

CICLO DE VIDA *IN VITRO* DE *MYRIOGLOIA MAJOR* (PHAEOPHYCEAE, CHORDARIALES)

L. B. PÉREZ ¹ y A. BORASO DE ZAIOSO ²

Summary: *In vitro* life cycle of *Myriogloia major* (Phaeophyceae, Chordariales). The life history of *Myriogloia major* from Punta Maqueda (province of Santa Cruz, Argentina) was studied by means of laboratory culture to compare the reproductive strategies with other species. Spores from unilocular sporangia of a macroscopic sporophyte developed into a young microthallus. After several weeks, these microthalli formed plurilocular sporangia that released spores that originated protonemes. The latter developed into an adult macrothallus. Therefore *Myriogloia major* has, *in vitro*, a cycle with asexual reproduction that involves a microthallus and a macrothallus.

Key words: Algae, *Myriogloia*, Chordariaceae, Phaeophyta, culture, reproduction, Patagonia.

Resumen: El ciclo de vida de *Myriogloia major* de la localidad de Punta Maqueda (Provincia de Santa Cruz, Argentina) fue estudiado en cultivo *in vitro* para comparar estrategias reproductivas con otras especies. Las esporas provenientes de esporangios uniloculados del esporofito macroscópico desarrollaron un microtalo joven. Éste produjo, luego de varias semanas, esporangios pluriloculados que liberaron esporas que formaron protonemas, estos últimos desarrollaron un talo adulto. *M. major* presentó entonces, *in vitro*, un ciclo de vida con reproducción asexual que incluye un macrotalo y un microtalo.

Palabras clave: Algas, *Myriogloia*; Chordariaceae, Phaeophyta, cultivo, reproducción, Patagonia.

INTRODUCCIÓN

Los ciclos de vida de las algas marinas, especialmente los detalles de su reproducción son importantes para caracterizar a las especies y poblaciones y comprender su biología. El estudio de los mismos está basado casi completamente en observaciones experimentales de laboratorio, especialmente en aquellas especies en que una de las fases del ciclo es microscópica, como en el caso de las Chordariaceae.

Peters (1987) cita varias especies que han sido estudiadas en cultivo desde 1920, destacándose los trabajos de: Sauvageau (1929), Parke (1933), Kylin (1940), Arasaki (1948), Dangeard (1969), Loiseaux (1970), Shimura (1974), Ajisaka (1979) y Yotsui (1980). En varios de estos estudios la familia Chordariaceae fue caracterizada por su ciclo de vida heteromórfico, en donde un microtalo haploide alterna con un esporofito macroscópico.

Myriogloia es una Chordariaceae que se encuen-

tra principalmente distribuida en Sudamérica, Nueva Zelanda, Australia, Sudáfrica y Japón. Tres especies de *Myriogloia* han sido descritas en la costa del Pacífico de Sudamérica, *M. chilensis* (Montagne) Llaña, *M. chilensis* Levring y *M. grandis* (Howe) Levring (Peters & Müller, 1985) y una especie, *M. major* en el Atlántico de Sudamérica (Asensi, 1973).

Estos autores asumen que todas las plantas de *Myriogloia* que se desarrollan en las costas del Pacífico de Sudamérica pertenecen a la misma especie y que *M. grandis* debe ser llevada a sinonimia de la especie *M. chilensis*, mientras que *M. chilensis* es un ecotipo de *M. chilensis* (Peters, 1987). Otras especies del mismo género como *M. simplex* Segawa, *M. chorda* J. Ag. y *M. papenfussii* Kylin difieren unas de otras por su tamaño, filamentos asimiladores, esporangios uniloculados, ramificaciones, diámetro del eje y tamaño de las célula de los filamentos asimiladores, entre otros diferencias (Asensi, 1973).

Peters & Muller (1985) estudiaron en laboratorio el ciclo de vida de *M. chilensis* con material proveniente de la región central de Chile. Asensi (1973) cultivó *in vitro* *M. major* a partir del material recolectado en Baliza Sorrel (Lat. 47° 45' S, long. 65° 55' W), Puerto Deseado, Provincia de Santa Cruz, Argentina.

¹ Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Facultad de Ciencias Naturales.

² Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales. CONICET.

Estos dos trabajos son los únicos realizados sobre el ciclo de vida de especies de *Myriogloia* por lo que consideramos de interés realizar el cultivo *in vitro* de *M. major* con material procedente de la zona de Punta Maqueda para verificar y comparar las estrategias reproductoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó con material proveniente de Punta Maqueda (46°01'S, 67° 35'W). Esta localidad está ubicada en el extremo norte de la provincia de Santa Cruz (Argentina). Se trata de una zona de restinga con declive suave hacia el este, con piletas de marea de poca profundidad

y canalizos que se hallan en la base de los acantilados. Esta plataforma de erosión es totalmente cubierta por el agua durante la marea alta y deja en bajamar una franja expuesta de 400 metros aproximadamente. El sustrato es una arenisca media con matriz arcillosa compacta correspondiente a la parte media de la formación Patagonia (Feruglio, 1950).

