

Desarrollo de gametófitos y tetrasporófitos de *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinaceae, Rhodophyta) en cultivo, bajo diferentes niveles de irradiancia

M.G. TASENDE & M.I. FRAGA

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela
15706 Santiago de Compostela

(Recibido, marzo de 1999. Aceptado, junio de 1999)

Resumen

TASENDE, M.G. & FRAGA, M.I. (1999). Desarrollo de gametófitos y tetrasporófitos de *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinaceae, Rhodophyta) en cultivo, bajo diferentes niveles de irradiancia. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 9: 11-19

Se estudió la influencia de 5 niveles de irradiancia (10, 20, 30, 60 y 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sobre: tasa de germinación de carpósporas y tetrásporas, crecimiento de la primera fronde, porcentaje de frondes primarias desprendidas del disco basal, número medio de frondes por disco y tasa de mortalidad, de las generaciones gametofítica y tetrasporofítica. Irradiancias de 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fueron las más favorables tanto para la germinación de carpósporas y tetrásporas, como para el crecimiento y desarrollo de las fases gametofítica y tetrasporofítica, mientras que niveles iguales o superiores a 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ provocaron la muerte de esporas y plántulas. Bajo el mismo nivel de irradiancia, el desarrollo de los gametófitos fue en general más lento, de mayor duración y más homogéneo que el de los tetrasporófitos.

Palabras clave: *Chondrus crispus*, espora, gametófito, tetrasporófito, crecimiento, germinación, irradiancia, mortalidad.

Abstract

TASENDE, M.G. & FRAGA, M.I. (1999). Development of gametophytes and tetrasporophytes of *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinaceae, Rhodophyta) in culture, under different irradiance levels. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 9: 11-19

The influence of five different irradiance levels (10, 20, 30, 60 y 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) on: germination of carpospores and tetraspores, development of the first frond of gametophytes and tetrasporophytes, percentage of first fronds removed from the basal discs, average of fronds number per basal disc and mortality rates for both generations, gametophytes and tetrasporophytes, was studied. Irradiances of 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ were the most favourable as well as for spores germination as for gametophytes and tetrasporophytes development, while irradiances of 60 and 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ were lethal to the spores and sporelings. Under the same irradiance level, gametophytes development was generally slower, longer and more homogeneous than tetrasporophytes development.

Key words: *Chondrus crispus*, development, gametophyte, spore, tetrasporophyte, germination, irradiance, mortality.

INTRODUCCIÓN

Es evidente que el nivel de irradiancia es un factor de gran importancia en el desarrollo de la mayoría de las algas macroscópicas marinas. Con frecuencia se ha observado que los niveles óptimos de la misma no sólo varían de una especie a otra, sino también dentro del mismo taxon, en función de los estadios de desarrollo de los talos, de las distintas generaciones que forman parte del ciclo biológico y de otros factores ambientales tales como fotoperíodo, temperatura, nutrientes y salinidad.

Estudios realizados en poblaciones naturales de *Chondrus crispus* han mostrado diferencias en la distribución y desarrollo de gametófitos y tetrasporófitos, en profundidad, relacionadas con variaciones de iluminación, además de otros factores (LAZO *et al.*, 1989; FERNÁNDEZ & MENÉNDEZ, 1991; LINDGREN & ABERG, 1996).

Los datos bibliográficos sobre el papel de la irradiancia en cultivos de laboratorio de esta especie, son bastante contradictorios. Aunque en ocasiones se ha considerado que los niveles de irradiancia óptimos en experimentos con fotoperíodos cortos son más elevados que con fotoperíodos largos, también se han observado notables diferencias bajo el mismo fotoperíodo. Así con períodos de iluminación de 16 horas, los valores óptimos de irradiancia para la germinación y el crecimiento varían, según los autores, entre 20 y 140 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (PRINCE, 1971; PRINCE & KINGSBURY, 1973; BIRD *et al.*, 1979; GUIRY, 1979; CHEN & TAYLOR, 1980; McLACHLAN *et al.*, 1988, 1989; TASENDE & FRAGA, 1992, 1997). En algunos de estos trabajos sólo se hace referencia a la generación gametofítica (BIRD *et al.*, 1979) o tetrasporofítica (BURNS & MATHIESON, 1972).

