

MORFOLOGÍA Y CICLO DE VIDA DE *BATRACHOSPERMUM ATRUM* VAR. *PUIGGARIANUM* (BATRACHOSPERMALES, RHODOPHYTA)

MARÍA CECILIA GAUNA¹ & ELISA R. PARODI¹

¹Laboratorio Ecología Acuática, Departamento Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, 8000 Bahía Blanca, Argentina. E-mail: cgauna@criba.edu.ar

²Instituto Argentino de Oceanografía (I. A. D. O.), C.C. 804, 8000 Bahía Blanca, Argentina

ABSTRACT: Gauna, M. C. & Parodi, E. R. 2005. Morphology and life cycle of *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum* (Batrachospermales, Rhodophyta). *Darwiniana* 43(1-4): 57-63.

Batrachospermum atrum var. *puiggarianum* was collected for the first time in Buenos Aires province. The identification of samples was based on microscopic morphology and chromosomic number analyses of each generations of the life cycle under culture conditions. The thalli were studied with optical microscopy, and karyology according to carmine acetic technique. Life cycle showed three generations: an haploid gametophyte, a diploid carposporophyte and the last *Chantransia* diploid phase. Gametophytes exhibited separate whorls of densely compressed primary branches, some of those branches bearing spermatangia or carpogonium. Internodes were constituted by globose axial cells and cortical cells. The ovoidal carposporophytes were formed by gonimoblastic filaments bearing terminal carposporangia. The *Chantransia* stage was characterized for short filaments of few cells. The studied material showed a chromosome haploid number $n = 4$, and diploid number $2n = 8$.

Keywords: *Batrachospermum*, Morphology, Life cycle, Chromosome number.

RESUMEN: Gauna, M. C. & Parodi, E. R. 2005. Morfología y ciclo de vida de *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum* (Batrachospermales, Rhodophyta). *Darwiniana* 43(1-4): 57-63.

Se coleccionó *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum* por primera vez en la provincia de Buenos Aires. La identificación de las muestras se basó en el análisis de la morfología microscópica y en el número cromosómico de cada una de las generaciones de su ciclo de vida bajo cultivo. Los talos se estudiaron con microscopio óptico, y la cariología, por medio de la técnica de carmín acético. El ciclo de vida presentó tres generaciones: una gametofítica haploide, una carposporofítica diploide que originó la última fase *Chantransia* diploide. Los talos gametofitos estuvieron formados por verticilos separados por zonas internodales, cada uno de ellos constituidos por ramas primarias densamente comprimidas. Entre éstas se observaron ramas portadoras de espermatangios y de carpogonios. Las zonas internodales estuvieron constituidas por células corticales y axiales. Los carposporofitos ovoideos estuvieron formados por filamentos gonimoblásticos portadores de carposporangios terminales. El estado *Chantransia* se caracterizó por presentar filamentos cortos con pocas células. El material estudiado presentó un número haploide $n = 4$ y diploide $2n = 8$.

Palabras clave: *Batrachospermum*, Morfología, Ciclo de vida, Número cromosómico.

Original recibido el 19 de abril de 2004; aceptado el 25 de abril de 2005.

INTRODUCCIÓN

En la Argentina son muy escasos los trabajos referidos a Rhodophyta de agua dulce en general, y en especial al género *Batrachospermum*. Este género, exclusivamente dulceacuícola, comprende el 41% de todas las especies de algas rojas de agua dulce. El género presenta problemas taxonómicos en lo que concierne a la circunscripción de las especies y a la definición de criterios para su identificación. Por ello, Mori (1975) propuso el empleo de características adicionales como, el diámetro de los verticilos, el modo de adhesión de los espermacios a la tricógina, la localización de los gametangios y la presencia de sustitución dioica o monoica. Por otro lado, Bourrelly (1970) y Necchi (1987) añadieron el análisis de las características de los filamentos gonimoblásticos a la identificación de las especies de *Batrachospermum*.

Este género, en la Argentina, fue citado para Tierra del Fuego (Hariot, 1889; Gain, 1912), Islas Malvinas (Hariot, 1889; De Toni, 1897; Gain, 1912) y Cabo de Hornos (Kützing, 1849; De Toni, 1897). De acuerdo con los trabajos de Pujals (1963, 1968) y Necchi (1989), la única cita para ambientes decididamente continentales fue *Batrachospermum puiggarianum* Grunow para la provincia de Córdoba.

El objetivo de esta investigación fue analizar la morfología, la cariólogía y el ciclo de vida de *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum* con el objetivo de dar bases para una más precisa diagnosis para la República Argentina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ejemplares fueron coleccionados en el arroyo Napostá en su paso por la ciudad de Bahía Blanca, específicamente en el Parque de Mayo. Los talos crecieron fijos a rocas a escasos centímetros de profundidad. Los muestreos fueron realizados desde agosto a diciembre de 2002. El material se mantuvo en cultivo a una temperatura ($21^{\circ}\text{C}\pm 1$) y fotoperíodo (12:12) controlados. Los estudios morfológicos y citomorfológicos de los diferentes estados del ciclo de vida se realizaron con microscopio estereoscópico y óptico con contraste de fases. Para su conservación, el material fue posteriormente fijado con Formol al 4% y depositado en el Herbario del Laboratorio de Ecología Acuática, Departamen-

to de Biología, Bioquímica y Farmacia, de la Universidad Nacional del Sur, bajo la siguiente denominación: ARGENTINA. Buenos Aires. Bahía Blanca: Arroyo Napostá, bajo puente del ferrocarril, 23 VIII. 2002, LEA Gauna 1 y ARGENTINA. Buenos Aires. Bahía Blanca: Arroyo Napostá, en la intersección con Canal Maldonado. 23 VIII. 2002, LEA Gauna 2.

