

El ciclo de vida de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales): variaciones en el patrón reproductivo e implicancias genéticas*

The life history of *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales): deviations in the reproductive pattern and genetic implications

ARTURO CANDIA

Departamento de Biología y Tecnología del Mar, Pontificia Universidad Católica de Chile,
Sede Talcahuano, Casilla 127, Talcahuano, Chile

RESUMEN

Cinco ápices podados de talos tetrasporofíticos y cinco de talos gametofíticos femeninos de *Gracilaria*, obtenidos en laboratorio, fueron cultivados en forma separada cada fase en las salinidades de: 10, 20, 30 y 40‰, con medio enriquecido Provasoli. Después de 45 días en cultivo, a 20‰, se observó que tres talos tetrasporofíticos y 4 talos gametofíticos femeninos formaron espermatangios como estructuras reproductivas. La misma variación reproductiva fue observada a 30‰ en 2 talos tetrasporofíticos y en 3 talos femeninos. Carencia de citoquinesis y recombinación mitótica, ya observados en otras especies de *Gracilaria*, explicarían los cambios reproductivos observados en estos ápices. Se discuten las implicancias reproductivas y genéticas de estas variaciones en las poblaciones de *Gracilaria*.

Palabras claves: *Gracilaria*, ciclo de vida, cambios reproductivos, espermatangios, fases mezcladas.

ABSTRACT

Tips cut from tetrasporophytic and female gametophytic thalli obtained in the laboratory were cultured under different salinity conditions (10, 20, 30 and 40‰). For each treatment five tips were maintained in Provasoli medium. After 45 days in the treatment at 20‰, three tetrasporophytic thallus changed to male and four of the original female gametophytic thallus ended as male gametophytes; at 30‰ the observed changes were two and three, respectively. In the newly obtained male gametophytes, spermatangia were observed to develop. The absence of cytokinesis and mitotic recombination, already recorded previously in other *Gracilaria* species, would explain the observed reproduction changes. Reproductive and genetic implications of these variations in populations of *Gracilaria* are discussed.

Key words: *Gracilaria*, life-history, reproductive variations, spermatangia, mixed phases.

INTRODUCCION

El ciclo de vida de las especies de *Gracilaria* Greville, tanto si es obtenido en laboratorio u observado en poblaciones naturales, presenta una secuencia de fases del tipo *Polysiphonia* con una fase gametofito haploide y dioico, una fase tetrasporofito diploide morfológicamente igual e independiente del gametofito y una tercera generación carposporofito diploide, reducido a parásito sobre el gametofito femenino (Kim 1970, Ogata *et al.* 1972, McLach-

lan & Edelstein 1977, Bird *et al.* 1977, Kim & Candia 1977, Oliveira & Plastino 1984, Gargiulo *et al.* 1985, Bird *et al.* 1986, Moller y Westermeier 1988, Candia 1988).

Presencia de 2 a 3 fases en un mismo talo y cambios en la secuencia reproductiva del ciclo (gametofito-carposporofito-tetrasporofito) han sido observados en diferentes especies de *Gracilaria*, principalmente en condiciones de laboratorio. Se ha descrito: presencia en talo tetrasporofito de estructuras reproductivas masculinas, femeninas y carposporangios en diferentes ramificaciones del talo; desarrollo secuencial de estructuras masculinas, femeninas y tetrasporangios en un mismo lugar del talo; formación de espermatangios en gametofi-

* Trabajo presentado en el IV Simposio sobre Algas Marinas Chilenas (30 de agosto a 1 de septiembre, 1989. Coquimbo, Chile).

(Recibido el 24 de enero de 1990.)

to femenino o en talo tetrasporofito; formación de tetrasporangios en talos femeninos o masculinos. Estas desviaciones del patrón reproductivo de *Gracilaria* han sido relacionadas con: germinación *in situ* de tetrásporas sobre el talo tetrasporofito, coalescencia en la germinación de esporas, carencia de citoquinesis durante la meiosis en el tetrasporangio y recombinación mitótica (Kim 1970, Cabioch 1972, Van der Meer 1977, Van der Meer & Todd 1977, Oliveira & Plastino 1984, Plastino & Oliveira 1988).