Dado que en general cuando se interpretan resultados de cultivos en laboratorio, es muy difícil conocer con certeza cuáles son los niveles óptimos de irradiancia, debido a su interacción con otras variables del cultivo y a la imposibilidad de lograr el número de repeticiones suficientes para analizar cada variable por separado y todas las interacciones posibles, hemos conside-

rado que manteniendo constantes todas las condiciones de cultivo, excepto los niveles de irradiancia, se podrá llegar a conocer mejor la influencia de los mismos en el desarrollo de las generaciones gametofítica y tetrasporofítica, siendo éste el principal objetivo del presente trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Esporas de *C. crispus* fueron obtenidas a partir de frondes recolectadas en una población natural, ubicada en la franja intermareal de un área rocosa de la ría de Muros (A Coruña). En el laboratorio se separaron los gametófitos femeninos portadores de cistocarpos de los tetrasporófitos fructificados y se mantuvieron aislados hasta la liberación de las esporas, que se inició a las 24 h de la instalación de las frondes en las cámaras de cultivo (Sherer, mod. Cel 37-14). Las esporas fueron transferidas a portaobjetos estériles (25 x 75 mm), sobre los que se fijaron, usando la técnica descrita por BHATTACHARYA (1985).

Se realizaron 10 series de cultivo, 5 con carposporas y otras 5 con tetrasporas. Cada serie se desarrolló en una placa Petri (10 x 15 mm) en la que fueron introducidos dos portaobjetos, cada uno con aproximadamente 1500 esporas fijadas a su superficie, y a la que se añadieron 50 mL de medio de cultivo. Las placas se mantuvieron en cámara de cultivo bajo 5 niveles de irradiancia (10, 20, 30, 60 y 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La iluminación fue suministrada con lámparas fluorescentes de luz blanca fría (Powertube 72" 40W, Sylvania S.L.) y medida con un cuantómetro LiCor 185-A. El período de iluminación fue de 16 horas y la temperatura se mantuvo constante a 16 ± 1 °C. En todas las series el medio fue Swm-t (TASENDE, 1993), con salinidad de 27 ‰ y pH de 7,5, con aireación y renovación quincenal. Al cabo de un mes, cada serie fue transferida a una cubeta de plástico con 500 mL de medio de cultivo.

El efecto de la irradiancia en la germinación de las esporas y posterior desarrollo de los discos basales y frondes se estudió mediante un análisis

TABLA I. Análisis de la varianza de la tasa de germinación de carpósporas y tetrásporas durante el primer mes de cultivo, bajo 5 diferentes niveles de irradiancia

| Fuente de variación | GL | SC | F |
|----------------------|----|----------|----------|
| Espora | 1 | 122,93 | 0,33 |
| Irradiancia | 4 | 13751,63 | 9,38 *** |
| Espora x Irradiancia | 4 | 4004,38 | 2,73 * |
| Residuos | 40 | 14656,44 | |

GL= Grados de libertad. SC= Suma de cuadrados.

F= Valores de la distribución F (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001).

