
AGRUPACION EN ANILLO EN CULTIVOS DE *Spirostomum ambiguum*

DIMAS
FERNÁNDEZ-GALIANO
Catedrático-Director del
Departamento de Microbiología
Facultad de Ciencias
Universidad de Madrid, España.

La agrupación de los paramecios en los cultivos formando una masa de forma anular en las inmediaciones de la superficie del tubo o del recipiente de cultivo, es un fenómeno conocido dado hace bastantes años, que ha sido estudiado por diversos autores, como Moore (1903), Dembowski (1929), Vivier (1960) y muy recientemente Estève (1962, 1968). Sin embargo, no he visto citada hasta la fecha ninguna descripción de una agrupación en anillo de otros ciliados y este trabajo tiene por objeto dar cuenta de mis observaciones sobre dicho fenómeno en los cultivos de *Spirostomum ambiguum* que se mantienen en mi laboratorio.

Desde hace algún tiempo, se viene empleando en mi laboratorio para el cultivo rutinario de ciliados, una solución al 0,02% de extracto de levadura (DIFCO) en agua destilada. Este extracto se distribuye en tubos de cultivo, que se siembran con los ciliados y se dejan abiertos al aire por lo que son contaminados por diversas bacterias y otros microorganismos. En este medio se mantienen ordinariamente en el laboratorio todo el año cultivos de *Colpidium colpoda*, *Paramecium aurelia*, *Spirostomum ambiguum* y algunas especies más.

El medio recién hecho tiene un pH = 5.6, que resulta demasiado bajo para el crecimiento normal de algunos ciliados. En consecuencia, muchas veces añadimos a los tubos un pedacito de creta a fin de neutralizar la acidez y favorecer el crecimiento de ciertos ciliados.

Cuando me hallaba realizando algunas pruebas comparativas sobre la magnitud del crecimiento de *Spirostomum* en relación con la acidez del medio, pude observar que, aparte de producirse un crecimiento visiblemente mayor en los tubos con creta que en los desprovistos de ella, en los tubos con creta que llevaban 15 días sembrados, los ejemplares de *Spirostomum* estaban todos dispuestos alrededor del tubo y adheridos a su pared, formando un anillo muy claro que, dado el gran tamaño de los ejemplares de esta especie, era perfectamente visible a simple vista; por el contrario, en los tubos en que no había creta no se producía esta reacción.

Con el fin de averiguar la causa de dicha agrupación en anillo, llevé a cabo unos cultivos en distintas condiciones que han dado los siguientes resultados.

Dos series de tubos de 20 cm de longitud y 22 mm de anchura interior se llenaron con 50 ml de extracto de levadura al 0.02% (pH = 5.8); en una de las series se añadió, además, un trocisco de creta de 0.5 g de peso (pH = 6.6). Los tubos se esterilizaron al autoclave y se sembraron con 15 ejemplares de *Spirostomum ambiguum* recogidos de uno de los cultivos viejos del laboratorio. Hay que hacer constar que, naturalmente, junto con los ejemplares se introdujeron en los cultivos otros microorganismos, por lo que los cultivos fueron heteroxénicos. Además, los tubos se dejaron abiertos a la temperatura ambiente (unos 22°C), con lo que quedaron expuestos a la contaminación atmosférica.

Durante las primeras horas, los ejemplares de *Spirostomum* aparecían en las inmediaciones del fondo de los tubos, nadando entre las impurezas del cultivo sedimentadas por la gravedad.

A las 24 horas todos los tubos de ambas series mostraban un fuerte crecimiento microbiano, que los enturbiaba en su totalidad; en la superficie de los tubos aparecía un velo microbiano, y en sus inmediaciones, entre 0 y 10 mm de la superficie, nadaban la mayoría de los ciliados.

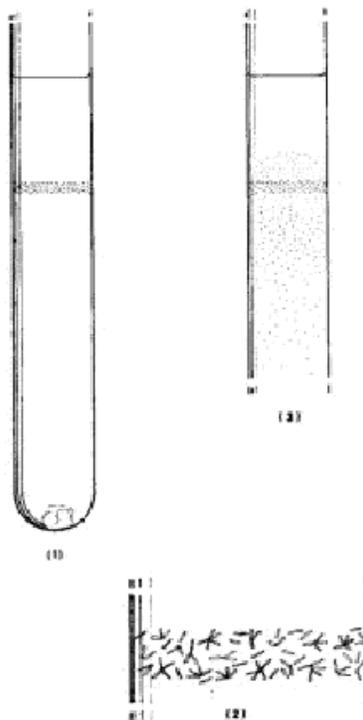
A los 8 días de sembrados los cultivos, comenzaron a observarse diferencias en los tubos con creta y en los tubos sin este material. Efectivamente en estos últimos cultivos, los ciliados siguen nadando en las inmediaciones del velo microbiano, cerca de la superficie del tubo. Por el contrario, en los cultivos neutralizados con creta se concentran adheridos a las paredes del tubo formando un anillo, todavía impreciso por el escaso número de

ejemplares, a unas alturas que oscilan entre 55 mm y 65 mm del fondo, según los tubos.

