

## EL CICLO VITAL "IN VITRO" DEL ALGA MARINA ROJA ASPARAGOPSIS TAXIFORMIS (DELILE) COLLINS & HERVEY (BONNEMAISONIALES, RHODOPHYTA) DEL MAR CARIBE

JACQUELINE J. ROJAS B., ANDRÉS LEMUS C. & E. K. GANESAN

*Instituto Oceanográfico, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela*

**RESUMEN:** Se obtuvo bajo condiciones controladas de laboratorio el ciclo de vida "in vitro" del alga marina roja *Asparagopsis taxiformis* (DELILE) COLLINS *et* HERVEY (Bonnemaisoniales, Rhodophyta). Carposporas provenientes de gametófitos colectados en el campo, germinaron produciendo plantas filamentosas y ramificadas, las cuales eventualmente produjeron tetrásporangios a partir de algunas células pericentrales. Estas plantas crecieron hasta generar tetrásporas, siendo muy similares morfológicas (tamaño de las plantas, tipo de ramificación) y estructuralmente (3 células pericentrales) a las plantas fértiles de *Falkenbergia hillebrandii* (BARNETT) FALKENBERG colectadas en el campo. Así mismo, tetrásporas liberadas por plantas esporofíticas crecieron en el laboratorio y germinaron desarrollando plantas semejantes a *Asparagopsis*. Estas plantas son marcadamente similares en caracteres externos y estructurales a las plantas de *Asparagopsis* colectadas en el campo. En su crecimiento individual en el laboratorio las plantas de *Asparagopsis taxiformis* no alcanzaron madurez reproductiva.

En base a nuestras observaciones y a la revisión de la literatura pertinente existente sobre las Bonnemaisoniales, consideramos que *Asparagopsis taxiformis* de la región oeste tropical del Atlántico (sureste del Mar Caribe) tienen un ciclo de vida heteromórfico y que *Falkenbergia hillebrandii* constituye la fase esporofítica del gametófito *Asparagopsis taxiformis*.

**ABSTRACT:** The life history "in vitro" of the marine red alga *Asparagopsis taxiformis* (DELILE) COLLINS & HERVEY (Bonnemaisoniales, Rhodophyta) was followed under controlled environmental conditions in the laboratory. Carpospores from the field collected gametophytes germinated to form branched filamentous plants, which eventually produced tetrasporangia from some of the pericentral cells. Morphologically (plant size, mode of branching) and structurally (3 pericentral cells), these plants grown from the germination of carpospores were similar to the fertile plants of *Falkenbergia hillebrandii* (BARNETT) FALKENBERG collected from the field. Similar tetraspores liberated from the sporophytic plants grown in the laboratory germinated and developed into *Asparagopsis* like-plants. On many external and internal features these plants were remarkably similar to the field collected *Asparagopsis* plants. The laboratory grown individuals of *Asparagopsis* plants did not however reach reproductive maturity.

On the basis of our observations and reviewing the pertinent literature, we conclude that *A. taxiformis* in the south-eastern Caribbean Sea also has a heteromorphic life-history and that *F. hillebrandii* constitutes the sporophytic phase.

### INTRODUCCION

La familia Bonnemaisoniaceae (Bonnemaisoniales, Rhodophyta) es relativamente pequeña, contiene seis géneros y unas 22 especies, las cuales al parecer están esencialmente distribuidas en la región australiana y en

el Pacífico norte (KRAFT, 1981). Información relacionada con la reproducción, ciclo de vida y sistemática de esta familia son reseñados por CHIHARA & YOSHIZAKI (1972; ver también WEST & HOMMERSAND, 1981). Para el Atlántico occidental tan sólo han sido reportadas dos especies, la pan-tropical *Asparagopsis*

*taxiformis* con una distribución desde Bermuda al Brasil (TAYLOR, 1960) y más al norte encontramos una especie esencialmente de agua fría *Bonnemaisonia hamifera* (= *Asparagopsis hamifera*) reportada desde el norte-este de Estados Unidos (TAYLOR, 1957), y del Canadá, (CHEN, EDELSTEIN & MCLACHLAN, 1969).

Aunque el ciclo de vida completo de *Bonnemaisonia hamifera* no ha sido obtenido por cultivo en el laboratorio (WEST & HOMMERSAND, 1981, p. 153), la íntima relación entre *B. hamifera* como la fase gametofítica y *Trailliella intricata* como la fase esporofítica parece estar bien establecida (CHEN, EDELSTEIN & MCLACHLAN, 1969, WEST & HOMMERSAND, 1981). Sin embargo, entre *Asparagopsis taxiformis* y *Falkenbergia hillebrandii* en las cálidas aguas del océano Atlántico occidental ha sido un hecho especulativo (TAYLOR, 1960; JOLY, 1965; 1969). Por la carencia de evidencias mediante cultivos experimentales, TAYLOR (*loc. cit.*) mantiene a *F. hillebrandii* en las Ceramiales, mientras JOLY (1965) la incluye conjuntamente con *A. taxiformis* dentro de las Bonnemaisoniaceae. Sin embargo, etapas de ciclo de vida que involucran a *F. hillebrandii* y *A. taxiformis* han sido estudiadas en épocas más recientes, pero para poblaciones pertenecientes a diferentes latitudes geográficas.

El desarrollo de estudios de cultivos en el laboratorio han incrementado las evidencias de que el ciclo de vida de las algas marinas que existen en diferentes latitudes geográficas con condiciones ambientales también distintas, no necesariamente tienen el mismo ciclo vital y existe una tendencia a presentar cierta plasticidad.

Dentro de las mismas Bonnemaisoniaceae, el ciclo de vida de *B. hamifera* presenta varias peculiaridades. Por ejemplo, las secuencias de las fases gametangial, carposporangial y tetrasporangial probablemente no se suceden en las aguas europeas como ocurren en el Japón. Por otro lado, las tetrásporas en el material de *T. intricata* de Alemania produce solamente plantas femeninas, mientras que el material del Atlántico norte (Canadá) produce únicamente plantas masculinas (DIXON & IRVINE, 1977; ver también WEST & HOMMERSAND, 1981).

Motivados por estas razones y por cuanto los estudios de cultivos para dilucidar aspectos de ciclos de vida de las algas rojas del Mar Caribe son muy pocos (CLA-

RICEL & GANESAN, 1981), nosotros presentamos en este trabajo nuestras observaciones del ciclo de vida "in vitro" de *A. taxiformis* del oriente de Venezuela.

## MATERIALES Y METODOS

El material de *Asparagopsis taxiformis* para este estudio fue colectado en diferentes oportunidades en la Isla de Margarita (Punta Mosquito) y en la Isla de Cubagua (Punta El Medio).