Talos adultos de *M. major* fueron recolectadas para el cultivo *in vitro* desde Septiembre de 1998 hasta Marzo de 1999 durante la baja marea y fueron llevadas inmediatamente al laboratorio para su posterior estudio siguiendo las indicaciones de Collantes & Melo (1995).

Para el cultivo se siguieron los siguientes pasos: selección y corte de segmentos del talo de *M. major*; aislamiento de esporangios bajo lupa utilizando pipetas de tipo Pasteur, transferencia de los

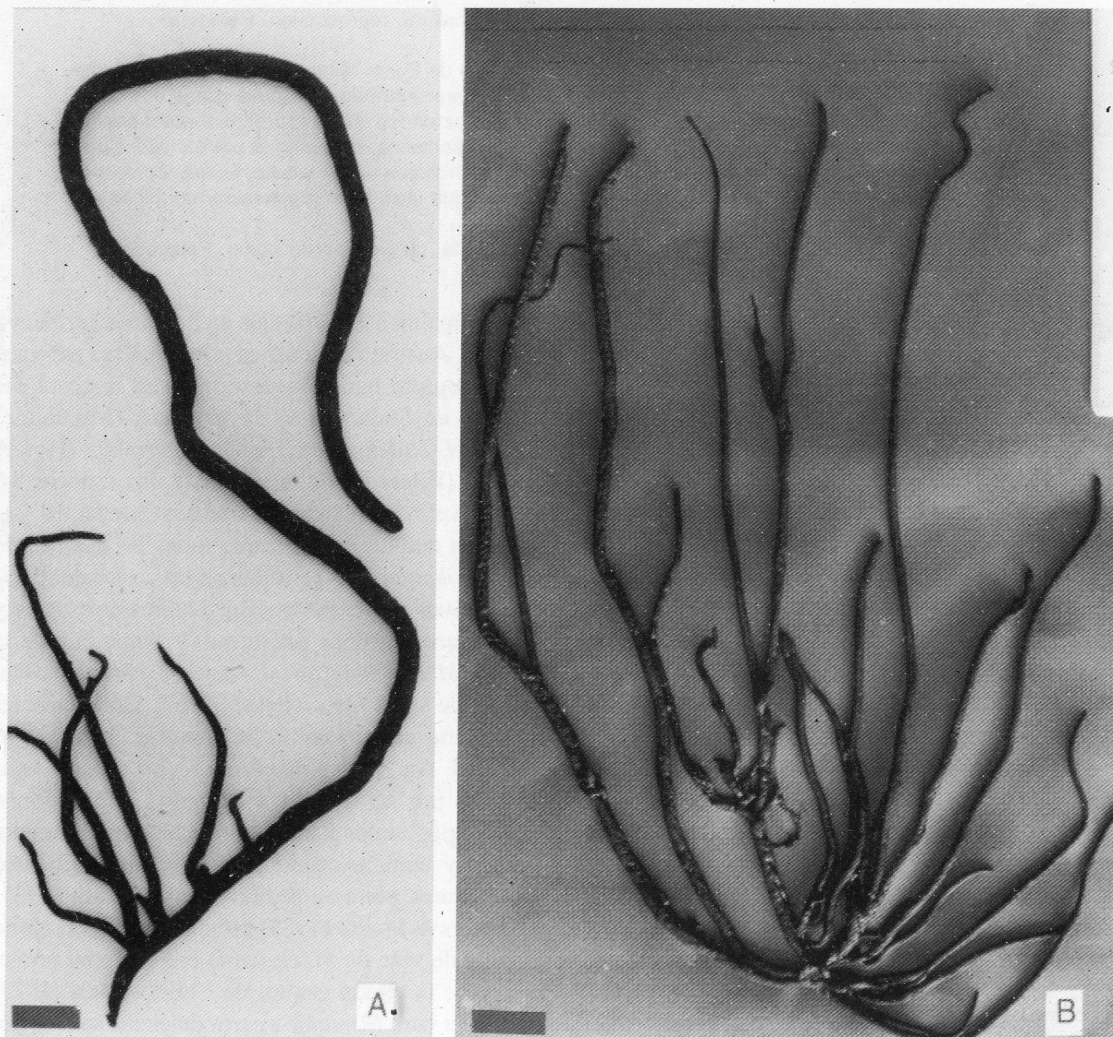


Fig. 1. A-B. Plantas adultas de *M. major*. A. Con eje principal y ramificaciones secundarias. B. Con ramificaciones siguiendo una secuencia subdística irregular. Escala: 2 cm.

esporangios a un portaobjetos con agua de mar filtrada y esterilizada y acondicionamiento de los portaobjetos en cámara húmeda. Los cultivos fueron mantenidos a una temperatura entre 13 y 17 °C y los valores de irradiancia entre un mínimo de 216 y un máximo de 1376 μWcm^{-2} . El fotoperíodo se ajustó en 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Luego de 24 a 48 horas las esporas germinadas se colocaron en frascos de plástico previamente esterilizados y medio de cultivo Laing (Mc Lachlan, 1973)

Todas las etapas del cultivo fueron registradas con un microscopio óptico Axioplan Zeiss, con cámara de fotos Reichert 17624, Formats 2.8 X.

