

## Fenología y ciclo de vida del alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariaceae) en Sucre, Venezuela

Leonor Brito L. & Soraida Silva

Universidad de Oriente. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela. Fax: 58(0293)4512017; perbrica@telcel.net.ve

Recibido 15-I-2004. Corregido 01-IX-2004. Aceptado 29-III-2005.

**Abstract:** Fenology and life cycle of *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariaceae) at Sucre, Venezuela. The aim of this work was to determine the frequency of different reproductive phases and to induce the germination of spores from tetrasporic and cystocarpic *Gracilariopsis tenuifrons* from Chacopata and La Peña, Venezuela, under controlled laboratory conditions (temperature  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12L:12D photoperiod, salinity of  $36 \pm 1$  PSU and irradiance of  $269 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Tetrasporic individuals dominated numerically over gametophytic individuals. The proportion of vegetative algae was very low. Only cystocarpic algae were collected and the spermatangia were absent. Sporulation, germination and formation of algae suggest that they present a Polysiphonia-type life cycle. Algae with reproductive structures were not obtained in the laboratory.

**Key words:** *Gracilariopsis tenuifrons*, phenology, life cycle, Venezuela.

*Gracilariopsis tenuifrons* (Bird *et* Oliveira) Fredericq *et* Hommersand es una especie de alga roja que por su elevada tasa de crecimiento (Lemus 1992) y producción de agar de buena calidad (Brito y Lemus 1998), está siendo objeto de varios estudios biológicos y ecológicos con la finalidad de demostrar su factibilidad económica.

Los estudios sobre las formas de reproducción y fenología, particularmente de especies de algas de importancia económica, suministran información básica para entender el comportamiento de las poblaciones naturales. Así como un soporte racional para desarrollar actividades de maricultura y para dilucidar problemas taxonómicos. Por lo tanto, antes de emprender cualquier trabajo relacionado con cultivo y manejo de algas es importante poseer conocimientos acerca de los aspectos mencionados anteriormente. Los estudios cuantitativos sobre reproducción y estacionalidad de especies de algas rojas tropicales son relativamente escasos. La propagación mediante esporas, el cual es un mecanismo eficiente

de propagación asexual de algas, puede ser considerada como una alternativa al cultivo por trasplante de talos de algas. Este método abre perspectivas para la aplicación de técnicas de manipulación genética y desarrollo de procesos de selección de cepas para la producción de algas de mejor calidad (Alveal *et al.* 1994). Esta técnica ha sido utilizada desde tiempos antiguos por países Asiáticos (Romo-Donoso 1988).

El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de las diferentes fases reproductivas y además inducir la germinación de esporas para observar las fases de desarrollo *in vitro* de la especie agarófito *G. tenuifrons*, con el propósito de contribuir con conocimientos biológicos acerca de su reproducción los cuales servirán de base para investigaciones futuras relacionadas con la misma.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos fueron realizados desde enero hasta diciembre 1994 en las localidades

de La Peña y Chacopata, ubicadas en la costa norte de la Península de Araya, Edo. Sucre, Venezuela a 10°37'22" N y 64°7'30" W y 10°39'54" N y 63°49'33" W, respectivamente. Las algas, aproximadamente 2 kg, fueron recolectadas a mano, colocadas en bolsas plásticas con agua de mar y mantenidas en cavas con hielo hasta su traslado al laboratorio. Para el estudio fenológico, con ayuda de una lupa estereoscópica y microscopio óptico las muestras de *G. tenuifrons* fueron separadas por estadios reproductivos (tetraspóricas y cistocárpicas) conociendo así la variación porcentual de éstas. Además se determinó el porcentaje de algas vegetativas. Posteriormente, se realizaron cortes con un micrótopo de congelación entre 25-30  $\mu\text{m}$ , previa observación de las estructuras reproductivas y coloración con anilina azul al 1%.

Para el seguimiento del ciclo de vida (esporulación, germinación y fases de desarrollo *in vitro*) porciones de talo de aproximadamente 2 cm, de algas tetraspóricas y cistocárpicas de La Peña y tetraspóricas de Chacopata, fueron lavadas cuidadosamente con agua de mar estéril para liberarlas de epífitas y materiales adheridos. Para inducir la esporulación, las porciones reproductivas fueron colocadas sobre cubreobjetos e introducidas en cápsulas de Petri que contenían medio de cultivo Provasoli Sigma Chemical Company a una concentración de 20 ml/l, al cual se le añadió dióxido de germanio (1 mg/l), penicilina (1 mg/l) y cafeína (2 mg/l) con el fin de prevenir el desarrollo de diatomeas, cianobacterias y protozoarios, respectivamente.