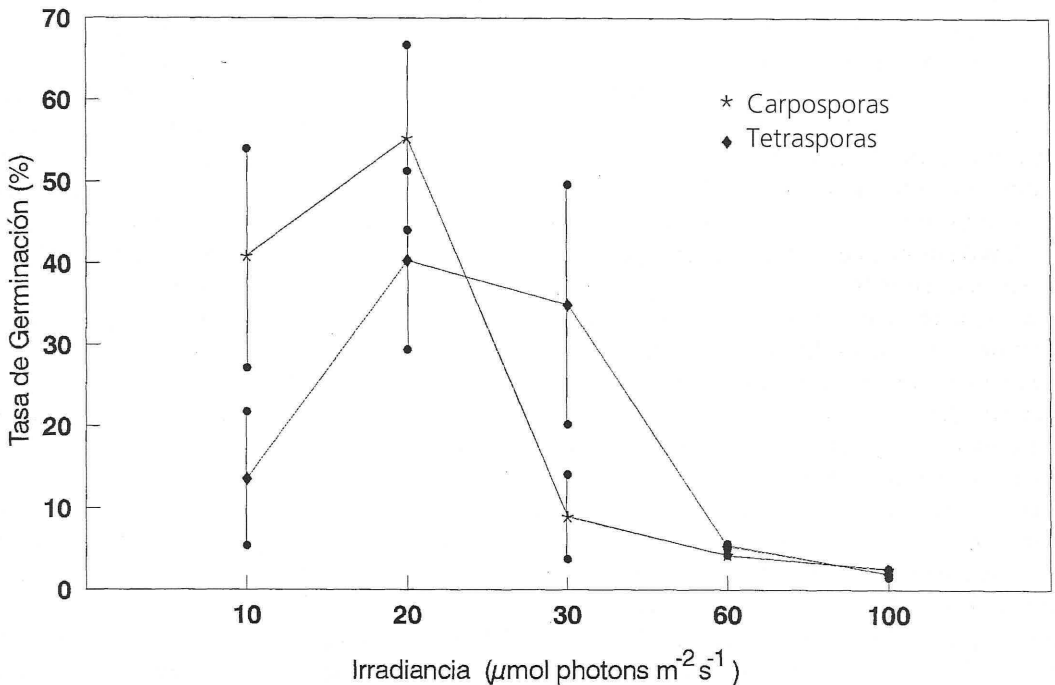


Fig. 1. Tasa de germinación de carpósporas y tetrásporas, durante el primer mes de cultivo bajo diferentes niveles de irradiancia.

multifactorial de la varianza (SOKAL & ROHFL, 1981) de las variables: tasa de germinación de esporas (%), crecimiento en altura (cm) de la primera fronde desarrollada en cada disco de fijación (considerada aquí como fronde primaria), porcentaje de discos basales en que se produjo desprendimiento de la fronde primaria, número medio de frondes por disco y tasa de mortalidad.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos quedan reflejados en las Tablas I, II, III y IV, así como en las Figs. 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

Con respecto a la germinación de esporas, se han apreciado diferencias significativas entre carpósporas y tetrásporas con respecto a la irradiancia (Tabla I, Fig. 1). Aunque para ambas

TABLA II. Análisis de la varianza del incremento medio anual en altura de las frondes primarias de gametófitos y tetrasporófitos, bajo diferentes niveles de irradiancia

| Fuente de variación | GL | 1 ^{er} año | | 2 ^o año | |
|--------------------------|----|---------------------|-----------|--------------------|-----------|
| | | SC | F | SC | F |
| Generación | 1 | 1,141 | 12,05 ** | 0,660 | 6,01 * |
| Irradiancia | 2 | 15,334 | 80,96 *** | 11,050 | 50,32 *** |
| Generación x Irradiancia | 2 | 0,821 | 8,67 ** | 1,571 | 7,15 ** |
| Residuos | 24 | 2,273 | 2,637 | | |

GL= Grados de libertad. SC= Suma de cuadrados. F= Valores de la distribución F (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