RESULTADOS

El talo de *M. major* es cilíndrico, macizo y resbaladizo al tacto. Su color es pardo oscuro brillante, mide de unos pocos centímetros hasta un metro y está compuesto por uno o varios ejes erectos que pueden presentar hasta 20 ramificaciones secundarias.

Éstas pueden presentarse de un solo lado del eje principal o en una secuencia subdistica irregular (Fig. 1 A-B). En la serie de observaciones mensuales comenzadas en Septiembre de 1999, se observaron los primeros esporangios con esporas en su interior a partir de octubre de ese año, las cuales fueron colocadas en condiciones de cultivo.

Los esporangios eran uniloculados, pedunculados o sésiles, generalmente ovoides, tenían una longitud entre 54 a 160 μm y un ancho de 30 a 45 μm y se encontraban ubicados justo debajo de la base de un filamento asimilador (Fig. 2 A-B). Cada esporangio contenía varias esporas en su interior. Las esporas eran de forma esféricas, con un diámetro de 4 a 10 μm , con uno o dos cloroplastos parietales y una pequeña mancha ocular.

Las esporas fueron expulsadas por el extremo apical del esporangio en grandes masas (Fig. 2 C-D), luego de liberar todas las esporas los esporangios quedaron totalmente vacíos (Fig. 3 A).

Las esporas móviles germinaron en forma directa a las 24-48 horas de ser mantenidas una temperatura entre 13 y 17 °C con un fotoperíodo de 16-8. (Fig. 3 B). Estas últimas condiciones recrean condiciones de verano similares a las de Punta Maqueda.

A partir de las germinaciones se desarrollaron filamentos uniseriados que se adhirieron fuertemente al portaobjeto y se ramificaron repetidamente en to-

das direcciones (microtalos) (Fig. 3 C). Las células de los filamentos contenían cada una varios cloroplastos parietales con 1 a 3 pirenoides (Fig. 3 D). A los 30-40 días de cultivo se observaron en el microtalo células de mayor diámetro que dieron origen a los filamentos erectos que emergían de la zona central (Fig. 3 E). Luego de varias semanas de formado este microtalo y mantenidas las condiciones de luz y temperatura descritas anteriormente, éste desarrolló esporangios pluriloculados. Se observaron en algunas plantas esporangios alargados, con lóculos dispuestos en forma biseriada y una longitud media de 160 μm (Fig. 4 A) y en otras esporangios cónicos, con lóculos en disposición triseriada, base más ancha que el ápice, con una longitud media de 120 μm (Fig. 4 B).

Los esporangios maduros mostraban un color más oscuro. Luego de varias semanas de formados los esporangios pluriloculados se observó la liberación de esporas móviles a través de una abertura apical (Fig. 4 C). Estas esporas se adhirieron a los portaobjetos sin fusionarse, germinaron y produjeron primeramente un talo, el cual posteriormente desarrolló un talo erecto con filamentos asimiladores semejantes al esporofito encontrado en la naturaleza, aunque la estructura del talo era más laxa. (Fig. 4 D).

En la Fig. 5 se representa esquemáticamente el ciclo de vida de *M. major* basado en los resultados obtenidos *in vitro*. En la misma se presenta un ciclo de vida heteromórfico y heterofásico, donde alternan una fase macroscópica presuntamente diploide y una microscópica presuntamente haploide. Ambas fases pueden reproducirse asexualmente por esporas. El esporofito adulto macroscópico (macrotales erecto) produce esporangios uniloculados y éstos producen meiosporas que forman una nueva generación (microtalo). Esta última produce esporangios pluriloculados que liberan apicalmente esporas móviles que desarrollan primeramente un protonema y luego un talo adulto filamentoso donde se reconocen todos los elementos de la planta adulta, aunque su estructura es más laxa.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El ciclo de vida que observamos *in vitro* en *M. major*, heteromórfico con reproducción asexual incluyendo un macrotalo y un microtalo y sin reproducción sexual es característico también de otras es-

