

## *Spirulina subsalsa* Oersted en Costa Rica. Estructura y posible importancia comercial

por

Paul E. Hargraves\* y Roxana Víquez\*\*

(Recibido para su publicación el 22 de junio de 1981)

**Abstract:** *Spirulina subsalsa* Oersted is reported from a supralittoral pool on the Caribbean coast of Costa Rica. The presence of cell walls in the trichome is confirmed. \*Because of its economic use in other parts of the world, it may have some potential as a food supplement, either for aquaculture or human consumption.

Las algas verde-azuladas, cianofíceas, se encuentran en todo tipo de ambiente, desde suelos áridos hasta mar abierto, desde las regiones polares hasta los trópicos. Tienen considerable importancia en producción primaria, "reciclaje" de nutrimentos (especialmente de nitrógeno), y como alimento para una amplia variedad de animales incluyendo el hombre (indirectamente como simbioses en leguminosas y como fijadores de nitrógeno; también indirectamente como suplemento para alimentación humana). Asimismo representan las formas de vida más antiguas en la Tierra. Hasta hace poco tiempo fueron consideradas algas, como lo indican la mayoría de las clasificaciones y esquemas. No obstante, debido a su naturaleza procariótica y a muchas otras características bioquímicas y morfológicas (Stanier & Cohen-Bazire, 1977) han sido incluidas, más apropiadamente, con las bacterias. Debido a algunas diferencias en los códigos de nomenclatura botánica y bacteriológica, se ha topado en la actualidad, con alguna confusión concerniente a categorías taxonómicas, aunque se están logrando progresos en esta área (Rippla, *et al.*, 1979). La situación es más complicada a nivel de especie.

Durante un reconocimiento del fitoplancton costero en Costa Rica en 1979, se observó que una charca supralitoral con baja salinidad presentaba una delgada película de organismos en la superficie, que resultó ser *Spirula*. Debido al uso económico potencial de este organismo, se decidió hacer un estudio más detallado.

La charca en la que se observó *Spirulina* en abril de 1979, se encuentra en el límite norte del Parque Nacional Cahuita, cerca de la entrada. Posiblemente esta charca se convirtió en un pequeño riachuelo durante la estación lluviosa, pero en el momento del muestreo no se observó flujo hacia el mar y la salinidad era de 2-3 ‰.

\* University of Rhode Island, Kingston, R.I. 02881 USA, Graduate School of Oceanography.

\*\* Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Se tomaron muestras, en bolsas de polietileno, de la superficie y a profundidades de 10 y 50 cm. Algunas muestras fueron preservadas en glutaraldehído al 5%, y otras se mantuvieron vivas. Las muestras preservadas fueron posteriormente refijadas en osmio, embebidas en resina Spurr, seccionadas en un ultramicrotomo MT-2B y examinadas en un microscopio electrónico Zeiss EM-9S. Las muestras vivas fueron fotografiadas en un microscopio Zeiss.

Basándose en el diámetro del tricoma, el arreglo de las hélices y la aparente carencia de pared celular, el organismo ha sido identificado como *Spirulina subsalsa* Oersted. La taxonomía de las cianobacterias espiraladas es confusa. Las diferencias entre los géneros *Arthrospira* y *Spirulina* se basan en la presencia de paredes intercelulares en *Arthrospira*. Como se muestra claramente (Fig. 1, C & D) existen paredes intercelulares que no son visibles en el microscopio de luz. Esto ha sido demostrado también en *S. mayor* Kütz. (Holmgren *et al.*, 1971). Por lo tanto la distinción entre estos dos géneros es artificial.

Existen docenas de especies de *Spirulina* en la literatura. Drouet (1968) las redujo todas a una sola especie, *S. subsalsa*, procedimiento seguido por Ralph (1975). Muchas especies adicionales, tales como las descritas para "Islas Las Aves", Venezuela, por Schiller (1956), no fueron estudiadas por Drouet. Dado que investigaciones recientes han demostrado que una de las principales características que diferencian las especies, cantidad de espirales, es variable de acuerdo con las condiciones ambientales o de cultivo, particularmente temperatura (van Eykelenburg, 1979; Lewin, 1980), entonces las conclusiones de Drouet podrían ser útiles. No obstante, debido a que cepas morfológicamente semejantes pueden presentar diferencias substanciales en la composición del ADN (Rippla, *et al.*, 1979), el problema de la especiación en las cianobacterias está aún sin resolver. Por lo tanto, aunque se utilice un sistema de clasificación liberal o conservador, este organismo aún puede ser considerado *S. subsalsa*.

