

***STIGMATELLA AURANTIACA*, UN MIXOBACTERI AMB ASPECTE DE MIXOMICET, TROBAT AL PARC DE COLLSEROLA (CATALUNYA)**

C. BENITO¹, M. MUNIESA², A. GÓMEZ-BOLEA¹ i X. LLIMONA¹

1.- Departament de Biologia Vegetal (Botànica). Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, ES-08028 Barcelona. E-mail: agomez@ub.edu

2.- Departament de Microbiologia. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, Annex Planta 0, ES-08028 Barcelona. E-mail: mmuniesa@ub.edu

ABSTRACT. *Stigmatella aurantiaca*, a myxomycete-looking myxobacterium, found in Collserola Park (Catalonia). *Stigmatella aurantiaca* has been found on plant debris collected in Collserola, near Barcelona (Catalonia). It belongs to myxobacteria, a group of prokaryotes rarely found forming fruiting bodies in the nature, where it may easily be confused with an immature myxomycete. It forms clusters of tiny fruiting bodies, orange coloured, on white stalks.

Key words: eubacteria, prokaryotes, gram-negative bacteria, Myxococcales, Cystobacteriaceae, Catalonia

RESUM. *Stigmatella aurantiaca*, un mixobacteri amb aspecte de mixomicet, trobat al Parc de Collserola (Catalunya). *Stigmatella aurantiaca* ha estat trobada sobre restes vegetals recol·lectades a Collserola, prop de Barcelona (Catalunya). Es tracta d'un mixobacteri que rarament es pot veure formant cossos fructífers a la natura i es pot confondre fàcilment amb un mixomicet immadur. Forma grups de cossos fructífers molt petits, de color taronja, portats per pedicels blancs.

Paraules clau: eubacteris, procariotes, bacteris gramnegatius, Mixococcales, cistobacteriàcies, Catalunya

RESUMEN. *Stigmatella aurantiaca*, una mixobacteria con aspecto de mixomicete, hallada en el Parque de Collserola (Cataluña). *Stigmatella aurantiaca* ha sido encontrada sobre restos vegetales recolectados en Collserola, cerca de Barcelona (Cataluña). Se trata de una mixobacteria que raramente se puede ver formando cuerpos fructíferos en la naturaleza y que fácilmente se puede confundir con algún mixomicete inmaduro. Forma grupos de diminutos cuerpos fructíferos de color naranja, sostenidos por pedicelos blancos.

Palabras clave: eubacterias, procariotas, bacterias gramnegativas, Mixococcales, cistobacteriáceas, Cataluña

INTRODUCCIÓ

En l'àmbit de la recerca que estem duent a terme, sobre els micromicets que viuen associats a arbres i arbustos, sovint hem de mostrejar el sòl i les restes vegetals que el cobreixen, lloc on habitualment hi creixen fongs com *Orbilia sarraziniana*, *Mollisia melaleuca*, *Discosia vagans*, *Dacrymyces stillatus* o *Coccomyces delta*, entre molts altres. Una de les tècniques que habitualment fem servir consisteix en portar les restes vegetals (en especial branques i branquillons) al laboratori, rehidratar-les i posar-les en cambra humida, per tal de forçar la fructificació dels fongs que hi són presents i fer així possible llur identificació. A l'escorça de branquillons de *Quercus ilex* recollits del terra al Torrent de les Tres Serres, al Parc de Collserola, i mantinguts una setmana en cambra humida, s'hi observaren uns agregats mucilaginosos, a partir dels quals es formaren unes estructures semblants als esporangis d'algun mixomicet (vegeu Fig. 1), però que en realitat corresponen a un mixobacteri. Les fructificacions es van formar tant sobre la superfície de l'escorça com sobre el tal·lus del líquen *Xanthoria parietina*, que hi creixia damunt.