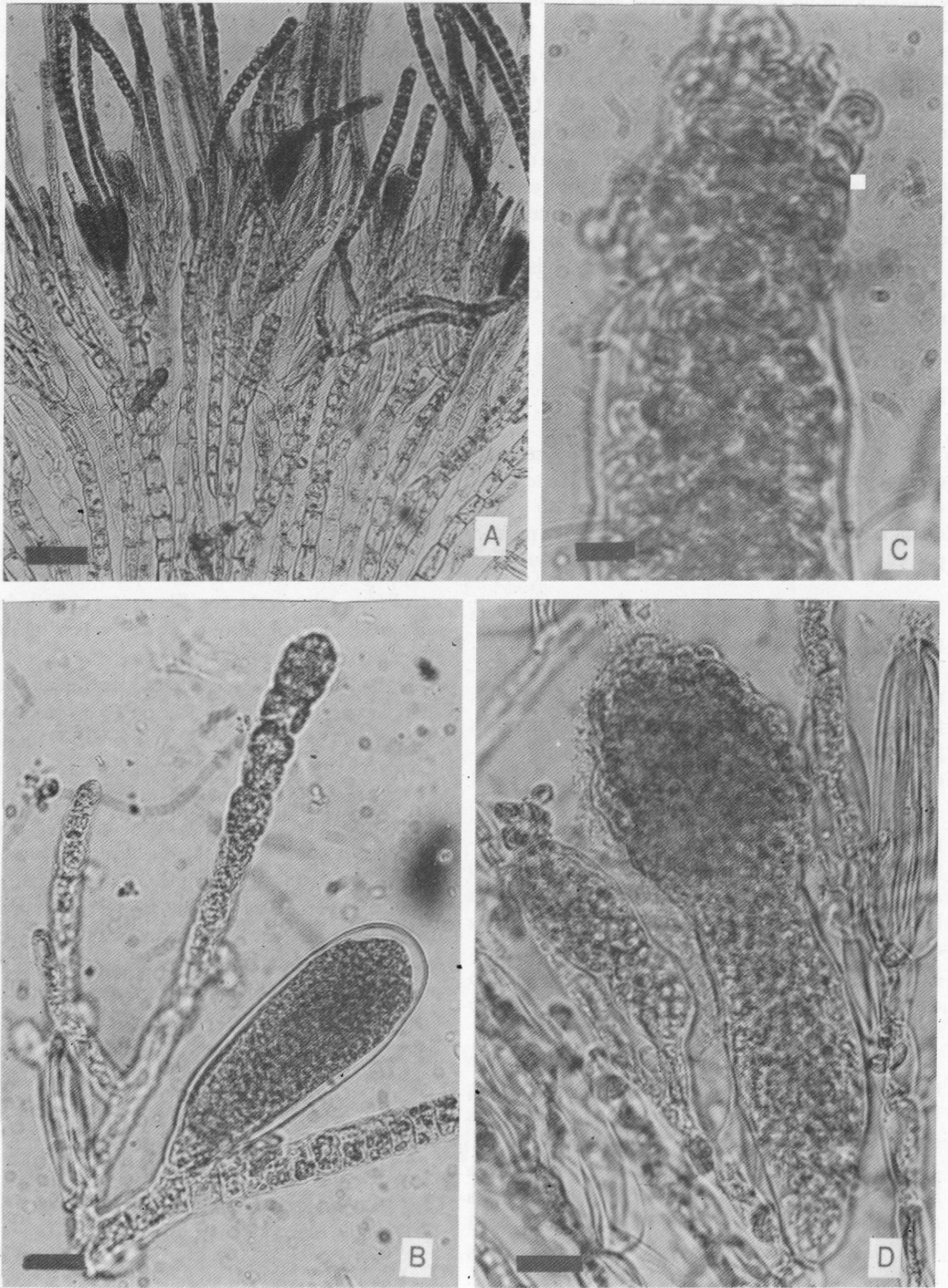


Fig. 2. Estructuras reproductoras de *M. major*. **A.** Filamentos vegetativos y esporangios uniloculados del macrotalo. **B.** Morfología de un esporangio uniloculado de *M. major*. **C.** Detalle de un esporangio liberando esporas por el extremo apical. **D.** Vista general de un esporangio liberando esporas en grandes masas. Escalas: **A.** 100 μm , **B y D.** 20 μm , **C.** 10 μm .