La película superficial en la charca en el Parque Cahuita consistía de filamentos de *Spirulina*, flojamente entrelazados. Ocasionalmente se encontraron protozoarios ciliados y diatómeas del género *Pleurosigma* viviendo en la matriz de *Spirulina* (Fig. 1.A). No se observó otras algas o protozoarios, lo que sugiere que *Spirulina* producía sustancias inhibitorias, o que el crecimiento ha sido tan rápido que no tuvo lugar la colonización por otros organismos. Aparentemente el crecimiento de *Spirulina* se inició en las orillas de la charca y se esparció hacia el centro. Los tricomas se limitaron a la superficie del agua (neuston) y no se presentaron a profundidades de 10 y 50 cm.

La importancia de las cianobacterias en la fijación de nitrógeno es indiscutible, y es particularmente importante en regiones tropicales (Fogg *et al.*, 1973). Hasta el momento no se ha demostrado la fijación de nitrógeno por parte de *Spirulina*, aunque otros géneros estrechamente relacionados fijan nitrógeno en suelos, agua dulce y en el mar. Históricamente, y hasta el presente, *Spirulina* ha sido un organismo útil para la alimentación. *S. platensis* (la que Drouet ha incluido en *S. subsalsa*) es comúnmente consumida en algunas localidades en Africa (Chapman, 1970), y probablemente la misma especie era consumida en México en tiempos de Cortés (Fogg, *et al.*, 1973). En acuicultura, *Spirulina* es un alimento efectivo para peces de agua dulce (Stanley and Jones, 1976) y también para la cría de alimento para peces tal como *Artemia* (Le Ruyet, 1976). Sin embargo tales usos no dejan de presentar problemas. *S. subsalsa* fue identificada como la causa de una enfermedad fatal entre cultivos comerciales de camarón (*Penaeus stylirostris*) en México (Lightner, 1978). Debido a la dificultad para identificar las especies, dadas las variaciones morfológicas en aguas con diferente salinidad (Watanabe & Ichimura,