Las cápsulas de Petri, 18 en total, conteniendo fragmentos tetraspóricos y cistocárpicas de La Peña, y tetraspóricas de Chacopata, fueron colocadas en una cámara de crecimiento Lab-Line Ambi Hi-Lo Chamber, con una temperatura entre 22-23°C, salinidad entre 35-36 PSU, con un fotoperiodo de 12 luz:12 oscuridad e iluminación suministrada por lámparas de luz fría de 269  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

Al día siguiente se observaron los cubreobjetos de las cápsulas de Petri para determinar si había ocurrido la liberación de esporas. En las cistocárpicas fue fácilmente observable por la

presencia de una mancha rosada en el medio de cultivo. Luego continuaron las observaciones periódicas bajo el microscopio óptico para seguir el desarrollo del proceso. Para esto se fijaron en solución Karo al 50% algunas laminillas con esporas en diferentes estadios de desarrollo. El medio de cultivo y las cápsulas de Petri fueron cambiados cada ocho días, y cuando fue necesario se usó un pincel fino y agua de mar estéril para limpiar las plántulas, sobre todo cuando los cultivos fueron invadidos por cianofitas. El proceso de esporulación, germinación y formación de plántulas de *G. tenuifrons* fue seguido utilizando una cámara Pentax-Z-10- incorporada a un microscopio óptico Kyowa Medilux-12, con la cual se tomaron fotografías del proceso.

## RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos con respecto al porcentaje mensual de las diferentes fases reproductivas de *G. tenuifrons*, se observó que en ambas localidades la proporción de algas tetraspóricas dominó a las gametofíticas variando en La Peña desde un mínimo de 46.83% en febrero a un máximo de 78.95% en abril (Fig. 1), mientras que en Chacopata el menor porcentaje (60.78%) se encontró en junio y el mayor (100%) en mayo (Fig. 2). En

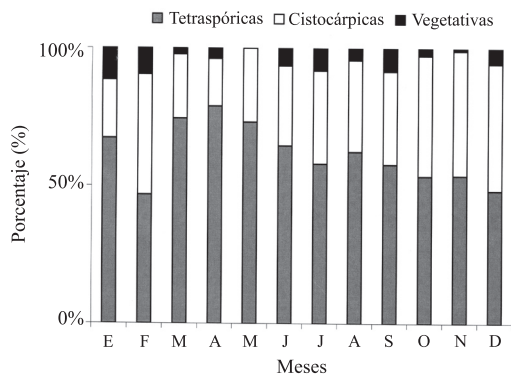


Fig. 1. Fases reproductivas de *Gracilariopsis tenuifrons* en La Peña, Sucre, Venezuela.

Fig. 1. Reproductive phases of *Gracilariopsis tenuifrons* in La Peña, Sucre, Venezuela.

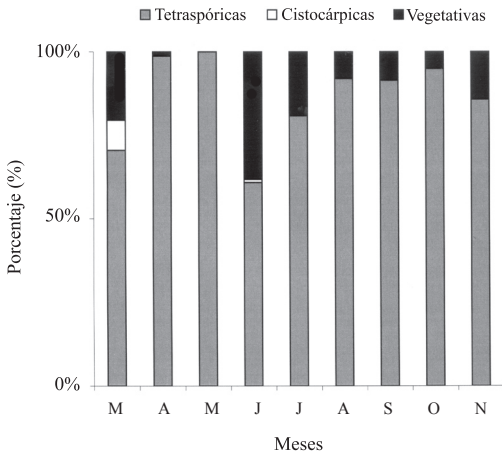


Fig. 2. Fases reproductivas de *G. tenuifrons* en Chacopata, Sucre, Venezuela.