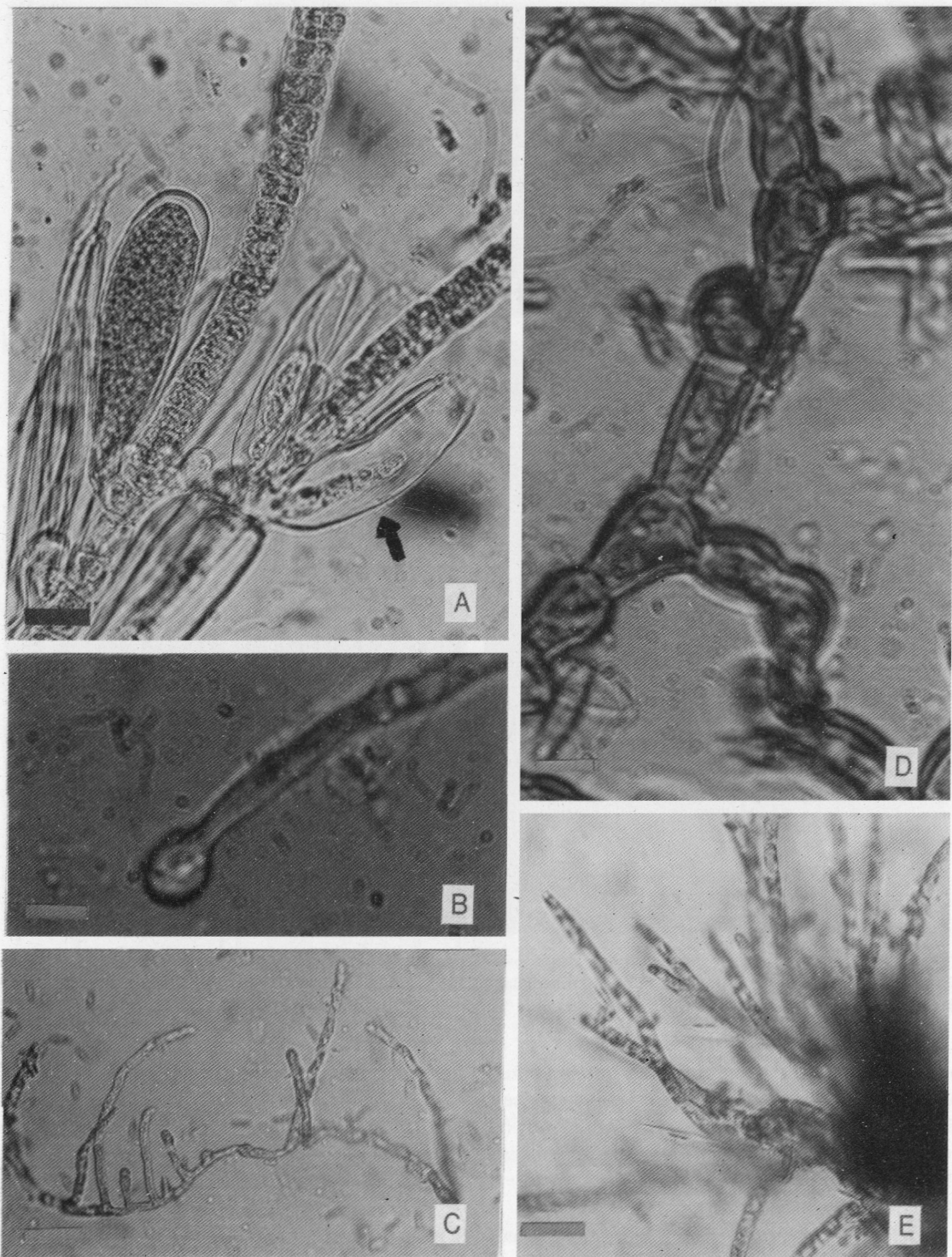


Fig. 3. Estructuras reproductoras y vegetativas de *M. major* A. Esporangios vacíos luego de liberar las esporas (flecha). B. Espora germinada luego de 24-48 horas. C. Microtalo originado por la germinación de una espore. D. Detalle de las células de los filamentos del microtalo con cloroplastos parietales y pirenoides. E. Filamentos erectos que emergen de la zona central del talo. Escalas: A y C. 20 μ m, B y D. 10 μ m, E. 100 μ m.