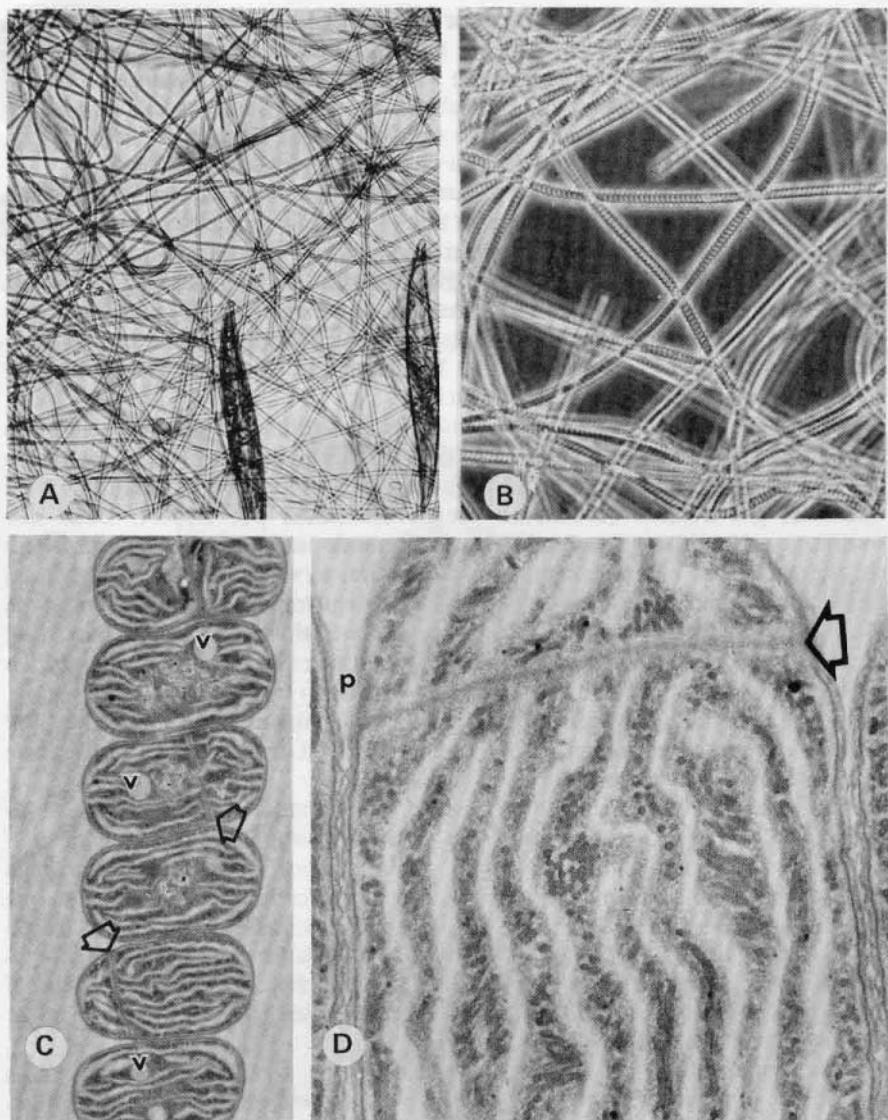


Fig. 1. *Spirulina subsalsa* Oersted.

- A. Matriz de la película superficial con la diatómea *Pleurosigma* (contraste de faces, X 150)
- B. Detalles de tricomas individuales, mostrando hélices y aparente carencia de paredes intercelulares (contraste de faces, X 600).
- C. Sección longitudinal de un tricoma, mostrando la vacuola (v), lamelas fotosintéticas y las paredes intercelulares (flechas), (fotografía EM, X 15.000).
- D. Detalle de la estructura celular mostrando lamelas, paredes celulares (flecha), polisacáridos extracelulares entre células (P) y numerosos ficobilisomas en las lamelas (X 40.000).

1977), no se sabe a ciencia cierta si todos estos clones presentan toxicidad potencial.

Por su alto contenido en proteína (62-68%) y por la facilidad de cultivo en masa (Venkataraman & Nigam, 1979), *Spirulina* puede ser considerada como suplemento para la dieta humana o como alimento primario en acuicultura, ya que diferentes clones tienen diferentes potenciales de crecimiento. Porque algunos clones pueden ser tóxicos, cada clon debe ser evaluado separadamente. Debido a que *Spirulina* ocurre naturalmente en Costa Rica, tal evaluación sería de gran utilidad.

## REFERENCIAS

- Chapman, V.J.**  
1970. Seaweeds and their uses. 2a. ed. Methuen, London. 304 p.
- Drouet, F.**  
1968. Revision of the classification of the Oscillatoriaceae. Monogr. Acad. Nat. Sci. Phila., 15: 1-370.
- Eykelenburg, C. Van**  
1979. The ultrastructure of *Spirulina platensis* in relation to temperature and light intensity. Antonie van Leeuwen., 45: 369-390.
- Fogg, G.E., W.D.P. Stewart, P. Fay, & A.E. Walsby**  
1973. The Blue-Green Algae. Academic Press, New York. 459 p.
- Holmgren, P.R., H.P. Hostetter, & V.E. Scholes**  
1971. Ultrastructural observation of crosswalls in the blue-green alga *Spirulina major*. J. Phycol., 7: 309-311.
- LeRuyet, J.P.**  
1976. Elevage larvaire d'*Artemia salina* (Branchiopode) sur nourriture inerte: *Spirulina maxima* (Cyanophyceae). Aquaculture, 8: 157-167.
- Lewin, R.**  
1980. Uncoiled variants of *Spirulina platensis* (Cyanophyceae: Oscillatoriaceae). Arch. Hydrobiol. Suppl., 60: 48-52.
- Lightner, D.V.**  
1978. Possible toxic effects of the marine blue-green alga *Spirulina subsalsa* on the blue shrimp *Penaeus stylirostris*. J. Invert. Path., 32: 139-150.
- Ralph, R.D.**  
1975. Blue-green Algae of the Shores and Marshes of Southern Delaware. Univ. Del., Newark. Sea Grant Publ. DEL-SG-20-75. 139p.
- Rippla, R., J. De Ruelles, J.B. Waterbury, M. Herdman, & R.Y. Stanier**  
1979. Generic assignments, strain histories, and properties of pure cultures of cyanobacteria. J.Gen. Microbiol., 111: 1-61.
- Schiller, J.**  
1956. Die Mikroflora der roten Tümpel auf den Koralleninseln "Las Aves" in karibischen Meer. Ergebn. deutsch. Limnol. Venezuela-Exped., 1: 197-216.
- Stanier, R.Y., & G. Cohen-Bazire**  
1977. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. Ann. Rev. Microbiol., 31: 225-274.