Estudios experimentales realizados en laboratorio, para conocer el efecto de la salinidad en el crecimiento de talos de variantes fenotípicas de *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan & Oliveira, permitieron observar cambios en la condición reproductiva de los talos cultivados, que no correspondían a la fase de la cual se habían podado. Estas observaciones coinciden con lo reportado en la literatura, sobre las variaciones en la reproducción de *Gracilaria*. El objetivo del trabajo es analizar las implicancias de estas variaciones en la reproducción y genética de *G. chilensis*.

MATERIALES Y METODOS

Las variaciones reproductivas ocurridas en talos de diferentes fases de *G. chilensis* fueron observadas en una experiencia desarrollada en laboratorio, para conocer el efecto de la salinidad en el crecimiento de talos con diferente morfología (morfotipos) de esta especie. Específicamente en la variante morfológica caracterizada como morfotipo M3 (Candia *in litteris*).

En la experiencia se utilizaron ápices inmaduros de la fase tetrasporofito y de la fase gametofito femenino, obtenidas en cultivos uniales a partir del desarrollo de esporas de los morfotipos recolectados en la Bahía San Vicente (36°45'S; 73°10'W). Cinco talos de 1 cm de largo de cada fase y de cada morfotipo fueron instalados en cápsulas Petri (100 x 20 mm), con medio enriquecido Provasoli y cultivados en las siguientes condiciones: 15°C; 16 horas luz, 8 horas oscuridad, una densidad de flujo fotónico de 20 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$

y en las salinidades de 10, 20, 30 y 40‰.

La formación y maduración de las estructuras reproductivas en cada talo cultivado fueron evaluadas con lupa estereoscópica. Para corroborar las observaciones se elaboraron preparaciones semipermanentes y se examinaron al microscopio.

RESULTADOS Y DISCUSION

Después de 45 días de cultivo los talos podados de fase tetrasporofito y de fase gametofito femenino medían como promedio 6 y 4 cm a 20 y 30‰, respectivamente, y 3 cm a 10 y 40‰. De los 5 talos de fase tetrasporofito cultivados, 3 talos formaron espermatangios a 20‰ y 2 talos a 30‰. En la fase gametofito femenino se observó que 4 y 3 talos formaron espermatangios a 20 y 30‰, respectivamente. No se observó cambio de fase o de sexo en los talos cultivados a 10 y 40‰.

La ocurrencia de 2 a 3 fases en una misma planta o en una misma zona de la planta o ramificación (mezcla de fases) ha sido mencionada en la literatura (Cabioch 1972, Van der Meer 1977, Van der Meer & Todd 1977, Oliveira & Plastino 1984). En los cultivos no se observó la presencia de dos o tres fases en un mismo talo, sino que ocurrió un cambio de sexo (femenino a masculino) o de fase (tetrasporofito a masculino), es decir, la formación en todo el talo de un solo tipo de estructura reproductiva, en este caso espermatangios. Estos mostraron una disposición en conceptáculos tipo "textorii". Explicaciones a estos cambios no pueden ser dadas por la germinación *in situ* de tetrásporas o coalescencia de esporas en su germinación, debido a que los ápices de cada fase fueron podados desde talos previamente identificados y separados, cuando presentaban estructuras reproductivas maduras y características de cada fase y luego dejadas en cultivos por varios meses.

La germinación *in situ* de esporas y la coalescencia de esporas pueden explicar la presencia de espermatangios en ramificaciones de talos gametofíticos femeninos

o de talos tetrasporofíticos, observadas por el autor y colaboradores en talos de *Gracilaria* recolectados en ambientes estuarino o intermareal de las siguientes localidades: Coliumo (36°32'S; 73°10'W), Cerro Verde (36°41'S; 72°58'W), Estero Lengua (36°46'S; 73°10'W), Laraquete (37°10'S; 73°10'W), Maullín (41°37'S; 73°35'W) y Río Quilo (41°51'S; 73°58'W). En estos ambientes las poblaciones de *Gracilaria* están adheridas a sustrato rocoso y presentan todas las fases del ciclo de vida. Además están sujetas a marcadas fluctuaciones ambientales de temperatura, iluminación y salinidad, entre otros parámetros (Romo *et al.* 1979; Westermeier *et al.* 1984). De acuerdo a estas observaciones, la ocurrencia de cambios reproductivos estaría influida por factores ambientales. Al respecto, Plastino & Oliveira (1988) observaron que la presencia de espermatangios en talos de la fase tetrasporofito era frecuente en talos cultivados con aireación. La misma condición reproductiva fue observada por Bird & McLachlan (1986) en talos de *Gracilaria* de ambientes estuarinos, al cultivarlos en salinidades superiores a 30‰.