Fig. 2. Reproductive phases of *Gracilariopsis tenuifrons* in Chacopata, Sucre, Venezuela.

relación con la proporción de algas gametofíticas, sólo se colectaron algas cistocárpicas fluctuando en La Peña entre 17.29% para abril y 46.15% para diciembre; y en Chacopata entre 0.98% para junio y 9.09% para marzo. Es de señalar que, en La Peña se encontraron algas cistocárpicas durante todos los meses muestreados, sin embargo, en Chacopata sólo se colectaron en los meses de marzo y junio, aunque en proporciones muy bajas. Durante el período de muestreo no se logró recolectar algas espermatangiales. La proporción de algas vegetativas osciló en La Peña entre 0.84% para noviembre y 11.54% para enero, y en Chacopata entre 1.30% para abril y 38.24% para junio. Es de hacer notar que en Chacopata, durante los meses de diciembre, enero y febrero no se recolectaron muestras de *G. tenuifrons* en el medio natural.

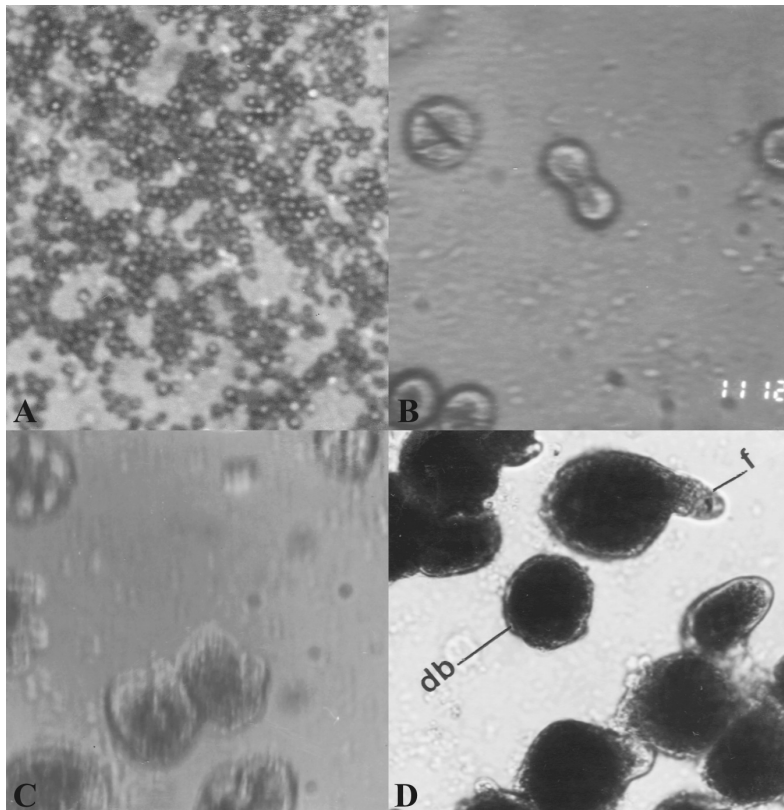


Fig. 3. Fases de desarrollo *in vitro* de *G. tenuifrons*. A. Carposporas liberadas (dos días). B,C. Divisiones de las carposporas (cuatro días). D. Formación del disco basal (db) e inicio de la fronda (f).

Fig. 3. Development phases of *G. tenuifrons* *in vitro*. A. Liberated carpospores (two days). B,C. Divisions of the carpospores (four days). D. Formation of the basal disc (bd) and beginning of the frond (f).