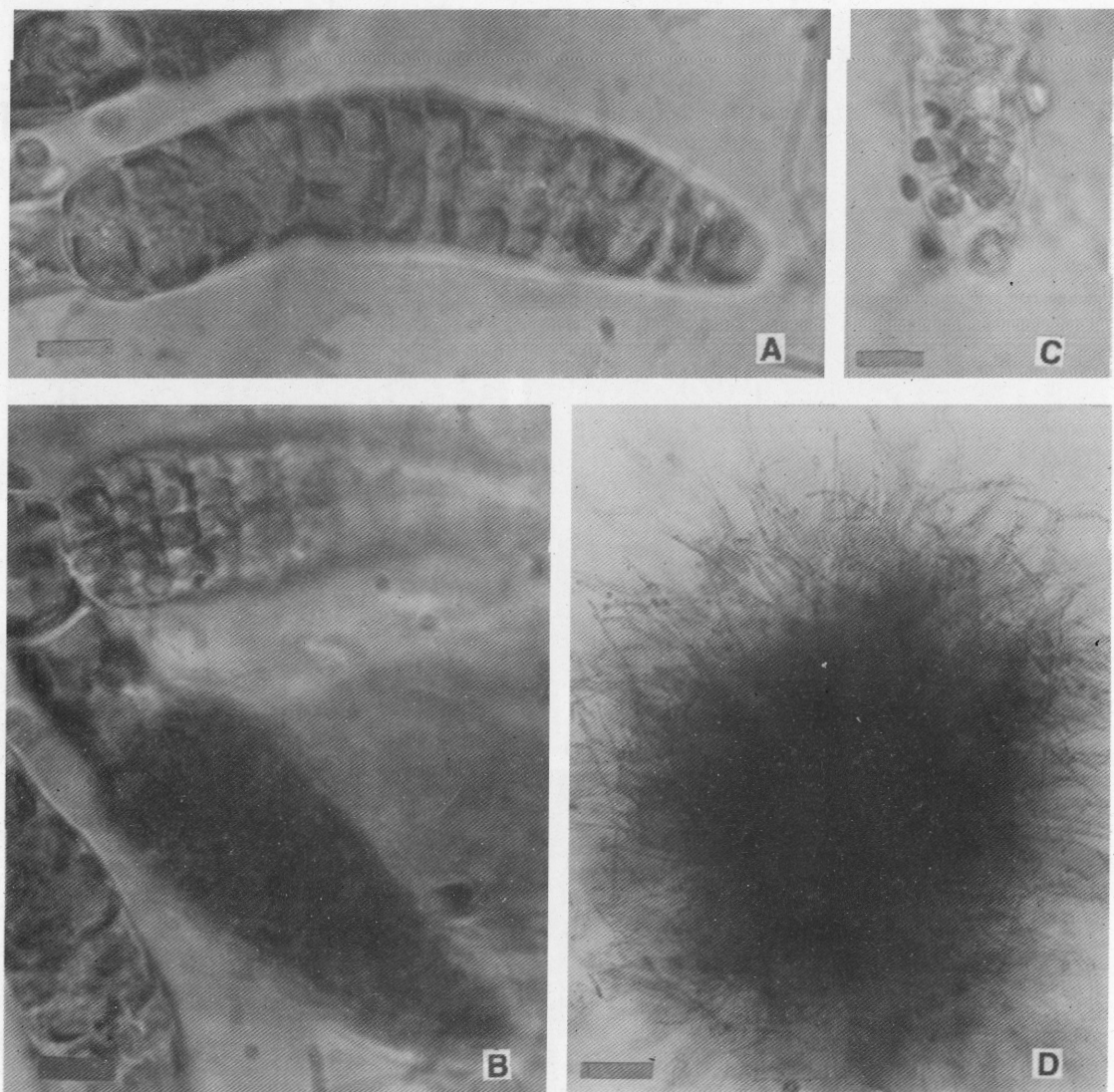


Fig. 4. Estructuras reproductoras del microtalo y talo joven de *M. major*. A. Esporangio con lóculos dispuestos en forma biseriada. B. Esporangio con lóculos en forma triseriada. C. Liberación de esporas. D. Macrotalo joven con filamentos asimiladores radiales. Escalas A-B-C. 20 μ m D. 100 μ m.

pecies de Chordariales como *Cylindrocarpus berkeleyi* y *Leathesia difformis* (Corynophlaeaceae), *Eudesme virescens* y *Chordaria flagelliformis* (Chordariaceae), *Spermatochnus paradoxus* (Spermatochnaceae) y *Elachista stellaris* (Elachistaceae) (Peters, 1987).

En el cultivo de *M. major* los zooides provenientes de esporangios uniloculados fueron expulsados en masa y no en forma individual como es típico en *Elachista stellaris* (Müller & Schmidt, 1988). El tipo de liberación de esporas no fue descrito por Asenci (1973). Peters (1987) señala que la forma masiva de liberar es-

poras es común en varias especies de Chordariales.

El microtalo de *M. major* produjo esporangios pluriloculados que liberaron zooides, los cuales, se fijaron sin fusionarse coincidiendo con lo observado por Kylin (1940) y Müller & Schmidt (1988) en *Elachista stellaris* y por Peters (1987) en *Cylindrocarpus berkeleyi*, *Leathesia difformis*, *Eudesme virescens*, *Cylindrocarpus berkeleyi* y *Spermatochnus paradoxus*.

Los esporangios con lóculos dispuestos en forma biseriada encontrados en el microtalo de nuestro cultivo son morfológicamente semejantes a los ob-

servados en *Nemacystus decipiens*, *Cylindrocarpus berkeleyi* y *Eudesme virescens* (Peters, 1987).