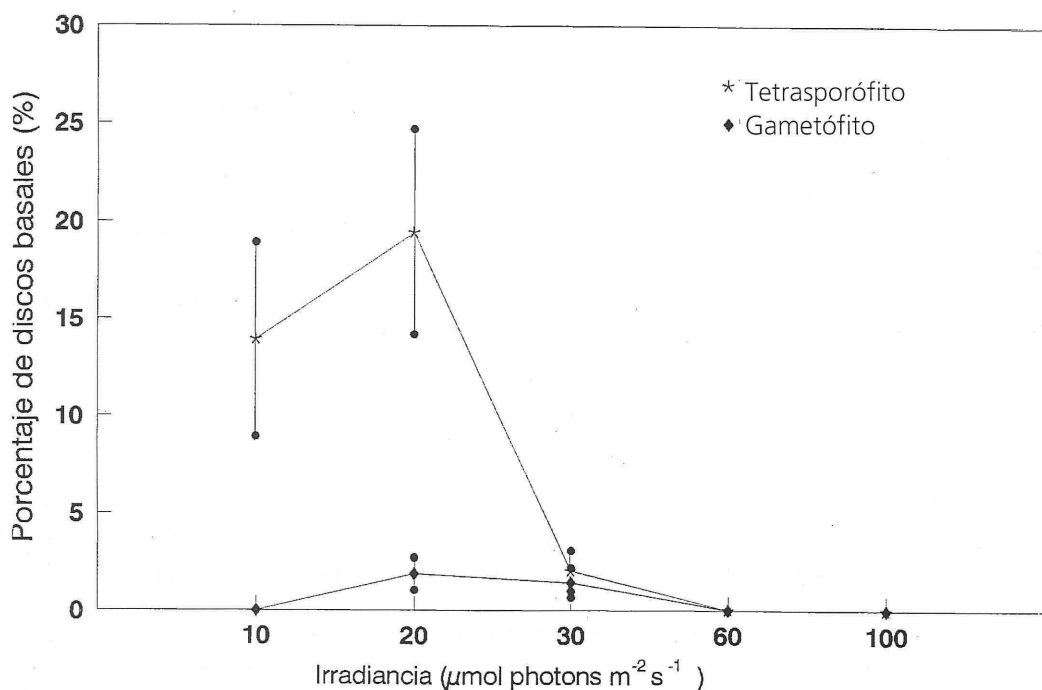


Fig. 2. Porcentaje medio de discos basales gametofíticos y tetrasporofíticos que presentaban al menos un eje de crecimiento vertical a los dos meses de cultivo.

el nivel de irradiancia más favorable fue el de 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, las carpósporas también germinaron bien a irradiancias de 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mientras que las tretrásporas manifestaron preferencia por medios mejor iluminados (30 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Irradiancias de 60 y 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ provocaron decoloraciones en todas las esporas y una marcada reducción en su capacidad de germinación, lo que ocasionó tasas de mortalidad del 100% al finalizar el primer año del estudio (Fig. 6).

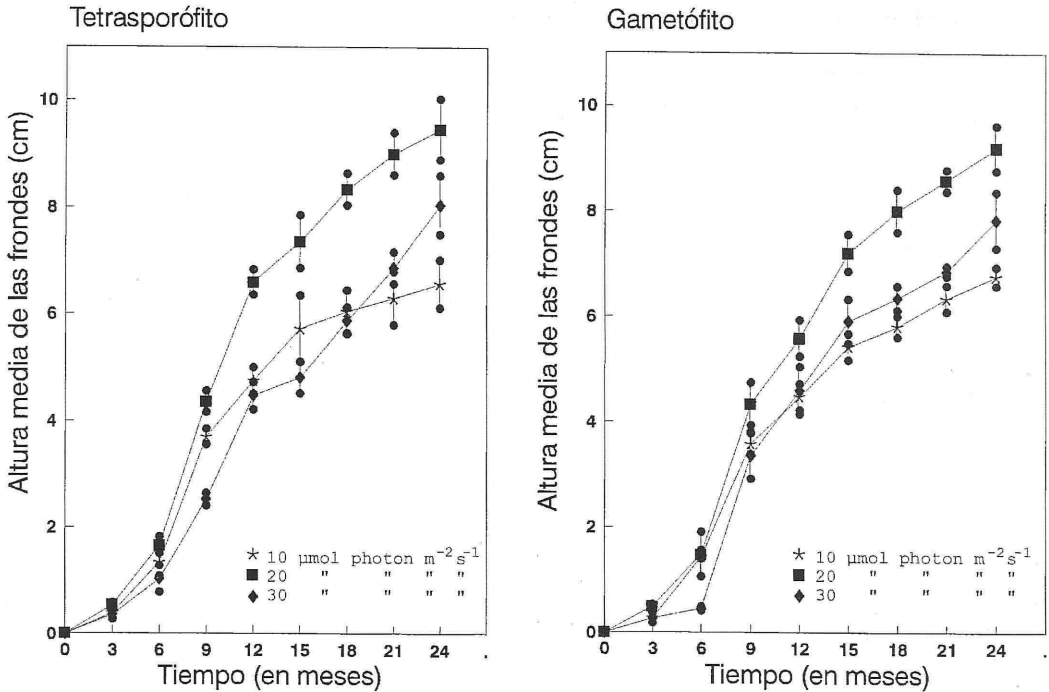


Fig. 3. Evolución de la altura media de las frondes primarias tetrasporofíticas y gametofíticas bajo irradiancias de 10, 20 y 30 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Además de ser la tasa de germinación de carpósporas superior a la de las tetrasporas, los tetrasporófitos mostraron un desarrollo más precoz que los gametófitos, por lo que a los dos meses de iniciado el cultivo había un porcentaje mayor de discos de fijación tetrasporofíticos, con su primera fronde en desarrollo (Fig. 2). Los mejores niveles de irradiancia para las primeras fases de desarrollo de las plántulas fue el mismo que para la germinación de las esporas.