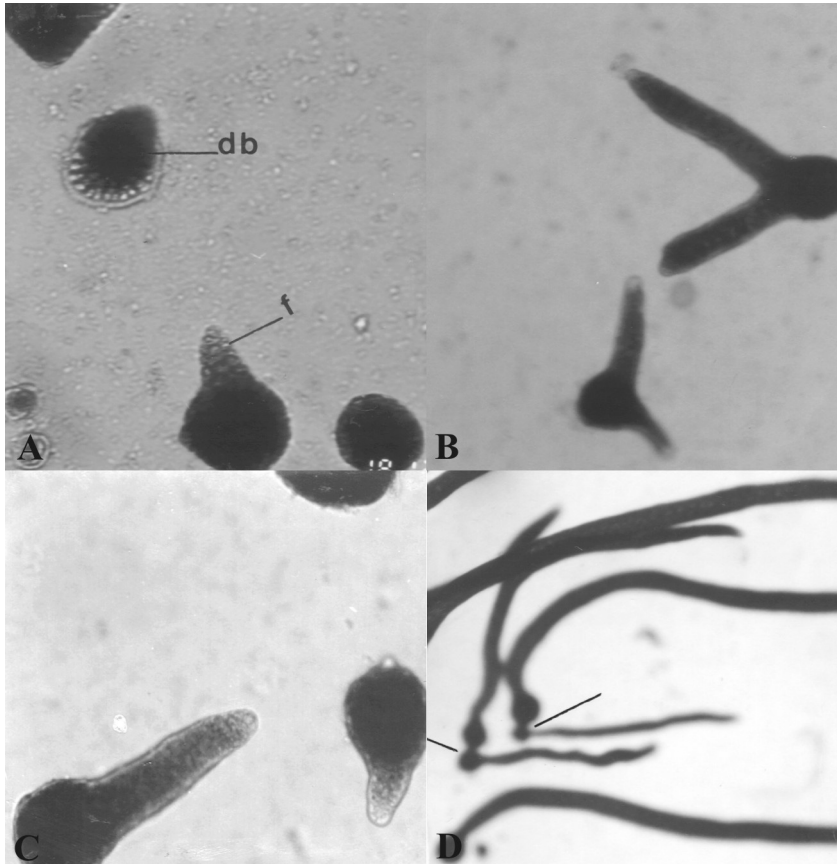


Fig. 4. Fases de desarrollo *in vitro* de *G. tenuifrons*. A. Formación del disco basal (db) e inicio de la fronda (f) (11 días). B. Talos bifurcados más desarrollados (13 días). C, D. Algas de 32 días, se observa fusión de discos basales.

Fig. 4. Development phases of *G. tenuifrons in vitro*. A. Formation of the basal disc (bd) and beginning of the frond (f) (11 days). B. Bifurcate thalli more developed (13 days). C,D. Algae of 32 days, fusion of basal discs are observed.

En las figuras 3 y 4 se muestran algunas etapas de desarrollo del ciclo de vida de *G. tenuifrons*. En general, el proceso de germinación, esporulación y formación de plántulas a partir de tetrasporas y carposporas de *G. tenuifrons*, fue idéntico morfológicamente en ambas localidades, aunque siempre en menor proporción la esporulación a partir de fragmentos tetraspóricos, lográndose a las 48 hr después de sometidos a experimentación.

Las esporas son de forma esférica, adheridas a los cubreobjetos, con abundante mucílago (Fig. 3A). Luego comienzan a sufrir divisiones

anticlinales y periclinales (Figs. 3B, C) (2-16, aproximadamente) hasta formar un disco multicelular más oscuro (Fig. 3D), esto ocurrió aproximadamente a los 8-9 días de sometidas a cultivo, a los 14-15 días del experimento ocurre la formación de la fronda erecta de color más claro (Figs. 4A, B). A veces ocurren fusiones de discos adyacentes, lo que da origen a dos o más frondas (Figs. 4C, D). Continúan desarrollándose hasta formar una plántula con ramificaciones secundarias. En este estudio se logró obtener plántulas de aproximadamente 3 cm de altura provenientes de talos tetrasporofíticos y carposporofíticos.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con respecto a la fenología de *G. tenuifrons* coinciden con los encontrados por Hoyle (1978) en *Gracilaria bursapastoris* y *G. coronopifolia*, Pinheiro-Joventino y Frota-Bezerra (1980) en *G. domingensis*; White *et al.* (1981) en *Gracilaria* (tipo "verrucosa"); Hay y Norris (1984) en *Gracilaria* sp. y *G. domingensis*; Pinheiro-Joventino (1986) en *G. cervicornis*.

Paheco-Ruiz *et al.* (1993) señalan que la influencia de factores bióticos (como el pastoreo) y abióticos (como la acción abrasiva de las partículas en suspensión, el hundimiento de las estructuras reproductoras en el limo o incluso algunas variaciones hidrológicas como salinidad, temperatura, pH), pueden explicar las variaciones estacionales en los porcentajes de plantas tetrasporofíticas y gametofíticas en los sitios de muestreo. La alta mortalidad de talos gametangiales, la ventaja de los organismos diploides sobre los haploides, el desarrollo periódico de tetrasporofitos a partir de tetrasporas mediante apomeiosis, son algunas de las hipótesis que se han señalado para tratar de explicar la dominancia de algas tetrasporofíticas, pero al parecer ninguna explica claramente este hecho. En este estudio, en cultivos que se realizaron en el laboratorio se pudo observar que la mayor esporulación ocurrió a partir de fragmentos de talos gametangiales (cistocápicos), los cuales van a dar origen a algas tetraspóricas, esto podría ser una explicación al predominio de algas tetraspóricas.