MATERIALS I MÈTODES

Els cossos fructífers del mixobacteri es van estudiar amb l'ajut de la lupa estereoscòpica (Olympus SZ60) i del microscopi òptic (Zeiss Axioscope). Les preparacions microscòpiques es van muntar en vermell Congo. Es van aïllar els cossos fructífers amb una nansa estèril. Se'ls va resuspendre en 0,2 ml de tampó PBS. Una fracció de 0,1 ml de la mostra es va lissar a 95° C, i se'n va recuperar l'ADN. La segona fracció de 0,1 ml de la mostra es va utilitzar per inocular el medi VY/2 AGAR, (llevat 5 g/L, CaCl₂·2H₂O 1,36 g/L, vitamina B12: 0,5 mg/L i agar 15 g/L) que es va incubar a 30° C durant 72 hores. Les colònies que hi van créixer, de coloració taronja i sospitoses de pertànyer al bacteri en estudi, es van tornar a inocular en cultiu pur, en les mateixes condicions. A partir de les noves colònies obtingudes, es va procedir a extreure l'ADN que, posteriorment, es va amplificar. L'amplificació es va fer de la regió genòmica corresponent al 16S del RNA ribosòmic amb els encebadors 27f/1492r (modificats a partir dels usats amb els eubacteris, descrits a WEISBURG *et al.*, 1991). L'amplímer obtingut, tant del material provinent de la mostra primària com del cultiu pur, es va purificar amb el kit QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen Inc., Valencia, USA), seguint les instruccions del fabricant, i es va seqüenciar amb els mateixos encebadors. La seqüenciació es va realitzar amb el kit ABI PRISM Big Dye 3.1 Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Perkin Elmer, Applied Biosystems) en un ABI PRISM 3730 DNA Analyzer (Perkin Elmer, Applied Biosystems). Les seqüències es van realitzar per duplicat. La comparació de la seqüència obtinguda per nosaltres amb les seqüències dipositades a les bases de dades de EMBL i GenBank es van portar a terme amb l'aplicació BLAST, disponible a *the National Institutes of Health (NIH)* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

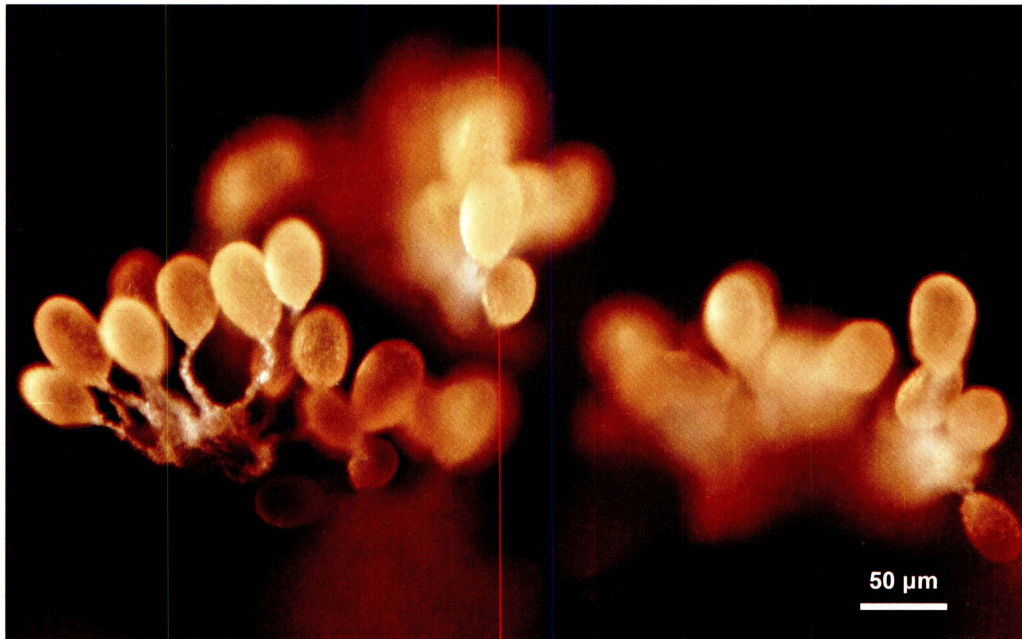


Fig. 1. Fructificació de *Stigmatella aurantiaca*, on podem diferenciar els cossos fructífers o “sorus”, més o menys agrupats a sobre pedicels blancs.

RESULTATS

Hem identificat el material com *Stigmatella aurantiaca* Berkeley & Curtis in Berkeley (BERKELEY, 1857: 313), el material estudiat ha quedat dipositat al Herbari BCN, del Centre de Documentació de Biodiversitat Vegetal (CeDocBiV), de la Universitat de Barcelona. La seqüència del material de la mostra primària va revelar un 95 % de coincidència, i les del cultiu pur, un 94% de coincidència, amb el mixobacteri *Stigmatella aurantiaca* (AJ233935). Tant una seqüència com l'altra van presentar un 93% de coincidència amb *Stigmatella erecta* (DQ768128) i amb *Stigmatella hybrida* (DQ768129), ja que hi ha una gran homologia (99,4 %) en la seqüència del 16S rRNA de les tres espècies.