Las fechas de recolección, así como las profundidades a las cuales se encontraban las algas fueron:

1.	Punta Mosquito, Punta El Medio	6-9-77	2-3 m
2.	Punta Mosquito	19-1-78	2 "
3.	Punta Mosquito	1-3-78	8 "
4.	Punta Mosquito	28-3-78	6 "
5.	Punta Mosquito	17-5-78	10 "
6.	Punta Mosquito	7-7-78	8 "
7.	Punta El Medio	22-9-78	3 "

El material de *Falkenbergia hillebrandii* fue colectado en Punta Mosquito el 7-7-78 y Punta El Medio el 22-9-78.

Las algas fueron transportadas vivas al laboratorio, para ello se colocaron en cavas de anime con agua de mar del sitio de recolección; suministrándoles aire con bombas portátiles para acuarios. Una vez en el laboratorio, el material fue separado tomándose una parte para cultivo, y otra para estudios morfológicos.

Para los efectos de cultivos se consideró la fragilidad del material, el cual se descomponía rápidamente en el laboratorio, debido a esto era examinado a la mayor brevedad, separando los cistocarpos maduros y se procedía a limpiarlos cuidadosamente bajo el microscopio estereoscópico, utilizando agujas de disección y luego lavados repetidas veces con agua de mar estéril antes de introducirlos en las cápsulas de Petri, a las cuales se les había colocado 3-4 cubre-objetos en el fondo (para que las esporas se depositaran allí una vez liberadas) y agregando 25-30 ml de medio de cultivo.

Según OZA (1977), la producción de tetrásporas en *Falkenbergia rufolanosa* era más efectiva en medios con concentración baja de nitrógeno y fósforo, por

tanto los medios de cultivo utilizados para los efectos de esta investigación fueron modificados.

### 1) PROVASOLI (1968) (modificado)

Para preparar 1250 ml de solución enriquecida

#### A) Tomados para el medio

Disodio B glicerofosfato	2 g/100 ml	10 ml
pentahidratado.		
NaNO <sub>3</sub>	1,75 g/100 ml	100 ml
Tiamina	50 mg/100 ml	10 ml
Vitamina B <sub>12</sub>	1 mg/ ml	10 ml
Biotina	0,5 mg/100 ml	10 ml
Tris Buffer	5 g/100 ml	100 ml

#### B)

331 mg de Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> · 6 H<sub>2</sub>O más 330 mg de Na<sub>2</sub>EDTA en 500 ml de agua destilada.

#### C) Metales trazas.

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	560 mg
FeCl <sub>3</sub>	24 mg
MnSO <sub>4</sub>	60 mg
ZnSO <sub>4</sub>	14 mg
CoCl <sub>2</sub>	1,1 mg
Tritriplex	500 mg

Esta mezcla de metales la llevamos a 500 ml con agua destilada, y la esterilizamos por filtración utilizando filtros Millipore de 45 µm de apertura de poro; de aquí tomamos 250 ml para preparar el medio de cultivo.

En una fiola de 2 litros, unimos los 240 ml de A, los 250 ml de B y los 250 ml de C, y completamos con agua destilada hasta 1250 ml. Esto vendría a ser la solución enriquecida concentrada, la cual se guardaba refrigerada para su mejor conservación. Para preparar el medio de cultivo, se toman 20 ml de la solución concentrada y se lleva a 1 litro con agua de mar estéril.

### 2) VON STOSH (según EDWARDS 1970) (modificado)

Na <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	10 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	2 g
FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	84,9 mg
MnCl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	9,9 mg

Na <sub>2</sub> EDTA · 2 H <sub>2</sub> O	1,86 g
Tiamina	100 mg
Biotina	0,5 mg
Vitamina B <sub>12</sub>	0,5 mg

Luego todas estas cantidades se disuelven en ½ litro de agua destilada para obtener la solución concentrada.

Por último se toma 1 ml de esta solución concentrada y se enraza con agua de mar estéril a un litro, lo cual es propiamente el medio de cultivo a utilizar.

### 3) VON STOSH (según EDWARDS 1970) (modificado)

NaNO <sub>3</sub>	10 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	2 g
FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	14,9 g
MnCl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	9,9 mg
Na <sub>2</sub> EDTA · 2 H <sub>2</sub> O	1,86 g
KI	1 mg
Vitamina B <sub>12</sub>	0,5 mg

Esto se disuelve en ½ litro de agua destilada, y tenemos un concentrado de la solución. De aquí tomamos 1 ml, y completamos con agua de mar estéril a 1 litro.

Todo el material utilizado para la preparación de los medios, tales como pipetas, fiolas, balones aforados, etc., así como también las pinzas, tijeras y agujas fueron previamente esterilizados en estufa a una temperatura de 160° C durante 1 hora.

El agua de mar usada para los medios de cultivo, una vez colectada se dejó envejecer por 15 días, luego se procedió a su filtración utilizando filtro Millipore de 45 µm de apertura de poro, posteriormente esa agua se esterilizaba por Tyndallización, calentándose hasta alcanzar 76°C durante 3 días consecutivos.

Las cápsulas de Petri fueron incubadas en cámara de crecimiento. Las condiciones de la cámara fueron 24° C de temperatura; un fotoperíodo de 8 horas de luz y 16 de oscuridad, y una intensidad de luz de 120 pie-candela.

La intensidad de la luz se midió con un fotómetro modelo 756 (Weston Instrument).

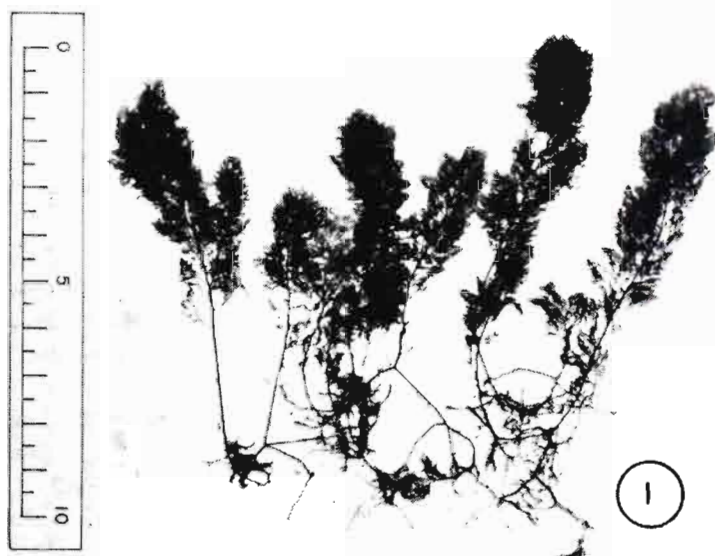


Fig. 1. Hábito del gametófito de *Asparagopsis taxiformis* colectado en el campo.

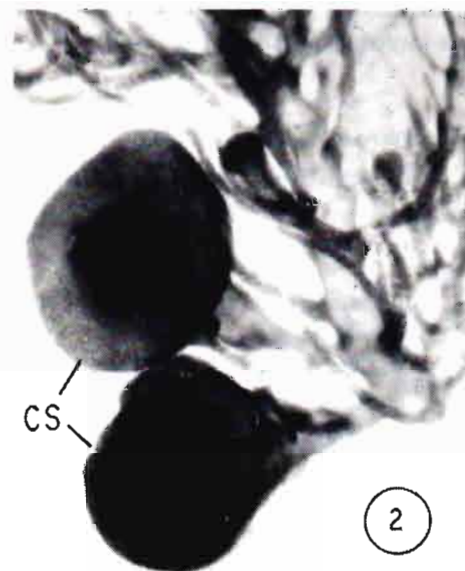


Fig. 2. Una parte fértil de la planta femenina mostrando dos cistocarpos maduros (CS)  $\times 39$ .