En este estudio no se logró el ciclo de vida completo de *G. tenuifrons*. Bird *et al.* (1977) en *Gracilaria* sp. lo lograron en ocho meses; Bird *et al.* (1982) señalan que en *Gracilaria verrucosa* el ciclo fue completado en diez meses; Moller y Westermeier (1988) en *G. chilensis* lo consiguieron en seis meses y medio. Para especies del Orden Gracilariales, específicamente del género *Gracilaria*, varios autores reportan un ciclo de vida tipo *Polysiphonia* (Ogata *et al.* 1972, Bird *et al.* 1977, Mc Lachlan y Edelstein 1977, Oliveira y Plastino, 1984, Plastino y Oliveira, 1988). La presencia de fases gametofítica y tetrasporofítica en el medio

natural sugieren que *Gracilariopsis* al igual que *Gracilaria* posee el típico ciclo de vida tipo *Polysiphonia*, en el cual las fases gametofítica haploide y la tetrasporofítica diploide son de vida libre y morfológicamente idénticas, mientras que la carposporofítica diploide es dependiente del gametofito femenino, es decir, aunque no se logró el ciclo completo, *G. tenuifrons* presenta un ciclo de vida trifásico isomórfico. Bird *et al.* (1977) al igual que Hurtado-Ponce (1993) señalan que la germinación de las carposporas y tetrasporas en *Gracilaria* es del tipo *Dumontia*, en el cual una espora se divide formando un disco multicelular el cual sirve como órgano de fijación para el desarrollo de la fronda erecta desde su región central. Este mismo tipo de desarrollo fue observado en *Gracilariopsis tenuifrons*.

La salinidad, la temperatura, la irradiación, así como el suministro de nutrientes, han sido señalados como los principales factores que influyen en el desarrollo del ciclo de vida de las algas marinas. En *G. tenuifrons*, no se puede aseverar enfáticamente cuál de estos factores es el que afecta el ciclo vital de esta especie. Sería recomendable probar varios niveles y combinaciones de éstos para afirmar con seguridad cuál o cuáles son los que afectan el desarrollo del proceso. Pero como lo señalan varios autores, y por los resultados obtenidos, la salinidad y la temperatura parecen ser los factores que más influyen en el ciclo vital de *G. tenuifrons*.

Bird *et al.* (1977) indican que la temperatura fue el factor determinante para la germinación de las esporas, aunque la luz y temperatura influyen en la rapidez del subsecuente desarrollo de las mismas. Moller y Westermeier (1988) señalan que la temperatura es decisiva para la formación de estructuras reproductivas en *Gracilaria chilensis*. Bellorín y Lemus (1997) estudiaron el efecto de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento *in vitro* de *G. tenuifrons* demostrando que no existe un efecto sinérgico entre estos factores. Rabanal *et al.* (1997) encontraron que en *Gracilariopsis bailinae*, el fotoperiodo, la temperatura, salinidad y nutrientes son factores críticos que afectan el crecimiento de las esporas y que los niveles de luz estudiados son menos importantes. También

indican que las diferentes especies tienen requerimientos distintos para la reproducción.

Las algas vegetativas obtenidas en cultivo son similares morfológicamente a las encontradas en el medio natural. De acuerdo con la bibliografía consultada, en Venezuela no se tienen referencias sobre trabajos realizados sobre el ciclo vital de *G. tenuifrons*, por lo que éste constituye el primer intento sobre cultivo *in vitro* en esta especie.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al personal del Laboratorio de Botánica Marina del Instituto Oceanográfico de Venezuela, al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto CI-5-009-00633/94-95) y a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de las fases reproductivas e inducir la germinación de esporas de algas tetraspóricas y cistocárpicas de *Gracilariopsis tenuifrons*, provenientes de Chacopata y La Peña, Venezuela, en condiciones controladas de laboratorio (temperatura  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo 12L:12O, salinidad de  $36 \pm 1$  PSU e irradiación de  $269 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). La proporción de algas tetrasporofíticas dominó a las gametofíticas. Las vegetativas tuvieron proporciones muy bajas. Solamente se recolectaron algas cistocárpicas: las espermatangiales estuvieron ausentes. La esporulación, germinación y formación de plántulas sugieren que esta especie presenta un ciclo de vida tipo *Polysiphonia*. En el laboratorio no se produjeron algas con estructuras reproductivas.