DESCRIPCIÓ. Pedicels de color blanc, de 70 µm d'alt per 4-5 µm d'ample, de vegades confluents a la base i més rarament ramificats; que sostenen cossos fructífers o "sorus" de color taronja, de forma el·lipsoïdal fins a ovoïde, de 47-60 × 32-37 µm (Fig. 1). Les observacions microscòpiques, mostren que tant els estípits com els "sorus" estan constituïts per una massa de bacteris, bacil·lars, de 3-4 × 1 µm (Figs. 2 A i B), anomenats mixòspores (GARRITY et al. 2005). Les cèl·lules vegetatives, observades a partir del cultiu, són molt més llargues i primes que les mixòspores, i lleument subfusiformes o apicalment atenuades, 5-10 (-13) × 0,7-0,8 µm (Figs. 2 C, D, i E). Aquests caràcters encaixen plenament amb la descripció de *Stigmatella aurantiaca*, llevat de la llargada de les cèl·lules vegetatives que a la bibliografia (REICHENBACH & DWORKIN, 1969 i GARRITY et al. 2005) les situen entre 4 i 8,4 µm de llargada. En el nostre material, fan de 6-10 (excepcionalment, 13) µm de llargada.

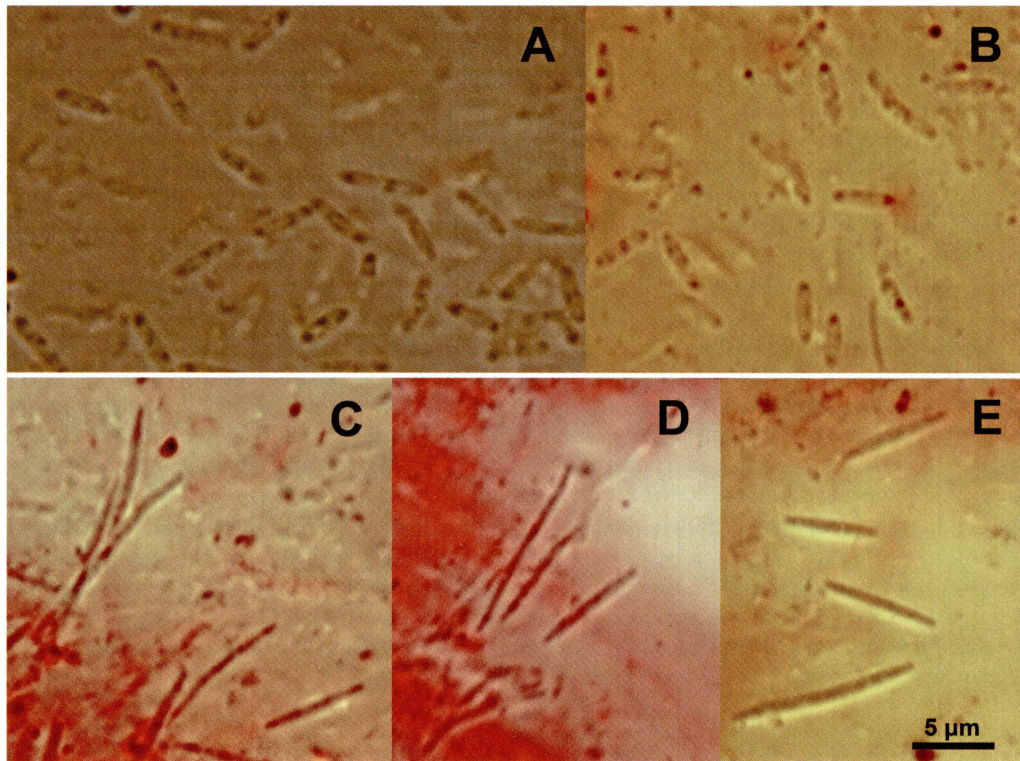


Fig. 2. *Stigmatella aurantiaca*. A i B) Mixòspores que formen els "sorus". C, D i E) Cèl·lules vegetatives que es formen en cultiu. Tinció amb vermell Congo. Barra = 5 µm per tota la figura.

HÀBITAT. L'hàbitat preferent sembla que és la superfície de la fusta en descomposició que roman al sòl (REICHENBACH & DWORKIN, 1969 i GARRITY *et al.* 2005). Però a la citació original (BERKELEY, 1857), es menciona un hàbitat molt específic, sobre "*Sphaeria hibisci*", que probablement pot correspondre a *Aplosporella hibisci* (Berk.) Petr. & Syd., un anamorf lignícola que viu sobre fusta de *Hibiscus syriacus*. Anys més tard, el mateix autor (BERKELEY, 1875), la cita també sobre un líquen, sense donar més detalls. Nosaltres l'hem trobat sobre l'escorça de branques mortes de *Quercus ilex*, que hi havia a terra. Els cossos fructífers es van formar tant sobre l'escorça com sobre el tal·lus de *Xanthoria parietina*, que vivia sobre la mateixa escorça.