Stanley, J.G., & J.B. Jones

1976. Feeding Algae to Fish. *Aquaculture*, 7: 219-223.

Venkataraman, L.V., & B.P. Nigam

1979. Mass culturing of fresh-water algae for utilization as a protein source. *Phykos*, 18: 83-95.

Watanabe, M.M., & T. Ichimura

1977. Fresh and salt-water forms of *Spirulina platensis* in axenic cultures. *Bull. Jap. Soc. Phycol.*, 25: 371-377.

**Bionomics of black flies  
(Diptera: Simuliidae) in Costa Rica.  
VIII. Observations on the natural infection of black fly  
larvae by *Neomesomermis travisi* (Nematoda: Mermithidae)\***

by

Francisco Fallas\*\* and Mario Vargas V.\*\*

(Received for publication July 13, 1981)

Resumen: Se hizo un estudio en la corriente Parruás del cantón de Aserrí, Provincia de San José, Costa Rica, con el fin de obtener información sobre la infección natural de *Neomesomermis travisi* (Nematoda: Mermithidae) en larvas de simúlidos (Diptera: Simuliidae). Se encontró que este mermítido parasita preferentemente larvas de *Simulium metallicum*. En la muestra estudiada solo se encontró una larva de *Simulium panamense* parasitada y ninguna de *Simulium paynei*. Se presenta información sobre la distribución geográfica de *Neomesomermis travisi* en Costa Rica.

Host-parasite relationships are of utmost importance in biological control studies which may lead to a better understanding of the complex interactions among populations of both components.

A new species of a mermithid parasite of Simuliidae was described by Vargas *et al.* (1980) as part of a study on the bionomics of black flies in Costa Rica.

In this publication we provide observations on the natural infection of *Neomesomermis travisi* (Nematoda: Mermithidae) in two larval hosts, *Simulium metallicum* and *Simulium panamense* and present information about its geographical distribution in Costa Rica, so that further studies on the dynamics of the host-parasite relationship can be undertaken.

Black fly larvae were collected during 1980 following techniques described by Vargas and Travis (1973) in 100 representative streams in Costa Rica. The samples included all larval stages. Field observations were made to detect obviously parasitized larvae and collections were preserved in alcohol.

\* This investigation was financed by the Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica.

\*\* Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Departamento de Parasitología.