Generalmente dentro de las 12-24 horas de incubación, se observa que algunos cistocarpos liberaron las carpósporas en masas envueltas en una sustancia mucilagínosa, en este caso, los cistocarpos vacíos eran retirados de la cápsula de Petri, utilizando para ello pinzas estériles. En algunos cistocarpos, las carpósporas empezaban a germinar *in situ*, por lo que los cistocarpos eran dejados en los medios de cultivo.

Al ocurrir la liberación de las tetrásporas, éstas se extraían con pipetas Pasteur desechables, cuyo ápice era previamente convertido en un tubo capilar, y sembradas sobre cubreobjetos colocados en cápsulas de Petri estériles con el medio de cultivo correspondiente.

La secuencia de la germinación de las esporas fue seguida al microscopio, y se hicieron microfotografías usando un equipo Leitz Combiphot automatic con película pancromatic blanco y negro 32 ASA. Para los dibujos se utilizó una cámara clara marca Leitz.

Los cultivos fueron unialgales. Para eliminar las diatomeas se utilizó una solución de dióxido de germanio (1 mg/l). De esta solución se agragan 2 ml en cada litro de medio de cultivo, LEWIN (1966). Para

eliminar protozoarios se usó una solución de cafeína 0,03 M, BOWNE (1964).

Como el objetivo fundamental de este trabajo, es estudiar el ciclo de vida de *Asparagopsis taxiformis*, bajo condiciones controladas de laboratorio, obteniéndose los resultados que se dan en el mismo bajo las condiciones ambientales establecidas, no intentamos hacer una evaluación del efecto de los parámetros en sí sobre el desarrollo del alga

## RESULTADOS

### GAMETOFITOS COLECTADOS EN EL CAMPO

Las plantas de *Asparagopsis taxiformis* con su color rojo violáceo y ramas erectas con ramificaciones pinnadas abundantes lo cual le da una apariencia de pluma (Fig. 1) son componentes conspicuos de la flora sublitoral de diferentes partes de Venezuela. Generalmente se encuentran formando densas poblaciones entre 1-10 m de profundidad. Para Venezuela esta especie ha sido reportada por TAYLOR (1942) de la isla La Tortuga (Punta Arenas), por GESSNER & HAMMER (1967) de las islas de Coche y Cubagua, por RÍOS (1972) de



Arrecife (Distrito Federal), mientras *Falkenbergia hillebrandii* ha sido citada por DÍAZ-PIFERRER (1970) de la península de Araya (Punta Arenas) y de la isla La Blanquilla. El material venezolano de ambas especies estudiado en el presente trabajo concordó bien con las descripciones dadas por TAYLOR (1960) y JOLY (1965).

A pesar de que esta especie está ampliamente distribuida en el Atlántico, las plantas espermatangiales parecen ser muy raras según la bibliografía consultada. En el presente material estudiado, las ramas espermatangiales laterales tienen forma clavada y miden hasta 700  $\mu\text{m}$  de largo y 340  $\mu\text{m}$  de ancho y presentan un pedúnculo pequeño de hasta 470  $\mu\text{m}$  de largo. Las plantas sexuales son dioicas siendo las plantas cistocarpicas y espermatangiales morfológicamente semejantes.

Según DIXON & IRVINE (1977, p. 152) *A. taxiformis*, la especie típica del género debe ser conocida ahora bajo el binomial *A. delilei*, puesto que *A. taxiformis* es sinónimo posterior de *A. delilei*. Sin embargo, en este trabajo preferimos usar el binomial *A. taxiformis* siguiendo a TAYLOR (*loc. cit.*) y JOLY (*loc. cit.*).

#### OBSERVACIONES DE CULTIVO

##### i) GERMINACIÓN DE CARPOSPORAS Y LA FORMACIÓN DEL TETRASPOROFITO: (Figs. 3-13; 22-32).

Una vez colocados los cistocarpos maduros (Fig. 2) en los medios de cultivo e incubados, se produce la liberación de las carpósporas en un período de tiempo de aproximadamente 12 horas. Las carpósporas liberadas presentan formas redondeadas (Figs. 3, 22) y miden 43-54  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las carpósporas se dividen en diferentes planos convirtiéndose así en una estructura multicelular (Fig. 23). Aproximadamente a las 24 horas de liberadas, se observa la formación hacia un lado (Fig. 4, abajo a la derecha) de una protuberancia o célula inicial del futuro filamento erecto, esta protuberancia sufre una división transversal dando origen a dos células (Fig. 23); luego ocurre otra división en ese mismo sentido (Fig. 24), más tarde la célula basal se divide longitudinalmente y así se van produciendo sucesivas divisiones, de tal manera que la célula apical

en forma de cúpula va a estar diferenciada del resto del filamento, el cual generalmente presenta aspecto biserrado (Figs. 5-6). Aproximadamente a los 5 días de haberse producido la germinación, el filamento puede alcanzar un largo de 128  $\mu\text{m}$ , y un diámetro de 20  $\mu\text{m}$ , pudiendo estar constituido por 5-10 células (Figs. 6, 7, 8).

En ciertos casos, se pudo observar la formación de otro eje en forma de rizoide, generalmente en sen-