DISTRIBUCIÓ. La primera citació (BERKELEY, 1857) és de Carolina del sud. REICHENBACH & DWORKIN (1969) la varen trobar freqüentment, a Minneapolis i Minnesota, després de pocs dies d'incubació en cambra humida, i només ocasionalment la citen com a fructificada a la natura. GARRITY *et al.* (2005) afirmen que és una espècie molt comuna al mig oest dels Estats Units, però que sembla molt rara en altres llocs, i recullen les citacions d'altres autors de Polònia i Alemanya.

OBSERVACIONS. Els mixobacteris se situen actualment en el filum dels proteobacteris (*Proteobacteria*), més concretament, a l'ordre de les myxococcales (*Myxococcales*), un grup de bacteris gramnegatius freqüent en el sòl, caracteritzat per tenir el genoma bastant més gran que el dels altres bacteris (més del doble del d'*Escherichia coli*). *Stigmatella aurantiaca* ha estat molt utilitzat als laboratoris de microbiologia, sobretot per l'interès que desperta la gran mobilitat que té en fase vegetativa, deguda a l'extrusió de polímers mucilaginosos, que provoquen un moviment de lliscament dels agregats de cèl·lules. Aquest moviment és, fins a un cert punt, paral·lel a com ho fan alguns mixomicets (dictiosteliomicets), que són, però, eucariotes. També ha estat estudiat per la seva capacitat de síntesi dels pigments que donen color als cossos fructífers.

Quan *Stigmatella aurantiaca* es va publicar per primera vegada (BERKELEY, 1857), només es va acompanyar d'un dibuix. L'autor la va incloure en els hifomicets (Isariacei), pensant que era un fong. Anys després, el mateix autor la continuava considerant un fong (BERKELEY 1875) ja que la va citar, aquesta vegada acompanyada d'una breu descripció, en un article sota el títol de "Notices of North American Fungi". No va ser fins l'any 1892 que, el gran micòleg americà Roland Thaxter (1858-1932), la va reconèixer com a un mixobacteri, és a dir, pertanyent a un grup de bacteris ben diferenciats i caracteritzats (REICHENBACH & DWORKIN, 1969).

La raó per la qual es pot confondre *Stigmatella aurantiaca* amb un mixomicet és evident, ja que les estructures reproductores que forma el mixobacteri semblen realment esporocarps pedicel·lats com els que produeixen molts mixomicets, si bé de mida més petita. Hi ha diferències macroscòpiques que poden ajudar a decidir si es tracta d'un mixobacteri o no. Deixant de banda la mida, els esporocarps dels mixomicets van deixant d'ésser translúcids a mesura que maduren, i formen un peridí més o menys consistent i molt sovint, contenen un capil·lici filamentós. En el cas de *Stigmatella*, en canvi, encara que maduri, el cos fructífer conserva la transparència i pren un color taronja molt viu, que normalment no es troba en els mixomicets madurs.

Microscòpicament, la diferència entre ambdós tipus d'organismes és molt més clara. A *Stigmatella aurantiaca* es veu que la massa basal i els seus pedicels estan formats per agregats de bacteris bacil·lars. En els mixomicets, l'estípit pot ser massís o tubulós, però en cap cas estarà integrat per bacteris, les seves espores acostumen a ésser esfèriques, i mai no són bacil·lifformes. Entre els gèneres més freqüents de mixobacteris que es poden isolar del sòl, hi ha *Myxobacterium* i *Chondromyces*.

AGRAÏMENTS

Volem agrair al Consorci del Parc de Collserola, el suport econòmic mitjançant els convenis de col·laboració establerts.

BIBLIOGRAFIA

- BERKELEY, M.J. (1857).- *Introduction to Cryptogamic Botany*. H. Bailliere Publisher. London. 604 pp.
- BERKELEY, M.J. 1875. Notices of North American Fungi (cont.). *Grevillea*, 3: 97-112.
- GARRITY, G.M., D.J. BRENNER, N.R. KRIEG & J.T. STALEY. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume Two: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta, and Epsilonproteobacteria. Springer - Verlag.
- REICHENBACH, H. & M. DWORKIN. 1969. Studien on *Stigmatella aurantiaca* (Myxobacteriales). *J. gen. Microbiol.*, 58: 3-14.
- WEISBURG, W.G., S.M. BARNS, D.A. PELLETIER & D.J. LANE. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.*, 173(2): 697-703.