**Palabras clave:** *Gracilariopsis tenuifrons*, fenología, ciclo de vida, Venezuela.

## REFERENCIAS

Alveal, K., R. Romo, C. Werlinger & M. Nuñez. 1994. Uso de esporas como alternativa de propagación masiva de macroalgas. *Rev. Investig. Cient. Tecnol. Ser. Cienc. Mar.* 3: 77-87.

- Bellorín, A. & A. Lemus. 1997. Efecto de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento *in vitro* del alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Bird & Oliveira) Fredericq & Hommersand (Gracilariales, Rhodophyta). *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente* 36: 61-67.
- Bird, C., J. Van Der Meer & J. McLachlan. 1982. A comment on *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. (Rhodophyta: Gigartinales). *J. Mar. Biol. Ass. Reino Unido* 62: 453-459.
- Bird, N., J. McLachlan & D. Grund. 1977. Studies on *Gracilaria*. 5. *In vitro* life history of *Gracilaria* sp. from the Maritime Provinces. *Can. J. Bot.* 55: 1282-1290.
- Brito, L. & A. Lemus. 1998. Variación anual en el rendimiento y fuerza de gel del agar de *Gracilariopsis tenuifrons* (Bird et Oliveira) Fredericq et Hommersand de la Península de Araya, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente* 37: 74-79.
- Hay, M. & J. Norris. 1984. Seasonal reproduction and abundance of six sympatric species of *Gracilaria* Grev. (Gracilariaceae, Rhodophyta) in a Caribbean subtidal sand plain. *Hydrobiologia* 116/117: 63-94.
- Hoyle, M. 1978. Reproductive phenology and growth rates in two species of *Gracilaria* from Hawaii. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 35: 273-283.
- Hurtado-Ponce, A. 1993. Carpospore germination and early stages of development in *Gracilaria edulis* (Gmelin) Silva and *Gracilaria rubra* Chang et Xia (Gracilariales, Rhodophyta). *Philipp. Sci.* 30: 34-40.
- Lemus, A. 1992. Ensayos de cultivo de la agarofita *Gracilariopsis tenuifrons* (Bird et Oliveira) Fredericq et Hommersand (Rhodophyta) en el Oriente de Venezuela. *Mem. VII Simp. Latinoamer. Acuicultura Barquisimeto, Venezuela*. Pp. 140-148.
- McLachlan, J. & T. Edelstein. 1977. Life-history and culture of *Gracilaria foliifera* (Rhodophyta) from South Devon. *J. Mar. Biol. Ass. Reino Unido* 57: 577-586.
- Moller, P. & R. Westermeier. 1988. Cultivo de *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta Gigartineae) en condiciones de laboratorio. *Gayana Bot.* 45: 305-308.
- Ogata, E., T. Matsui & H. Nakamura. 1972. The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) *in vitro*. *Phycologia* 11: 75-80.
- Oliveira, E. & E. Plastino. 1984. The life history of some species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Brazil. *Jpn. J. Phycol.* 32: 203-208.
- Pacheco-Ruiz, Y., J. Zertuche-González & R. Aguilar-Rosas. 1993. Ecología reproductiva de *Gracilaria pacifica* Abbott (Gracilariales, Rhodophyta) en el Estero de Punta Banda, México. *Cienc. Mar.* 20: 33-41.

- Plastino, E. & E. Oliveira. 1988. Deviations in the life-history of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinales) from Coquimbo, Chile under different culture conditions. *Hydrobiologia* 164: 67-74.
- Pinheiro-Joventino, F. & C. Frota-Bezerra. 1980. Estudo de fenologia e regeneracao de *Gracilaria domingensis* Sonder (Rhodophyta, Gracilariaceae), no Estado do Ceará Brasil. *Arch. Cienc. Mar.* 20: 33-41.
- Pinheiro-Joventino, F. 1986. Ecological studies on *Gracilaria cervicornis* (Turn.) J. Ag. in Ceará State, Brazil. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 12: 87.
- Rabanal, S., R. Azanza & A. Hurtado-Ponce. 1997. Laboratory Manipulation of *Gracilariopsis bailinae* Zhang et Xia (Gracilariales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 40: 547-556.
- Romo-Donoso, H. 1988. Cultivo de algas mediante esporas. *Invest. Pesq.* 35: 89-98.
- White, J., R. Saunders & J. Lindsay. 1981. Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar, from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria (verrucosa)* type). *Bot. Mar.* 23: 493-501.