En las Dictyosiphonales y Chordariales la gametogénesis es gobernada por la temperatura y la luz (Deshmukhe, 1997). Wynne (1969) y Peters (1984, 1988, 1992) sostienen que la formación de gametofitos en algas pardas depende de la temperatura y del foto período y las gametas solo se forman en días cortos y temperaturas muy bajas.

El fotoperíodo de día largo parece inhibir la formación de gametas (Peters, 1987). En nuestro cultivo *in vitro* la temperatura relativamente alta y el fotoperíodo de día largo podrían ser entonces la causa por la cual no se ha observado reproducción sexual en este material.

El ciclo biológico de *M. major* obtenido en cultivo con talos de Punta Maqueda difiere con el descrito por Asensi (1973) en material de Puerto Deseado (Santa Cruz).

En su cultivo *in vitro*, las esporas dieron directamente talos adultos sin observar en su ciclo de vida

esporangios pluriloculados. Nuestras observaciones difieren también de las de Peters & Müller (1986) en *M. chilensis*, quienes observaron un ciclo heteromórfico, con un esporofito macroscópico y gametofitos microscópicos dioicos.

La ploidización ha sido frecuentemente encontrada en diferentes tejidos de plantas y animales (Bartoli *et al*, 1993 & Dunford, 1964).

Estimamos que de acuerdo al presente estudio, la división reduccional (meiosis) en *M. major* puede ocurrir durante el desarrollo de los esporangios uniloculados como lo observado en *Analipus japonicus* y *Eudesme* (Peters, 1987). Si este fuera el caso el restablecimiento de la fase diploide podría haberse llevado a cabo a través de una diploidización somática como se observó en *Elachista stellaris*, *Ectocarpus siliculosus* (Müller & Schmidt, 1988) y *Coilodesme japónica* (Deshmukhe, 1997). Queda planteada la necesidad de profundizar con otras técnicas el estado de ploidía de cada fase encontrada.

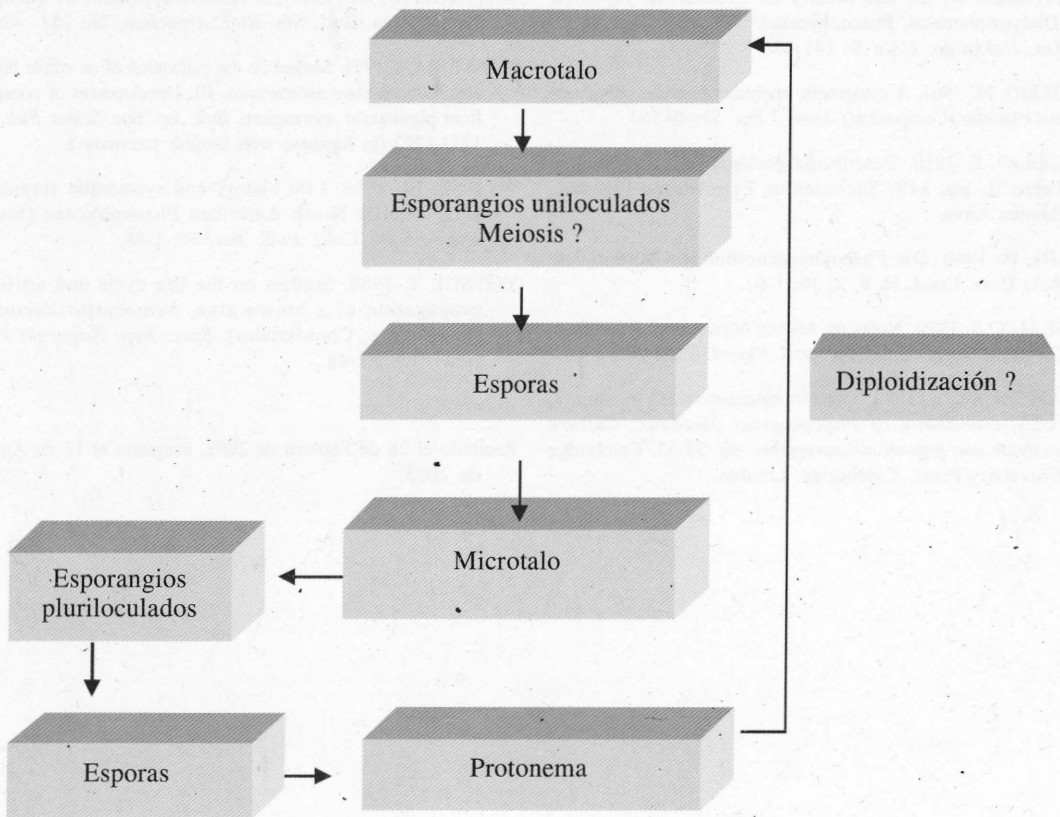


Fig. 5. Ciclo de vida propuesto para *Myriogloia major* con alternancia de dos generaciones sin reproducción sexual.