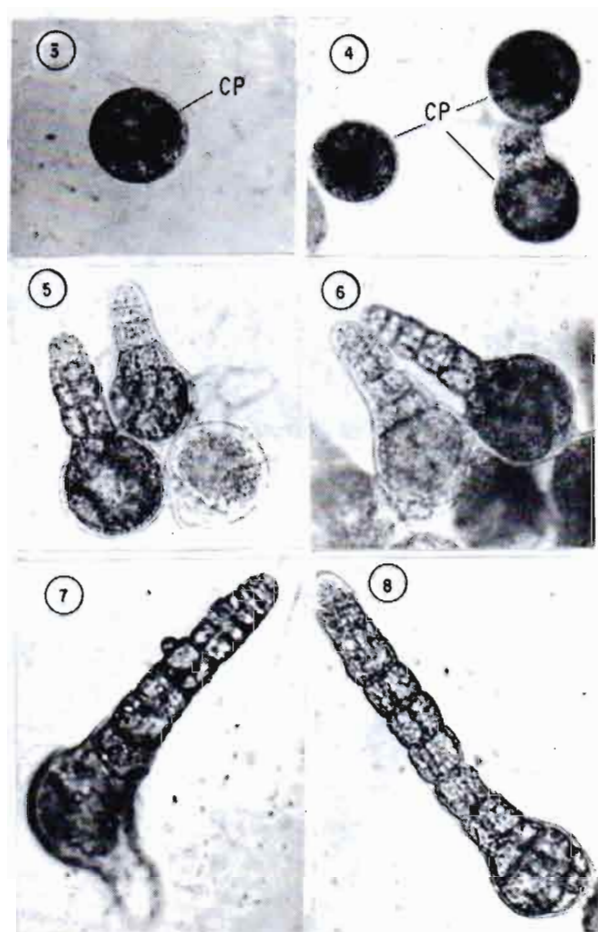
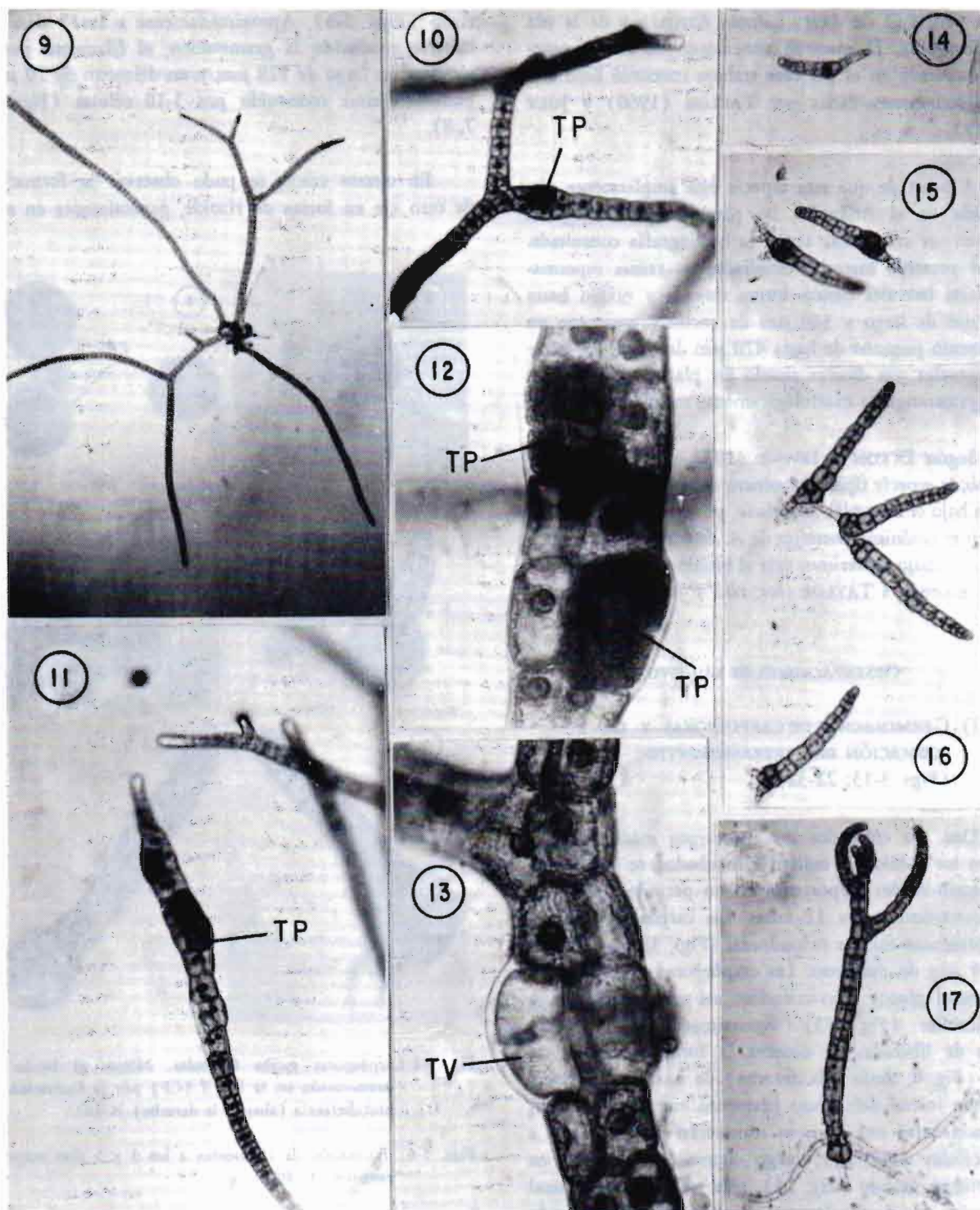


Fig. 3-4 Carpósporas recién liberadas. Nótese el inicio de germinación en la fig. 4 (CP) por la formación de protuberancia (abajo a la derecha)  $\times 407$ .

Figs. 5-6. Formación de filamentos a los 3 y 5 días respectivamente.  $\times 407$ .

Figs. 7-8. Formación de filamentos aproximadamente de una semana.  $\times 407$ .





tido contrario al principal erecto (Figs. 7, 24). Este nuevo filamento tardío, no sufre divisiones en sus primeras etapas de desarrollo y su contenido es menos denso comparado con el del filamento principal (Fig. 25). Luego este segundo filamento comienza a dividirse y a tomar un sentido horizontal repente (Fig. 28).

Aproximadamente a los 10-12 días del inicio de la germinación empiezan a originarse del filamento principal erecto pequeñas ramas (Fig. 28), las cuales, a su vez, se ramifican. Las ramas laterales y el eje principal son polisifónicas y están integradas por tres células pericentrales de apariencia triangular y una célula central (Fig. 29). Las células pericentrales tienen nítidas células secretoras (Figs. 12, 13). El alga continúa ramificándose de manera irregular y esporádica, haciéndose difícil diferenciar un eje principal, presentándose como un conjunto de ramificaciones orientadas en todas direcciones (Fig. 9). Esta etapa se logra en 3 semanas. A los 25 días se observa que determinadas porciones del filamento se ensanchan, y una de las células pericentrales de cada una de estas regiones, comienzan a hincharse, adquiriendo una coloración más oscura que el resto de las células (Figs. 10, 11). Luego esta célula pericentral hinchada, se divide transversalmente dando origen a dos células hijas (Fig. 30), las cuales

se dividen de manera cruzada para dar origen a un tetrasporangio (Figs. 31 y 32), el cual mide aproximadamente  $38-45\ \mu\text{m}$  de diámetro. La pared celular del tetrasporangio se rompe y las tetrásporas son liberadas al medio, quedando vacío el sitio donde estaban contenidas (Fig. 13). Las tetrásporas liberadas miden  $25-30\ \mu\text{m}$  de diámetro.

Cabe señalar que en muchos aspectos externos e internos (tales como talo filamentoso, modo de ramificarse, presencia de tres células pericentrales, formación de tetrasporangios y tamaño de éstos) los productos de la germinación de las carpósporas cultivadas en el laboratorio concuerdan muy bien con las descripciones dadas por TAYLOR (1960) & JOLY (1965) para *Falkenbergia hillebrandii* de material del campo. Además una comparación del material de *F. hillebrandii* colectado de Punta Mosquito y de Punta El Medio (los mismos sitios donde fueron recolectados los gametofitos de *Asparagopsis taxiformis*) con el material obtenido (producto de la germinación de las carpósporas) no mostró diferencias significativas. Las plantas de *F. hillebrandii* colectadas en el campo, sin embargo, son mucho más robustas en comparación con las obtenidas en el laboratorio, situación común, muy conocida para muchas algas rojas cultivadas en el laboratorio.