Asimismo, el crecimiento de las frondes gametofíticas y tetrasporofíticas estuvo influenciado por el nivel de irradiancia (Tabla II). También aquí 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue el más favorable para ambas generaciones. Un poco superior a 10 y 30 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Las frondes primarias tetrasporofíticas alcanzaron una altura media superior a las gametofíticas al final del primer año (Tabla II, Fig. 3). En general el crecimiento de los

gametófitos, aunque más lento, fue mas homogéneo, de forma que la altura media de sus frondes, dos años después de iniciado el cultivo, fue similar a la de los tetrasporófitos, ya que en éstos la pérdida de frondes primarias, escindidas de los discos basales, fue significativamente superior (Tabla III, Fig.4).

Al final del primer año la tasa de desprendimiento de las frondes primarias esporofíticas ya era superior al 50% a irradiancias de 10 y 30 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y del 80% con 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En los gametófitos los porcentajes fueron muy inferiores, en torno al 20% para irradiancias de 10 y 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y algo más altos con 30 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Sin embargo, estos valores fueron gradualmente en aumento, hasta alcanzar tasas similares a las de la generación tetrasporofítica, a los dos años de cultivo.

TABLA III. Análisis de la varianza del porcentaje medio anual de pérdida de frondes primarias en gametófitos y tetrasporófitos, bajo diferentes niveles de irradiancia

| Fuente de variación | GL | SC | F |
|---------------------|----|----------|------------|
| Generación (G) | 1 | 69790.10 | 425.42 *** |
| Tiempo (T) | 1 | 58302.66 | 335.39 *** |
| Irradiancia (I) | 2 | 12649.90 | 38.55 *** |
| G x T | 1 | 12705.20 | 74.69 *** |
| G x I | 2 | 2897.01 | 8.83 *** |
| T x I | 2 | 4554.73 | 13.88 *** |
| Residuos | 50 | 8202.50 | |

GL= Grados de libertad. SC= Suma de cuadrados.

F= Valores de la distribución F (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

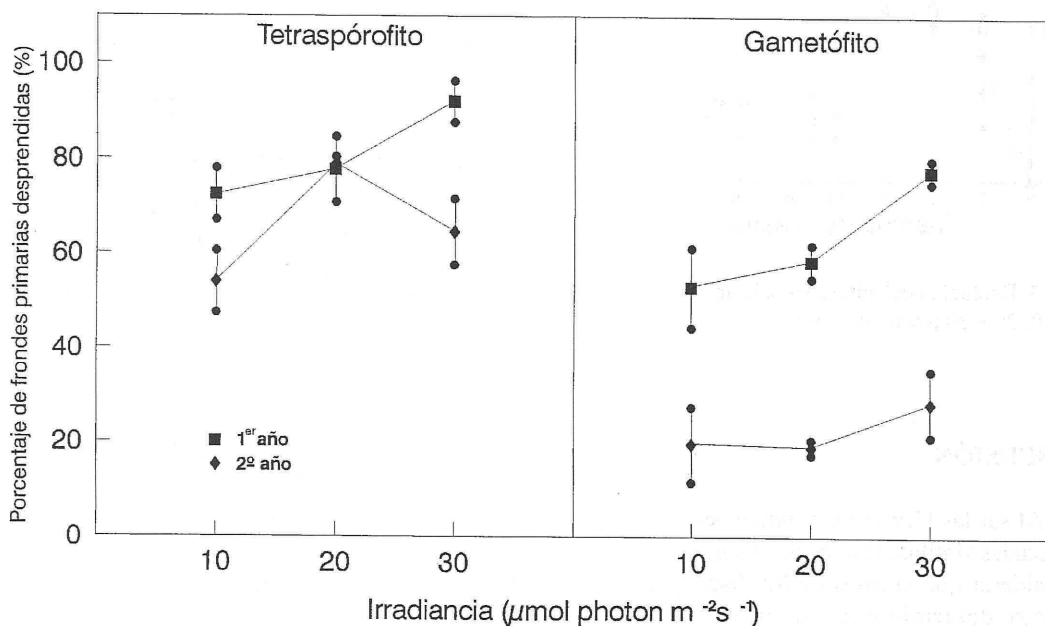


Fig. 4. Porcentaje medio de discos de fijación tetrasporofíticos y gametofíticos en los que se produjo desprendimiento de la fronde primaria, durante el primer y segundo año de cultivo.