El cambio de sexo ocurrido en los talos femeninos cultivados puede ser consecuencia de la presencia de talos gametofíticos desarrollados a partir de germinación de tetrásporas originadas en un tetrasporangio en que ha ocurrido meiosis y no se ha producido una citoquinesis, formándose células reproductivas con 2, 3 ó 4 núcleos (Van der Meer 1977). Es probable que los talos de los cuales se podaron los ápices se hayan desarrollado desde una tetráspora con 2 a 4 núcleos haploides genéticamente diferentes, producto de meiosis, y que su germinación diera un disco adherente que presente un "mosaico sexual", es decir formaciones celulares (hipotalo y peritalo) sexual y genéticamente distintas. Estos discos posteriormente dan origen a talos o ramificaciones de estos talos con diferente sexo. Como estrategia reproductiva puede ser ventajoso, ya que al ser el talo monoico se favorecería la autofertilización que no conduce a una endogamia, debido a que los talos provienen desde esporas en donde

ha ocurrido meiosis y recombinación, lo que mantendría la variabilidad del genoma de estos talos.

La formación de estructuras reproductivas masculinas y femeninas en un mismo talo puede ser explicada también por los estudios genéticos realizados en *G. tikvahiae* McLachlan (Van der Meer *et al.* 1984, Van der Meer 1986). Se observó que talos masculinos, además de formar espermatangios, presentaban sectores de células somáticas que mediante una mutación recesiva espontánea originaban numerosos cistocarpos, provocando con esto la pérdida de la condición dioica típica de las especies de *Gracilaria*. La base genética del fenotipo bisexual estaría relacionada con la transmisión de esta condición por un solo locus y probablemente la mutación ocurra en un gen que normalmente juega un rol en la supresión de la función femenina durante la diferenciación del talo masculino.

La presencia de estructuras reproductivas masculinas en el talo tetrasporofítico puede ser explicada por el proceso de recombinación mitótica que ocurre en las células somáticas del talo tetrasporofítico; esta recombinación ("crossing-over" somático) hace que a lo largo del talo se diferencien sectores o "patches" cuyas células diploides formen estructuras reproductivas masculinas viables. Este proceso ya observado en poblaciones de *G. tikvahiae* (Van der Meer & Todd 1977, Van der Meer 1981, Patwary & Van der Meer 1984) permitió inferir, a estos investigadores, que la sexualidad en *Gracilaria* está determinada por un par de alelos más que por un par de cromosomas y que existe un estricto control genético de la proporción sexual de 1:1, en la formación de talos masculinos y femeninos, después de la meiosis en el tetrasporangio.

Las consecuencias genéticas de la recombinación mitótica, observada en células somáticas del talo tetrasporofítico, serían aditivas con el de recombinación genética (meiosis) que ocurre también en esta fase durante la formación de tetrásporas. Si la recombinación genética consiste en una reorganización de la información contenida en la molécula de ADN, produce una nue-

va combinación de genes por intercambio de cromosomas homólogos; un efecto similar debería tener la recombinación somática. Ambos procesos contribuirían a mantener la variabilidad genética en las poblaciones de *Gracilaria*, como también su potencial evolutivo.

En resumen, los diferentes mecanismos señalados y que explican los cambios de fases ocurridos indican que la condición reproductiva está determinada en el genoma de cada célula que forma el talo y que aparentemente es un gen el responsable de la totipotencialidad reproductiva existente en cada fase del ciclo de vida de *Gracilaria*. Esta totipotencialidad reproductiva estaría regulada por condiciones ambientales, ya que es en talos que crecen en lugares con fluctuaciones de parámetros ambientales en donde ocurren con mayor frecuencia las variaciones reproductivas. Estas tendrían diferentes consecuencias sobre la variabilidad genética de las poblaciones de *G. chilensis*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Proyecto DIUC 196/84, Dirección de Investigación, Pontificia Universidad Católica de Chile.