#### GERMINACIÓN DE LAS TETRASPORAS (FIGS. 33-40) Y LA FORMACIÓN DE *Asparagopsis taxiformis* (FIGS. 17-21)

Las tetrásporas una vez liberadas inician su germinación de tal manera, que cada una de ellas empiezan a emitir un rizoide de contenido claro (Fig. 34), luego se observa que el contenido de la tetráspora empieza a segmentarse transversalmente (Fig. 35), iniciándose la formación de una protuberancia (Fig. 36) por el lado opuesto donde se originó el filamento inicial de contenido claro. La protuberancia continúa creciendo, aumentando el número de células en su interior, pero siempre conservando una célula apical característica en forma de cúpula con un diámetro de  $15\ \mu\text{m}$ . Las divisiones verticales producen la formación de un filamento erecto de estructura biseriada (Figs. 15, 16, 17, 37).

Simultáneamente la célula rizoidal sigue alargándose, permaneciendo unicelular sin mostrar divisiones.

Fig. 9. Planta filamentosa ramificada y originada de la germinación de Carpóspora a los 18 días después de iniciarse la germinación.  $\times 40$ .

Figs. 10-11. Formación de tetrasporangios (TP) en la planta filamentosa.  $\times 120$ .

Fig. 12. Dos tetrasporangios maduros (TP) con las 4 esporas en forma de cruz.  $\times 553$ .

Fig. 13. Tetrasporangio vacío (TV) luego de liberadas las tetrásporas.  $\times 553$ .

Fig. 14. Filamento originado por la germinación de tetrásporas de *Falkenbergia hillebrandii* a los 2 días  $\times 100$ .

Figs. 15-16. Filamentos biseriados originados por la germinación de tetrásporas a los 6-7 días después de iniciada la germinación.  $\times 100$ .

Fig. 17. Planta joven de 12-15 días con pequeñas ramas laterales erectas y rizoides basales.  $\times 100$ .

A los 5-6 días se originan pequeñas ramas laterales con separaciones celulares y de contenido igualmente poco denso (Figs. 15, 37). A partir de los 7-8 días el filamento va a presentar más divisiones (Figs 16, 38) y las ramitas que de él emergen incrementan su longitud tomando a partir de los 12-15 días en adelante verdadero aspecto de rizoides. Luego del eje principal erecto ascendente y de contenido denso surgen ramas laterales a lo largo del mismo (Fig. 18). A los 20 días se observa que el número de células pericentrales del eje principal han aumentado (Figs. 19, 20). A un mes y medio de crecimiento se nota que de la porción rizoidal se ha desarrollado un rizoma repente (Fig. 21). Aunque estas plantas obtenidas en el laboratorio no alcanzan un total desarrollo, y particularmente su madurez reproductiva, por el aspecto externo, modo de ramificación y la estructura del talo, mostraron semejanzas con las plantas de *Asparagopsis* colectadas en el campo.

## DISCUSION

Desde que FELDMANN & MAZOYER (1937) descubrieron la existencia de un ciclo de la vida heteromórfico entre un gametófito macroscópico y erecto correspondiente a *Bonnemaisonia asparagoides* y un esporófito postrado, costoso y formado por una sola capa de células conocido como *Hymenoclonium serpens*, miembros de las Bonnemaisoniales han recibido considerable atención en estudios de cultivos para dilucidar los diferentes patrones en sus ciclos de vida. Las informaciones publicadas relacionadas con la estructura, ciclo de vida y taxonomía de esta familia, como señalamos en la introducción, fueron revisadas por CHIHARA & YOSHISAKI (1972) y más recientemente por WEST & HOMMERSAND (1981). Recientes experimentos incluyen también estudios fotobiológicos (control fotoperiódico por la iniciación de una fase particular durante ciertas estaciones del año) en *B. hamifera* (LÜNING, 1981) y sobre el efecto de algunas sustancias orgánicas o inorgánicas nitrogenadas o sustancias fosforiladas sobre el desarrollo de *Asparagopsis armata* (CODOMIER *et al.*, 1981). Pero todos estos trabajos se refieren esencialmente a plantas de aguas frías del Atlántico norte (Europa y Canadá) y del Pacífico (Japón y California). Por lo tanto, el presente estudio constituye el primero para un miembro de Bonnemaisoniaceae presente en aguas tropicales del Atlántico americano.

De acuerdo con los resultados reportados en el presente trabajo, las plantas erectas gametofíticas de *Asparagopsis taxiformis* del Mar Caribe alternan con una fase esporofítica independiente, microscópica, filamentosa de *Falkenbergia hillebrandii*, este ciclo vital postulado entre estas 2 especies se señala en la Fig. 41. En otras palabras, en nuestra opinión, *F. hillebrandii* en aguas tropicales del sureste del Mar Caribe no constituye una especie independiente, sino simplemente es la fase esporofítica de *A. taxiformis*.

Se conocen diferentes versiones de los ciclos de vidas heteromórficos que ocurren en las Bonnemaisoniales (WEST & HOMMERSAND, 1981). Nuestras observaciones en el material venezolano concuerda, en general con las señaladas por CHIHARA (1960) para el material japonés. Pero este autor cultivó tetrásporas de *Falkenbergia hillebrandii* y obtuvo al germinar éstas gémulas muy parecidas inicialmente a *Falkenbergia*, pero luego se diferencian en *Asparagopsis*. Este trabajo viene a completar el estudio de CHIHARA (1960), al obtener *F. hillebrandii* por la germinación de carpósporas de *Asparagopsis taxiformis*. En nuestro trabajo, también en la etapa inicial de la germinación de las tetrásporas (Figs. 15, 16) se originaron gémulas muy parecidas a *Falkenbergia*, pero a medida que progresaba el desarrollo se diferenciaban en la etapa joven (desde una ramificación alternada dística hacia una ramificación trirradiada) características de las plantas adultas de *A. taxiformis* (Figs. 17-21).

Recientemente DAWES (1981, p. 193) ha mencionado que *Asparagopsis taxiformis* ha estado alternando con una fase filamentosa diploide llamada *Falkenbergia intricata*. Aunque nosotros estamos imposibilitados para verificar el origen de esa información, presumimos que la fase diploide mencionada por DAWES sea probablemente referida a *Trailliella intricata*, la cual es la fase esporofítica de *Bonnemaisonia hamifera* y *B. nootkana* y no de *A. taxiformis*. Por tener filamentos uniseriados con numerosas células secretoras características, *T. intricata* es una forma muy diferente a *F. hillebrandii*, la cual presenta 3 células pericentrales.