La pérdida de frondes primarias no implicó el cese del crecimiento en la plantas, ni pérdida de vitalidad, al formarse sobre los discos de fijación nuevas frondes secundarias, siendo los tetrasporofíticos los que desarrollaron un número más elevado de las mismas (Fig. 5).

La persistencia de los discos basales y el relevo de frondes fue la causa de que no existieran diferencias significativas en la tasa de mortalidad de ambas generaciones (Tabla IV), las

cuales mostraron una tolerancia similar a los diferentes niveles de irradiancia durante el primer año. En el segundo año la tasa de mortalidad descendió notablemente, con ligeras diferencias entre las dos generaciones, ya que mientras irradiancias de 30 y 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fueron las más desfavorables para los tetrasporofitos, las de 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ lo fueron para los gametofitos (Fig. 6).

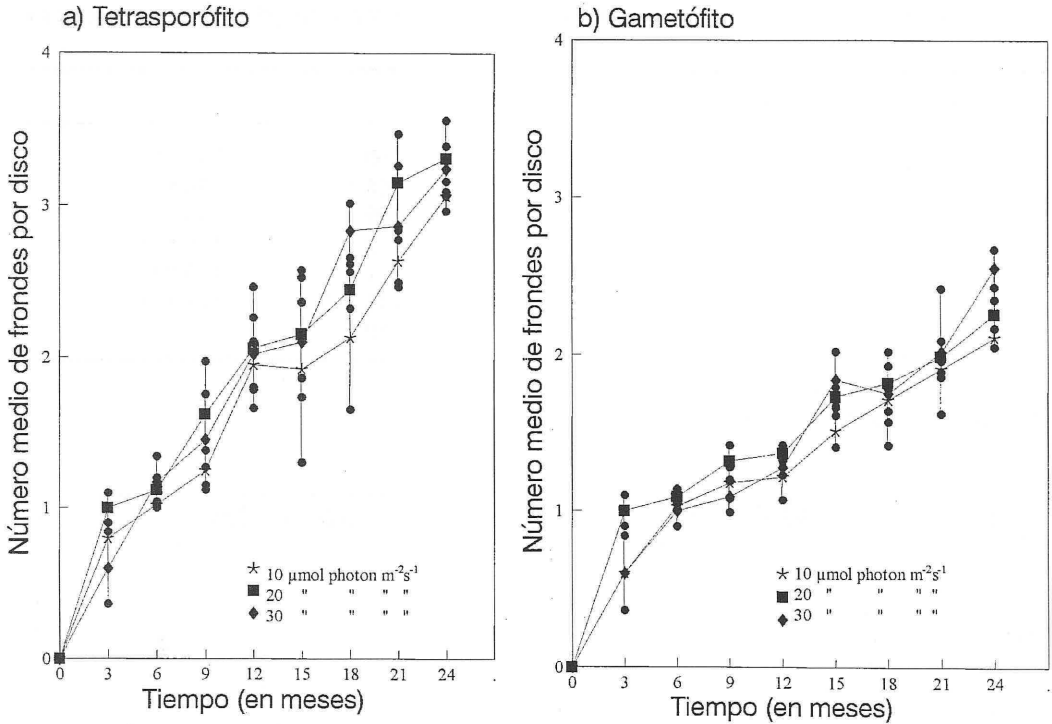


Fig. 5. Evolución del número medio de frondes por disco basal en tetrasporófitos y gametófitos bajo irradiancias de 10, 20 y 30 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

DISCUSIÓN

Al ser las técnicas y condiciones de cultivo utilizadas similares en todas las series, se puede considerar que el nivel de irradiancia tiene un efecto determinante en el desarrollo de gametófitos y tetrasporófitos. En nuestros cultivos irradiancias de 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fueron las más favorables tanto para la germinación de carpósporas y tetrásporas, como para el crecimiento y desarrollo de las fases gametofítica y tetrasporofítica.

Estos resultados son similares a otros de estudios realizados con ejemplares procedentes de poblaciones naturales de la costa atlántica europea (GUIRY, 1979), aunque discrepan de los obtenidos con plantas procedentes de la costa atlántica norteamericana. Así, BIRD *et al.* (1979) observaron que gametófitos de *Chondrus crispus*

crecían bien en cultivo bajo irradiancias de 50-60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$; PRINCE & KINGSBURY (1973) destacan como mejores irradiancias las de 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para la germinación de esporas y 70 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para el crecimiento de frondes. McLACHLAN *et al.* (1988) consideran buenas irradiancias las comprendidas entre 60 y 90 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y BURNS & MATHIESON (1972) no observaron diferencias en el crecimiento de tetrasporófitos para un intervalo de 30-100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En todos los casos la duración del fotoperíodo fue de 16 horas, el mismo que hemos utilizado en este trabajo.