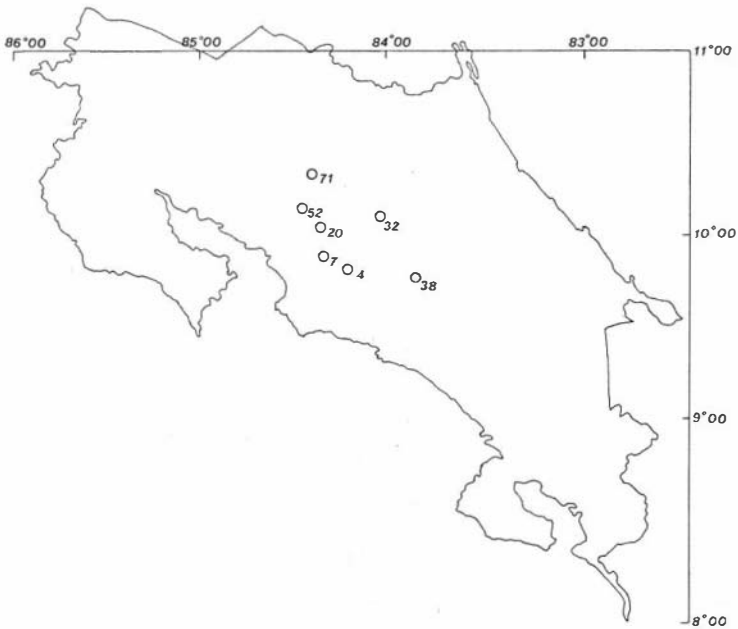


Fig. 1. Geographical localization of streams in Costa Rica where simuliid larvae parasitized by mermithids were found.

Stream No.4 (Quebrada Parruás) in Aserrí, San José Province was selected to study natural infection rates. In this stream larvae of three species of black flies were collected at random, the sample was partly fixed in 95% alcohol and partly brought live to the laboratory. The material collected was sorted by species and developmental stage and dissected under a stereoscopic microscope in search for mermithids. Black fly larvae parasitized by mermithids were collected in 7 of the 100 streams under study (Table and Figure 1). The general characteristics of these streams have been previously recorded in Vargas and Travis, 1973. Only one of these (No.71) is found outside the Central Valley, also, this stream belongs in category III, the rest of them fall in either category I or II and share similar stream beds, a factor which may be of importance for the development of the free living stages of the mermithids as well as for the larval hosts.

In Table 2 are summarized the results of the dissection of 587 larvae of three species of Simuliidae from Stream No.4 (Qda. Parruás). These data suggest that *Simulium metallicum* is the preferred host since only one larva of *Simulium panamense* and none of *Simulium paynei* were found parasitized. Usually, only one larval mermithid per host was found but two larvae of *S. metallicum* were parasitized by 3 mermithids and 2 parasites were recovered from each of 2 larvae of the same species.

The rather limited geographical distribution of *Neomesomeris travisi* may be explained in part by the fact that it is apparently restricted to a few species of black flies. Its distribution in this country may coincide with that of *Simulium metallicum*. Failure to detect recently parasitized larvae in the field should also be taken into consideration.

We express our thanks to Mr. Roberto Gallardo for his field work.

TABLE I

*Streams in Costa Rica where mermithids parasitizing  
black fly larvae were found*

Stream	No.	Category	Altitude	Locality
Qda. Parruás	4	II	1270 m	Aserri, San José
Qda. Honda	7	I	960 m	Mora, San José
Qda. Cajón	20	I	675 m	Atenas, Alajuela
Río Tambor	32	I	1550 m	Barva, Heredia
Qda. Quirí	38	II	1250 m	Tapantí, Cartago
Río Jesús	52	II	900 m	San Ramón, Alajuela
Qda. San Pedro	71	III	160 m	San Carlos, Alajuela

TABLE 2

*Parasitism by Neomesomeris travisi in black  
fly larvae in Qda. Parruás, Costa Rica*

species	Total examined	Preserved larvae dissected				Total examined	larvae dissected <i>in vivo</i>			
		immature		mature			immature		mature	
		P	NP	P	NP		P	NP	P	NP
<i>Simulium paynei</i>	11	0	11	0	0	74	0	59	0	15
<i>Simulium panamense</i>	115	0	72	0	43	157	1	123	0	34
<i>Simulium metallicum</i>	68	12	31	1	24	160	35	93	0	32

Code: P: parasitized  
NP: not parasitized

## LITERATURE CITED

- Vargas M., & B.V. Travis  
1973. Bionomía de los simúlidos (Diptera: Simuliidae) en Costa Rica. IV. Localización y descripción de los lugares de recolección. Rev. Biol. Trop. 21: 143-175.
- Vargas M., I.A. Rubtsov, & F. Fallas  
1980. Bionomics of black flies (Diptera: Simuliidae) in Costa Rica. V. Description of *Neomesomeris travisi* sp. n. (Nematoda: Mermithidae). Rev. Biol. Trop. 28: 73-89.