En este trabajo señalamos que todavía hay algunos aspectos los cuales no están muy claros en el ciclo de vida completo de *Asparagopsis taxiformis*-*Falkenbergia hillebrandii*. Por ejemplo no se conoce si bajo condicio-



nes de campo, hay una secuencia o alternancia regular entre las plantas gametangiales y esporofíticas durante las diferentes estaciones del año y las posibles causas o factores que afectan la presencia o ausencia de una fase en particular en determinada estación. Juzgando por los datos de las colecciones de campo *A. taxiformis* parece está presente todo el año, y es quizás probable que esta especie tenga capacidad para propagarse vegetativamente. Por ejemplo DIXON (1965) encontró que *Asparagopsis* es capaz de reproducirse por fragmentación vegetativa al generar ramas especializadas. Con relación a esto, se pudo notar que hacia las regiones apicales de *A. taxiformis* se forman ramas especializadas como las reportadas por DIXON (*loc. cit.*) DIXON (*loc. cit.*) y CHIHARA (1962) señalan fragmentación vegetativa en *Falkenbergia*, pero ese fenómeno no se observó con el material venezolano.

También las diferencias específicas entre *A. armata* de Europa y la pan tropical *A. taxiformis* no están muy claras. DIXON & IRVINE (1977) señalan que existen plantas intermedias mostrando características de *A. taxiformis* en la planta de *A. armata* de las Islas Británicas. Las fases esporofíticas de éstas especies no son diferenciables morfológicamente. Como señalamos en este trabajo, el material de *F. hillebrandii* (de cultivo y de campo) del Mar Caribe es muy semejante al esporofítico de *A. armata* citado por DIXON & IRVINE (1977) para el material de Europa.

Pruebas citológicas para mostrar el sitio de la meiosis y datos experimentales para indicar la segregación fenotípica o genotípica del sexo no se han realizado para *F. hillebrandii*. Se conoce bien que en *Bonnemaisonia hamifera*, las tetrásporas de una localidad en particular, dieron origen a gametofitos masculinos o femeninos, pero no a ambos sexos (segregación fenotípica) (KOCK, 1949, CHEN *et al.*, 1969). Mientras que en *B. geniculata* las tetrásporas germinaron aproximadamente a la proporción de 1:1 para plantas masculinas y femeninas (determinación genotípica) (SHEVLIN & POLANSHEK, 1978). Como lo señalan WEST & HOMMER-SAND (1981) el sitio de la meiosis no ha sido comprobado con certeza para ningún miembro de las Bonnemaisoniaceae.

En este trabajo los experimentos de cultivo, en sus etapas iniciales tuvieron ciertos inconvenientes originados por contaminación con protozoarios y por una alta concentración de nitrógeno y fósforo en los medios de cultivo. VON STOSH (1969) encontró que una concentración alta de estos elementos en los medios de cultivo puede ser tóxico para el tetrásporofito de *Jania*.

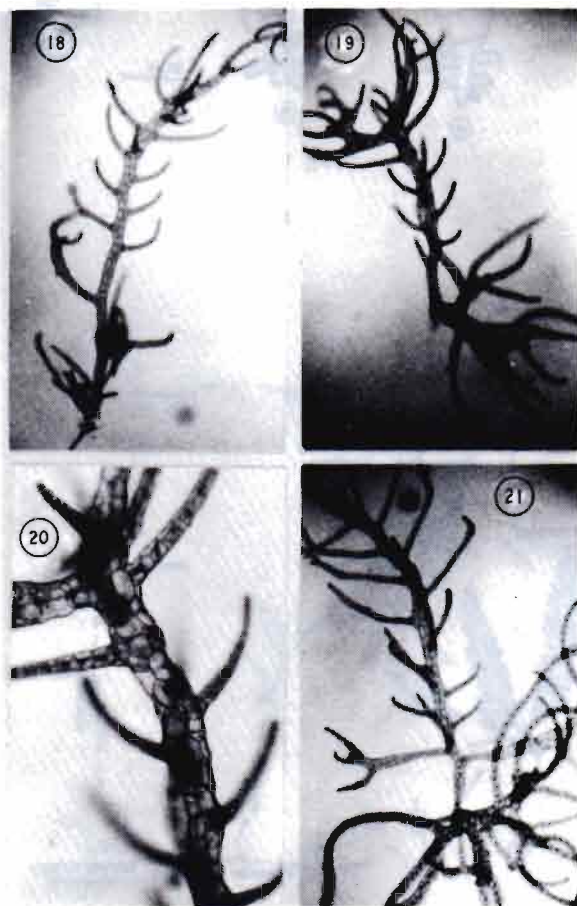
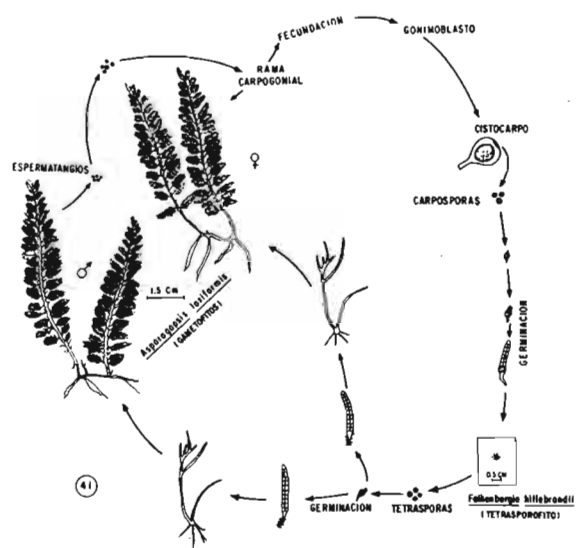
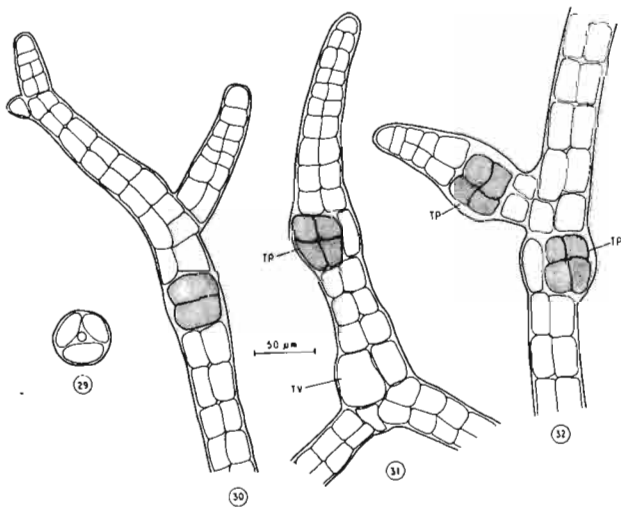
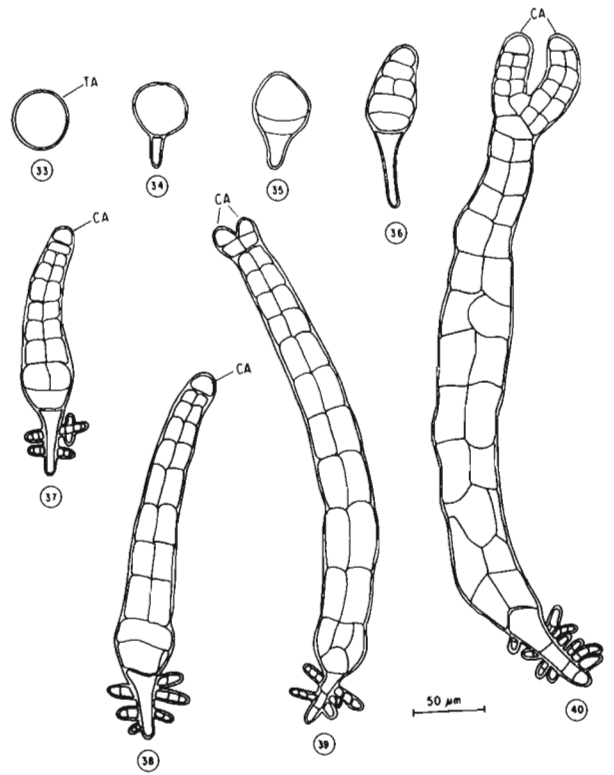
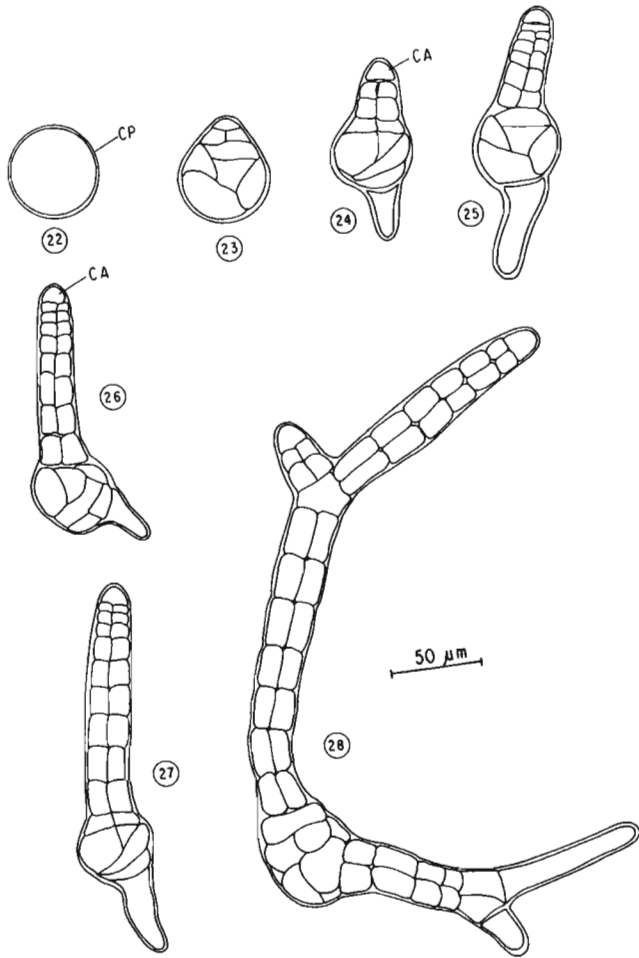