Como ya se ha indicado en el apartado de resultados, en nuestro caso irradiancias iguales o superiores a 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ provocaron la muerte de esporas y plántulas y los niveles que en nuestros experimentos resultaron más favora-

TABLA IV. Análisis de la varianza de la tasa media anual de mortalidad de tetrasporófitos y gametófitos, bajo diferentes niveles de irradiancia

| Fuente de variación | GL | SC | F |
|---------------------|----|-----------|-----------|
| Generación (G) | 1 | 377,58 | 0,14 |
| Tiempo (T) | 1 | 73568,45 | 26,43 *** |
| Irradiancia (I) | 4 | 488030,78 | 43,84 *** |
| G x T | 1 | 333,74 | 0,12 |
| G x I | 4 | 805,62 | 0,07 |
| T X I | 4 | 49796,71 | 4,47 ** |
| Residuos | 84 | 233771,16 | |

GL= Grados de libertad. SC= Suma de cuadrados.

F= Valores de la distribución F (* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001).

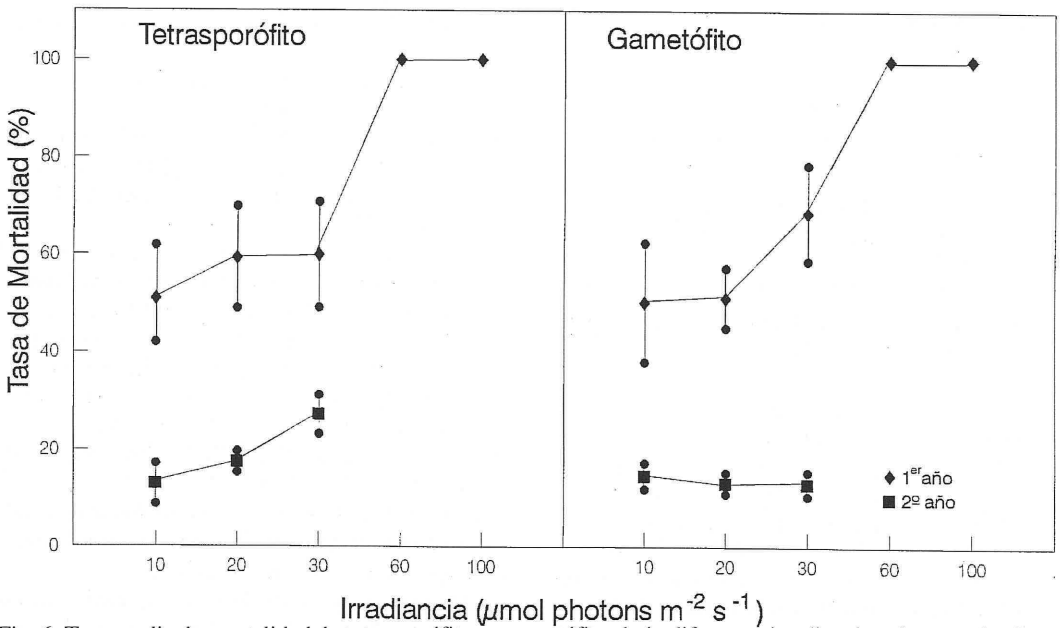


Fig. 6. Tasa media de mortalidad de tetrasporófitos y gametófitos bajo diferentes irradiancias, durante el primer y segundo año de cultivo.

bles son en general bastante inferiores a los observados por otros autores.

Los datos de que actualmente disponemos, todavía no nos permiten conocer con certeza las causas de estas discrepancias, probablemente relacionadas no sólo con el origen del material utilizado, sino también con las características propias de cada cultivo.