BIBLIOGRAFÍA

- AJISAKA, T. 1979. The life history of *Acrothrix pacifica*. Okamura et Yamada (Phaeophyta, Chordariales) in culture. *Jap. J. Phycol.* 27: 75-81.
- ARASAKI, S. 1948. On the life history of the *Acrothrix pacifica*, *Myriocladia kuromo* y *Petrospongium rugosum*. *Seibutsu* 3: 95-102.
- ASENSI, A. O. 1973. Una especie de alga Phaeophyta nueva para Argentina: *Myriogloia major* spec. nov. y el resultado de su cultivo "in vitro". *Darwiniana*. 18: 153-161.
- BARTOLI, A., FRAYSSINET, N. & ROITMAN, G. 1993. Presencia de hexaploides (2n: 36) en *Grindelia chilensis* (Asteraceae). *Bol Soc. Arg. Bot.* 29: 139-142.
- COLLANTES, G. & MELO, C. U. 1995. Cultivo de tejidos y células en algas marinas. En: K. Alveal, M. E. Ferrario, C. Olivera & E. Sar (eds.). *Manual de Métodos Ficológicos*, pp. 457-477. Univ. de Concepción, Concepción. Chile.
- DANGEARD, P. 1969. À propos des travaux récents sur le cycle évolutif de quelques Phéophycées, Phéosporées. *Botaniste* 52: 59-102.
- DESHMUKHE, G. V. 1997. Effect of temperature and daylength on the life history of *Coilodesme japonica* (Dictyosiphonales, Phaeophyceae). *SCI. PAP. Inst. Algal. Res. Hokkaido. Univ.* 9: 141-157.
- DUNFORD, M. 1964. A cytogenetic analysis of certain polyploids in *Grindelia* (Compositae) *Amer. J. Bot.* 51: 49-56.
- FERUGLIO, E. 1950. Descripción geológica de la Patagonia. Tomo II, pp. 349. Yacimientos Petrolíferos Fiscales, Buenos Aires.
- KYLIN, H. 1940. Die Phaeophyceenordnung Chordariales. *Acta Univ. Lund. N. F.* 2, 36: 1-67.
- LOISEAUX, S. 1970. Notes on several Myrionemataceae from California using culture studies. *J. Phycol.* 6:248-260.
- MC LACHLAN, J. 1973. Growth media-marine. In Stein J. (ed.), *Handbook of Phycological Methods, Culture methods and growth measurements*, pp. 25-53. Cambridge University Press. Cambridge. London.
- MÜLLER, D. G. & SCHMIDT, U.U. 1988. Culture studies on the life history of *Elachista stellaris* Aresch. (Phaeophyceae, Chordariales). *Br. Phycol. J.* 23: 153-158.
- PARKE, M. 1933. A contribution to knowledge of the Mesogloeaceae and associated families. *Publ Hartley Bot. Labs.* 9: 1-43.
- PETERS, A. F. 1984. Observation on the life history of *Papenfussiella callitricha* (Phaeophyceae, Chordariales) in culture. *J. Phycol.* 20: 409-414.
- PETERS, A. F. 1987. Reproduction and sexuality in the Chordariales (Phaeophyceae) A review of culture studies. In: F. E Round. & D. J Chapman (eds.), *Progress in Phycological Research* 5: 223-263. Bio Press, Bristol.
- PETERS, A. F. 1988. Culture Studies of a Sexual Life History in *Myriotrichia clavaeformis* (Phaeophyceae, Dictyosiphonales). *Br. Phycol. J.* 23: 299-306.
- PETERS, A. F. 1992. Culture studies on the life history of *Chordaria linearis* (Phaeophyceae) from Tierra del Fuego, South America. *J. Phycol.* 28: 678-683.
- PETERS, A. F. & MÜLLER, D. G. 1985. Culture studies on the life history of *Myriogloea chilensis* (Mont.) Llaña Phaeophyceae, Chordariales). *Botanica Marina* 29: 43-48.
- SAUVAGEAU, C. 1929. Sur le développement de quelques Phéosporées. *Bull. Stn. Biol. Arcachon*, 26: 251-420.
- SHINMURA, I. 1974. Studies on the cultivation of an edible brown alga, *Cladosiphon okamuranus*. III. Development of zoospore from plurilocular sporangium. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* 40: 1213-1222 (in Japanese with English summary).
- WYNNE, M. 1969. Life history and systematic studies of some Pacific North American Phaeophyceae (brown algae). *Univ. Calif. Publ. Bot.* 50: 1-88.
- YOTSUI, T. 1980. Studies on the life cycle and artificial propagation of a brown alga, *Nemacystus decipiens* (Phaeophyta, Chordariales). *Spec. Rep. Nagasaki Pref. Inst., Fish.* 7:1-48.

Recibido el 26 de Febrero de 2003, aceptado el 13 de Agosto de 2003.