Fig. 18. Planta joven de *Asparagopsis taxiformis*, a los 20 días. Nótese la ramificación característica.  $\times 75$ .

Fig. 19. Planta joven de *Asparagopsis taxiformis* con la salida de estolón repente.  $\times 75$ .

Fig. 20. Parte de la planta *Asparagopsis taxiformis* cultivada en el laboratorio para mostrar la estructura del talo.  $\times 250$ .

Fig. 21. Planta joven de *Asparagopsis taxiformis* a los 45 días.  $\times 75$ .



Es probable que para *A. taxiformis* también haya cierta influencia de la concentración de estos elementos, por cuanto se notó que al reducir su concentración, los resultados fueron satisfactorios.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a los señores BRICILIO MARCANO y MIGUEL GÓMEZ por su ayuda en el trabajo de campo, a los señores ADONAY PERNÍA y RAMÓN VARGAS por el trabajo de fotografía y al señor EPIFANIO HERNÁNDEZ, por la elaboración de los dibujos. Merece reconocimiento especial la colaboración del Consejo de Investigación por el financiamiento dado a esta investigación, a través del Proyecto CI-5-19-00098/76.

## REFERENCIAS

BOWNE, S. 1964. Purification of algal cultures with caffeine. *Nature*. 204: p. 801.

CHEN, L. C., EDELSTEIN, T. & McLACHLAN, J., 1969. *Bonnemaisonia bamifera* Hariot in Nature and in Culture. *J. Phycol.* 5: 211-220.

Figs. 22-28. Etapas sucesivas en la germinación de las carpósporas hasta la formación de filamento de *Falkenbergia hillebrandii*.

Fig. 29. Corte transversal de talo de *Falkenbergia hillebrandii*, de planta originada por la germinación de carpósporas. Nótese la presencia de 3 células pericentrales y un eje axial.

Fig. 30. Porción fértil del tetrasporófito (*Falkenbergia hillebrandii*) con la primera división transversal en el tetrasporangio.

Figs. 31-32. Filamentos de *Falkenbergia hillebrandii* con tetrasporangios (TP) maduros con las 4 esporas en forma de cruz.

Figs. 33-40. Etapas sucesivas en la germinación de las tetrasporas hasta la formación de una planta pequeña (Fig. 40) con un filamento erecto biseriado y rizoides basales.

Fig. 41. Representación esquemática del ciclo vital propuesto para *Asparagopsis taxiformis* - *Falkenbergia hillebrandii* en el oriente de Venezuela.

CHIHARA, M., 1960. On the Germination of Tetraspores of *Falkenbergia hillebrandii* (Bornet) Falkenberg. *J. Jap. Bot.* 35: 249-253.

———. 1962. Life Cycle of the Bonnemaisoniaceae Algae in Japan (2). *Scient. Rep. Tokyo Kyoiku Daigaku, Sect. B.* 11, 27-54.

———. 1965. Germination of the Carpospores of *Bonnemaisonia nootkana*, with Special Reference to the Life Cycle. *Phycologia* 5, 71-79.

CHIHARA, M. & M. YOSHIZAKI, 1972. Bonnemaisoniaceae: Their gonimoblast development, life-history and systematics. In: *Contributions to the Systematics of Benthic Marine Algae of the North Pacific*, (Eds. ABBOTT I. A. & KUROI, M.) *Jap. Soc. Phycol.*, Kobe.

CLARICEL, A. V. & E. K. GANESAN, 1981. Life history of the marine red alga *Pseudogloiothlella balliae* (Nemalionales, Chaetangiaceae) in Culture. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente*. 20 (1 & 2): 47-55.

COODOMIEJ, L. M. SEROL, G. COMBANT & J. TESTE, 1981. On the development of *Asparagopsis armata* (Rhodophyceae, Bonnemaisoniales) in Culture. Effects of some inorganic and organic nitrogenous or phosphorylated substances. *Bot. Mar.* 24 (01): 43-49.