LITERATURA CITADA

- BIRD N, J McLACHLAN & D GRUND (1977) Studies in *Gracilaria*. 5. *In vitro* life history of *Gracilaria* sp from the maritime provinces. Canadian Journal of Botany 55: 1282-1290.
- BIRD CJ, J McLACHLAN & EC OLIVEIRA (1986) *Gracilaria chilensis* sp. nov. (Rhodophyta, Gigartinales) from Pacific South America. Canadian Journal of Botany 64: 2928-2934.
- BIRD CJ & J McLACHLAN (1986) The effect of salinity on distribution of species of *Gracilaria* Grev. (Rhodophyta, Gigartinales): An experimental assessment. Botánica Marina 29: 231-238.
- CABIOCH J (1972) Un nouveau cas d'anomalie du cycle des Gigartinales (Algues Floridées). C.R. Acad. Sc. Paris, serie D 275: 1979-1981.
- CANDIA A (1988) Ciclo reproductivo *in vitro* de dos poblaciones de *Gracilaria* Greville (Rhodophyta, Gracilariaceae) de Lengua, Ba. San Vicente. Gayana, Botánica 45: 357-364.
- GARGIULO G, F DE MASI & G TRIPODI (1985) A study on *Gracilaria dendroides* sp. nov. (Gigartinales, Rhodophyta) from the Bay of Naples. British Phycological Journal 20: 357-364.
- KIM DH (1970) Economically important seaweeds in Chile. I. *Gracilaria*. Botánica Marina 13: 140-162.
- KIM DH & A CANDIA (1977) Una nota sobre el cultivo unialgal de *Gracilaria* procedente de la Isla Santa María y Río Tubul, provincia de Arauco, Chile. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción 51: 107-112.
- McLACHLAN J & T EDELSTEIN (1977) Life history and culture of *Gracilaria foliifera* (Rhodophyta) from South Devon. Journal Marine Biology Association U.K. 57: 577-586.
- MOLLER P & R WESTERMEIER (1988) Cultivo de *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta, Gigartinales) en condiciones de laboratorio. Gayana, Botánica 45: 305-308.
- OGATA E, T MATSUI & H NAKAMURA (1972) The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta, Gigartinales) *in vitro*. Phycologia 11: 75-80.
- OLIVEIRA EC & E PLASTINO (1984) The life history of some species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Brazil. Japanese Journal of Phycology (Sorui) 32: 203-208.
- PATWARY UM & JP VAN DER MEER (1984) Growth experiments on autopolyploids of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). Phycologia 23: 21-27.
- PLASTINO E & EC OLIVEIRA (1988) Deviations in the life-history of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinales), from Coquimbo, Chile, under different culture conditions. Hydrobiologia 164: 67-74.
- ROMO H, K ALVEAL & V DELLAROSSA (1979) Biología de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss, en Chile central. Actas del Primer Simposio Algas Marinas Chilenas 1: 155-163.
- VAN DER MEER JP (1977) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales) II. The life-history and genetic implications of cytokinetic failure during tetraspore formation. Phycologia 16: 367-371.
- VAN DER MEER JP & ER TODD (1977) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). IV. Mitotic recombination and its relationship to mixed phases in the life-history. Canadian Journal of Botany 55: 2810-2817.
- VAN DER MEER JP (1981) Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). VII. Further observations on mitotic recombination and the construction of polyploids. Canadian Journal of Botany 59: 787-792.
- VAN DER MEER JP, MU PATWARY & CJ BIRD (1984) Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). X. Studies on a bisexual clone. Journal of Phycology 20: 42-46.
- VAN DER MEER JP (1986) Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). XI. Further characterization of a bisexual mutant. Journal of Phycology 22: 151-158.
- WESTERMEIER R, L STEUBING, P RIVERA & H WENZEL (1984) *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss en la X Región (Maullín y Quenuir-Provincia de Llanquihue), Chile. Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura 5: 419-430.