 1930.
- KOLBE (R. W.): Zur Ökologie, Morphologie und Systematik der Brackwasser-diatomeen. Jena, 1927.
- Grundlinien einer allgemeinen Ökologie der Diatomeen. *Erg. Biol.* 8, 221, 1932.
- [Referat über Geitler 1932.] *Bot. Zbl.* 165, 106, 1933.
- KRASSKE (G.): Diatomeen deutscher Sölquellen und Gradierwerke. II. *Hedwigia* 72, 135, 1932.
- KUFFERATH (H.): La culture des Algues. *Rev. alg.* 4, 127, 1929.
- KÜSTER (E.): Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Leipzig, 1913.
- MACDONALD (J. D.): On the structure of the diatomaceous frustule and its genetic cycle. *Ann. & Mag. Nat. Hist.* 3, 1, 1869.
- NAUMANN (E.): Daphnia magna Straus als Versuchstier. *K. Fysiogr. Sällsk. Lund Förh.* 3, Nr. 2, 1933.
- NIPKOW (H. F.): Über das Verhalten der Skelette planktischer Kieselalgen im geschichteten Tiefenschlamm des Zürich und Baldeggersees. Aarau, 1927.
- OLTMANN (F.): Morphologie und Biologie der Algen. Jena, 1922-1923.
- PETERSEN (J. BOYE): The aerial algae of Iceland. *The Bot. of Iceland* 2, Nr. 8, 1928.
- PFITZER (E.): Über Bau und Zelltheilung der Diatomaceen. *Sitzber. Niederrhein. Ges. Natur- u. Heilkunde Bonn* 26, 71, 1869.
- Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen (Diatomaceen). Bonn, 1871.
- PRINGSHEIM (E. G.): Algenkultur. *Handb. biol. Arbeitsmeth.* XI, 2, 377, 1924.
- Pure cultures of algae. Cambridge, 1946.
- RICHTER (O.): Zur Physiologie der Diatomeen. *Sitz. ber. K. Akad. Wiss., math.-naturw. Kl.* 118, Abt. 1, 1337, 1909.
- Die Ernährung der Algen. Leipzig, 1911.
- SCHREIBER (E.): Über Reinkulturversuche und experimentelle Auxosporenbildung bei *Melosira nummuloides*. *Arch. Protistenkunde* 73, 331, 1932.
- STOSCH (H.-A. VON): Form und Formwechsel der Diatomee *Achnantes longipes* in Abhängigkeit von der Ernährung. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 60, 1, 1942.
- WETTSTEIN (F. VON): Zur Bedeutung und Technik der Reinkultur für Systematik und Floristik der Algen. *Österr. bot. Ztschr.* 70, 23, 1921.
- WIEDLING (S.): Experimental colonificence of *Nitzschia Kützingeriana* var *exilis* Grun. *Bot. Not.* [93], 403, 1940.
- A skeleton-free diatom. *Ibid.* [94], 33, 1941 (a).
- Cultivation of *Nitzschia*. *Ibid.* [94], 37, 1941 (b).
- Sulfonamidhemmende Wirkung der p-Aminobenzoesäure bei autotrophen Organismen. *Naturwiss.* 29, 455, 1941 (c).
- p-Aminobenzoic acid, an essential metabolite for autotrophic organisms. *Science* 94, 389, 1941 (d).
- The inhibitory action of p-aminobenzoic acid on sulfanilamides in experiments with diatoms. *Bot. Not.* [94], 375, 1941 (e).

- WIEDLING (S.): Effect of sulphanilamides on the growth of micro-organisms in presence and absence of p-aminobenzoic acid. *Nature* 150, 290, 1942.
- Antagonismus zwischen Sulfanilamiden und p-Aminobenzoessäure bei Pisum. *Naturwiss.* 31, 114, 1943 (a).
 - Die Gültigkeit der MacDonald-Pfitzerschen Regel bei der Diatomeengattung Nitzschia. *Ibid.* 31, 115, 1943 (b).
 - p-Aminobenzoesyrens betydelse för mikroorganismerna. *Farm. Revy* 42, 121, 1943 (c).
 - Die Kultur der Diatomeen. *Mikrokosmos* 36, 80, 1943 (d).
 - Morphologic and physiologic investigations in diatoms. *Farlowia* 1, 501, 1944.
- WILSON (D. P.): The triradiate and other forms of Nitzschia closterium (Ehrenberg) Wm. Smith, forma minutissima of Allen and Nelson. *J. Mar. Biol. Ass. Unit. Kingd.* 26, 235, 1946.