DAWES, C. J., 1981. *Marine Botany*. John Wiley & Sons. N. Y. i - x + 628 pp.

DE VALERA, M. & FOLAN, A. 1964. Germination *in situ* of Carpospores in Irish Material of *Asparagopsis armata*. *Harv. Bonnemaisonia asparagoides* (Woodw.) Ag. *Br. Phycol. Bull.* 2: 332-333.

DÍAZ-PIFERRER, M., 1970. Adiciones a la flora marina de Venezuela. *Carib. J. Sci.* 10 (3-4): 159-198, 60 Figs.

DIXON, P. S., 1965. Perennation, Vegetative Propagation and Algal Life Histories, with Special Reference to *Asparagopsis* and other Rhodophyta. *Botánica Gothenburg*. 3: 67-74.

———. 1973. *Biology of the Rhodophyta*. Oliver & Boyd Edinburgh, xiii + 285 p. 31 Figs.

DIXON, P. S. & I. IRVINE, 1977. *Seaweeds of the British Isles*. Vol. 1. Rhodophyta. Part. 1. Introduction, Nemalionales, Gigantinales, Brit. Mus. (Nat. Hist.)

EDWARDS, D., 1970. Illustrated Guide to the Seaweeds and Sea Grasses in the Vicinity of Port Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sic. Univ. Tex.* 15: 1-128, Figs. 1-225.

FELDMANN, J., 1965. Le Développement des Tétraspores de *Falkenbergia rufo-lanosa* et le Cycle des Bonnemaisoniales. *Rev. gén. Bot.* 72, 62-626.



- FELDMANN, J. & FELDMANN, G., 1939a. Sur le Développement des Carpospores et l'alternance de Générations de l' *Asparagopsis armata*. Harvey. C. R. Acad. Sci., Paris, 208: 1240-1242.
- , 1939b. Sur l' alternance de Générations chez les Bonnemaisoniacees. *Ibid.* 208, 1425-1427.
- , 1943. Recherches sur les Bonnemaisoniacees et leur alternance de generations. *Annals Sci. Nat. S. II. Bot.* 3: 75-175.
- , 1952. Nouvelles Recherches sur le Cycle des Bonnemaisoniaceas le Developpement des Tetraspores du *Falkenbergia rufolanosa* (Harv) Schmitz. *Rev. gén. Bot.* 59, 313-323.
- FELDMANN, J. & MAZOYER, C., 1937. Sur l' identité de l' *Hymenoclonium serpens* (Crouan) Batters et du Protonema du *Bonnemaisonia aspagoides* (Woodw) C. Ag. C. r. hebdom. Seanc. Acad., Paris, 205, 1084-1085.
- GESSNER, F. & HAMMER, L., 1967. Die litorales Algenvegetation an den kusten von ost - Venezuela. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 52 (5): 657-692, 13 Figs. 7 Tabs.
- HARDER, R., 1948. Einordnung von *Trailiella intricata* in den Generations Wechsel bei Bonnemaisoniaceae. *Nachr. Akad. Wiss. Gottingen.* 1948. 24-27.
- JOLY, A. B., 1965. Flora Marinha do Litoral Norte do Estado de Sao Paulo e Regioes Circunvizinhas. *Bol. Fac. Fil. Cienc. Ltr. Univ. Sao Paulo*, 294 Botânica, 1-39 (inc 59 parnchas e 4 mapas).
- , 1967. *Generos de Algas Marinhas Da Costa Atlantica Latino-americana*. Editora Da Universidade de Sao Paulo. 266 + 22 prancha.
- KOCH, W., 1969. Entwicklungsgeschichtliche und physiologische. Untersuchungen an. Laboratoriumskulturen der Rotalge *Trailiella intricata* Batters (Bonnemaisoniaceae) *Arch. Mikrobiol.* 14: 635-60.
- KRAFT, G. T., 1981. Rhodophyta: Morphology & Clasification In: *The Biology of seaweeds* (Eds. C. S. Lobban & M. J. Wynne) Blackwell Scientific Publications, Offord. Bot. Monogr. 17: Chapter 1, pp. 6-51.
- KYLIN, H., 1956. *Die Gattungen der Rhodophyceen.* xv + 673 pp., Figs. 1-458, CWK Gleerup, Lund.
- LEWIN, J., 1966. Silicon Metabolism in Diatoms v. Germanium dioxide, a Specific Inhibitor of Diatom Growth. *Phycologia* 6: 1-12.
- LUNING, K., 1981. Photobiology of Seaweeds: Ecophysiological aspects. *Xth Int. Seaweed Symp. Water de Gruyter & Co., Berlin, N.Y.* pp. 35-55.
- OZA, R. M., 1977. Culture Studies on Induction of Tetraspores and their Subsequent Development in the Red Alga *Falkenbergia rufolanosa* (Harvey) Schmitz. *Botánica Marina.* 20: 29-32.
- PROVASOLI, L., 1968. Media and Prospects for the Cultivation of Marina Algae. In Watanabe, A. & Hattori, A., Eds., *Cultures and Collection of Algae.* Proc. U. S. Japan Conference Hakone, sept. 1966. *Jap. Sea. Plant. Phycol.* 63-75 pp.
- RÍOS, N. de 1972. Contribución al Estudio Sistemático de las Algas Macroscópicas de la costa de Venezuela. *Acta Bot. Venezuelica*, 7 (1-4): 219-324.
- SHEVLIN, D. E. & A. R. POLANSHEK, 1978. Life history of *Bonneamaisonia geniculata* (Rhodophyta): a laboratory an field study. *J. Phycol.* 14: 282-289.
- STEIN, J. (Ed). 1973. *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements.* Cambridge Univ. Press xii + 448 p.
- TAYLOR, W. R., 1942. Caribbean marine algae of the Allan Hancock Expedition, 1939. *Rep Allan Hancock Atlantic Exped.* 2. 193 pp. 20 pls. Los Angeles
- , 1957. *Marine Algae of the Northeastern coast of North America.* 2<sup>nd</sup> Ed. V II + 1-427 (inc. 60 pls). Ann Arbor., Michigan U.S.A.
- , 1960. *Marine Algae of the Eastern Tropical and Subtropical Coasts of the Americas IX* + 1-870 pp. (inc. 80 pls.) Ann Arbor, Michigan, U.S.A.
- VON STOSCH. 1969. Observations on *Corallina*, *Jania* and other Red Algae, *Proc. VI Seaweed Symposium.* Dirección General de Pesca Marítima. Madrid. pp. 389-399.
- WEST, J. A., 1972. The life history of *Petrocelis franciscana*. *Br. Phycol. J.* 7: 299-308.
- & M. H. HOMMERSAND, 1981. Rhodophyta: Life histories In: *The Biology of Seaweeds* (ds. C. S. Lobban & M. J. Wynne). Blackwell Scientific Publications Oxford. Bot. Monogr. 17: Chapter 4, pp. 133-193.

(Manuscrito recibido el 14 de mayo de 1983).