Esta agrupación se va haciendo cada vez más visible y aparente en los tubos adicionados de creta, en los que, además, se observa con toda claridad un notable incremento de los ejemplares de *Spirostomum*, que son mucho más numerosos (Fig. 1).

En días sucesivos se verán incluso en el mismo anillo grupos de ejemplares, adheridos al cristal por su parte caudal, estos grupos de cinco o seis ejemplares tenían el aspecto de pequeñas estrellitas (Fig. 2).

A los 11 días el aspecto de la agrupación en anillo en los tubos con creta era muy típico, pero, además, se pudo observar lo siguiente:



Figs. 1 a 3

Figs. 1 a 3

A partir del fondo del tubo hasta una altura de unos 5 mm por encima del anillo de ciliados, se veía una masa de microorganismos de tamaño relativamente grande, que se observaron con una lupa de 6 aumentos. Esta masa, que llenaba prácticamente la mitad inferior de los tubos, mostraba su crecimiento de abajo arriba, de manera que formaba una especie de menisco convexo por encima del anillo (Fig. 3). Vista al microscopio esta masa de cultivo se vio que estaba constituida principalmente por unas levaduras de las que se hicieron siembras en placa para su aislamiento; una vez aisladas se están realizando las pruebas correspondientes para su identificación.

En los días sucesivos se pudo observar como el anillo se fue desplazando hacia arriba a medida que el menisco lo hacía también; las posiciones sucesivas del anillo de *Spirostomum* fueron dejando una huella en la pared del tubo, de manera que se podía determinar el punto en que se produjo el anillo original. Este proceso de desplazamiento del anillo hacia arriba duró hasta que la masa de levadura ocupó todo el medio de cultivo, y entonces los *Spirostomum* se difundieron más o menos homogéneamente por el medio, y nadando por él sin mostrar una adherencia a las paredes; de todos modos se podía observar que eran mucho más abundantes en la parte superior del tubo. En este momento, el pH del medio era superior que al comenzar el experimento, elevándose a una cifra de 6.9.

Hay que hacer constar que, en las mismas fechas, es decir, aproximadamente al mes de iniciarse el cultivo, los tubos sin creta mostraban, lo mismo que al principio, un pobre crecimiento de *Spirostomum*, y los ciliados nadaban por el fondo del tubo. En estos tubos no se pudo demostrar la presencia de la levadura en cuestión.

La interpretación que doy a los hechos arriba expuestos es que la agrupación en anillo de esta especie se debe primordialmente a una influencia de levadura sobre *Spirostomum*. El pH del medio no hace más que favorecer el crecimiento de la levadura, cuyas células situadas en la parte superior del cultivo se adhieren a las paredes del tubo. Tampoco está, al parecer, directamente implicado el pH en el agrupamiento en anillo en *Paramecium*, según opinión de Estève (1968). Los *Spirostomum* son atraídos por estas células de levadura y se adhieren a su vez a las mismas paredes.

La atracción que sufren los *Spirostomum* por las levaduras, que me parece evidente, es posible que sea debido a que ellas mismas sirven de alimento a los ciliados. Sin embargo, no debe descartarse la posibilidad de que los *Spirostomum* sean atraídos quimiotácticamente por algún producto metabólico de la levadura, o incluso que se trate de un fenómeno más complejo, en el que intervengan también bacterias de los contaminantes del tubo.

Es también importante determinar si cualquier levadura puede inducir este interesante fenómeno, o si solamente puede hacerlo la levadura en cuestión, y también es de sumo interés el saber qué especies de ciliados son sensibles a esta atracción por la levadura. En publicaciones futuras espero abordar estos interesantes aspectos de la ecología de los ciliados.

BIBLIOGRAFÍA

- DEMBOWSKI, J. (1929). Die Vertikalbewegung von *Paramecium caudatum*. II. Einfluss einiger Faktoren. *Arch. Protistenk.*, 68: 215-261.
- ESTÈVE, J. C. (1966). Facteurs de groupement en anneau chez *Paramecium*. *Protistologica*, 2 (4): 95-100.
- ESTÈVE, J. C. (1968). Données complémentaires sur le déterminisme du groupement en anneau chez les Paramécies. *Protistologica*, 4 (2): 243-248.
- MOORE, A. (1903). Some Facts concerning the geotropic gathering of *Paramecium*. *An. J. Physiol.* 9: 239-244.
- VIVIER, E. (1960). Contribution à l'étude de la conjugaison chez *Paramecium caudatum*. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 12 (2): 387-506.