Otro aspecto que consideramos interesante destacar son las diferencias de comportamiento entre las generaciones gametofítica y tetrasporofítica. Los tetrasporófitos mostraron un crecimiento más precoz, pero las frondes primarias tetrasporofíticas tuvieron una vida más corta que las gametofíticas. Dado que las dos generaciones permanecieron en iguales condi-

ciones de cultivo y que las manipulaciones realizadas fueron básicamente las mismas, es evidente que las causas de estas diferencias no guardan relación directa con las características del cultivo, más bien puede ser debidas a que las frondes tetrasporofíticas tienen de forma natural un desarrollo más rápido y de menor duración que las gametofíticas, como ya había sido observado anteriormente (GUIRY, 1979; CHEN & TAYLOR, 1980, LITTLER & LITTLER, 1980 y McLACHLAN *et al.*, 1989). La pérdida de las frondes primarias fue compensada en los tetrasporófitos con la formación de nuevas frondes, mostrando así una capacidad de supervivencia similar a los gametófitos, aunque éstos últimos toleraban mejor irradiancias de $30 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHATTACHARYA, D. (1985). The demography of fronds of *Chondrus crispus* Stackhouse. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **91**: 217 - 231.
- BIRD, N.L., CHEN, L.C-M. & McLACHLAN, J. (1979). Effects of temperature, light and salinity on growth in culture of *Chondrus crispus*, *Furcellaria lumbricalis*, *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales, Rhodophyta) and *Fucus serratus* (Fucales, Phaeophyta). *Bot. Mar.*, **22**: 521 - 527.
- BURNS, R.L. & MATHIESON, A.C. (1972). Ecological studies of economic red alga: II Culture studies of *Chondrus crispus* Stackh an *Gigartina stellata* (Stackh.) Batters. *J. Exp. Biol. Ecol.*, **8**:1-6
- CHEN, L.C-M. & TAYLOR, A.R.A. (1980). Investigations of distinct strains of *Chondrus crispus* Stackh. II. Culture studies. *Bot. Mar.*, **23**: 441 - 448.
- FERNÁNDEZ, C. & MENÉNDEZ, M^a.P. (1991). The ecology of *Chondrus crispus* Stackhouse (Rhodophyta) in the northern coast of Spain. I. Seasonal patterns. *Scient. Mar.*, **55**: 457 - 481.
- GUIRY, M.D. (1979). The life history in laboratory culture of an isolate of *Chondrus crispus* Stackh. (Rhodophyta) from Scotland. *Br. Phycol. J.*, **14**: 124.
- LAZO, M.L., GREENWELL, M. & McLACHLAN, J. (1989). Population structure of *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinales, Rhodophyta) along the coast of Prince Edward Island, Canada. Distribution of gametophytic and sporophytic fronds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **126**: 45 - 58.
- LINDGREN, A. & ABERG, P. (1996). Proportions of life cycles stages of *Chondrus crispus* and its populations structures: a comparison between a marine and estuarine environment. *Bot. Mar.*, **9**: 263 - 268.
- LITTLER, M.M. & LITTLER, D.S. (1980). The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: field and laboratory test of a functional form model. *The American Naturalist*, **116**: 25 - 44.
- McLACHLAN, J., LEWIS, N. & LAZO, M.L. (1988). Biological considerations of *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinales, Rhodophyta) in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada. *Gayana Bot.*, **45** (1 - 4): 29 - 54.
- McLACHLAN, J.L., QUINN, J.L. & MacDOUGALL, C. (1989). The structure of the plant of *Chondrus crispus* Stackhouse (Irsih Moss). *J. Appl. Phycol.*, **1**: 311 - 317.
- PRINCE, J.S. (1971). *An ecological study of marine red alga Chondrus crispus at Plymouth, Massachusetts*. Ph. Thesis. Cornell University.
- PRINCE, J.S. & KINGSBURY, J.M. (1973). The ecology of *Chondrus crispus*, at Plymouth, Massachusetts. I. Ontogeny, vegetative anatomy, reproduction and life cycle. *Amer. J. Bot.*, **60**: 956 - 963.
- SOKAL, R. & ROHLF, F.J. (1981) *Biometry*. W.M. Freeman & Co., New York.
- TASENDE, M.G. (1993). *Cultivo en laboratorio de Chondrus crispus Stackh*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- TASENDE, M.A. & FRAGA, M.I. (1992). Efecto de las condiciones de cultivo en la germinación de esporas de *Chondrus crispus* Stackh. (Gigartinales, Rhodophyta). *Cah. Biol. Mar.*, **33**: 407 - 415.
- TASENDE, M.G. & FRAGA, M.I. (1997). Effects of the culture conditions on the development of *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinales, Rhodophyta) in culture. *Scient. Mar.*, **61**: 451 - 458.