Para los estudios cariológicos se fijó indistintamente con una solución de alcohol etílico-ácido acético glacial (3:1) o con una solución de formaldehído-alcohol etílico-ácido acético glacial (6:3:1) y se empleó la coloración de carmín acético (Jensen, 1962).

RESULTADOS

Morfología. Los talos gametofíticos presentaron ramificación abundante (Fig. 1A), fueron verde oliváceos y de consistencia poco mucilaginosa. Su altura varió entre 2 y 5 cm. Los verticilos reducidos, esféricos o subcónicos (Fig. 1B, C), estuvieron separados por zonas internodales. En las ramas principales, la distancia internodal fue de 0,53 mm, con un diámetro promedio de 80,6 (54,6-123,2) μm . Los diámetros de los verticilos de las ramas principales presentaron un valor medio de 146,24 (101,2-126) μm . Los verticilos de las ramas primarias tuvieron un diámetro menor, 81,68 (57,4-126) μm y el de las zonas internodales fue de 59,91 (44,8-85,4) μm (Tabla 1).

Cada talo estuvo constituido por células axiales de posición central, de diferentes dimensiones de acuerdo a su ubicación en el talo y grado de desarrollo (Fig. 1D y F). En las ramas principales se observó una única hilera de células axiales entre dos nodos consecutivos, las mismas presentaron forma alargada con una longitud máxima de 460 μm (Fig. 1F). En estas células axiales se observó un gran núcleo de posición central, cuyas dimensiones variaron entre 11,2-13,44 (19,04) μm (Fig. 1G). En las ramas primarias, las células axiales tuvieron una longitud de 80,88 \pm 48,90 μm y una anchura de 30,70 \pm 6,95 μm (Fig. 1F).

Las células corticales alargadas, se ubicaron rodeando a las axiales, con 6,29 \pm 1,46 μm de anchura y 20,12 \pm 4,33 μm de longitud (Fig. 1E). Entre estas células se pudo observar en los tabiques intercelulares, a los característicos "pit plug" (Fig. 1H).

Tabla 1.- Morfometría de *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum*.

PARÁMETRO	Rango tamaño	Media	Desvío estándar	N
Diámetro del verticilo, rama principal (μm)	73,6-(101,2-126)-288	146,24	43,01	33
Diámetro del verticilo, rama primaria (μm)	57,4-126	81,68	13,41	135
Longitud del internodo, rama principal (μm)	324-(405-684)-756	535,82	87,65	41
Número de ramas primarias	1-4	1,94	0,88	34
Número células de las ramas secundarias	2-5	2,55	0,89	52
Diámetro del espermatangio (μm)	3,92-8,96	6,18	1,22	50
Rama que sustenta carpogonio (número de células)	2-4	3,12	0,64	8
Diámetro del carpogonio (μm)	4,48-7,84	6,31	0,70	111
Longitud del carpogonio (μm)	13,44- (19,6-35,84)	24,50	3,57	80
Diámetro del carposporófito (μm)	58,8-(61,6-126)-148,4	93,35	20,06	55
Altura del carposporófito (μm)	26,6-(36,4-106,4)-140	66,44	16,98	46
Filamentos gonimoblásticos (número de células)	3-9	5,41	1,57	30
Diámetro del carposporangio (μm)	5,6-12,32	7,73	1,55	60
Longitud del carposporangio (μm)	5,6-15,68	8,28	2,29	60

En los talos de aspecto piloso, los pelos hialinos alargados, con la base levemente engrosada y ápice refringente (Fig. 1I), se observaron principalmente sobre las terminaciones apicales.

Las zonas internodales presentaron escasos filamentos bracteoides cortos, constituidos por 1 a 2 células.

Cada verticilo, estuvo formado por 1 a 4 ramas primarias, rectas o levemente curvadas que se desarrollaron a partir de una célula basal esférica. Las ramas primarias presentaron de 1 a 4 ramificaciones secundarias (Fig. 1J). Cada rama secundaria estuvo constituida por 2 a 5 células (Fig. 1K). Las células proximales fueron doliiformes o cilíndricas, con una longitud de 8,17 (4,48-11,76) μm y una anchura de 7,76 (4,48-11,2) μm . Las células distales fueron predominantemente cilíndricas, con una longitud de 7,78 (4,48-14,56) μm y una anchura de 7,18 (5,6-8,96) μm .

Los espermatangios esféricos u ovoides tuvieron ubicación terminal o subterminal sobre las ramas secundarias y raramente sobre las primarias. Su diámetro fue de 6,18 (3,92-8,96) μm .

Los carpogonios se ubicaron en los verticilos y en las terminaciones apicales, presentaron un diámetro medio de 6,31 (4,48-7,84) μm , una longitud de 24,50 (19,6-35,84) μm y finalizaron en una tricógina con forma de clava. Nunca se los observó pedicelados y frecuentemente presentaron una vacuola en

su interior (Fig. 2A). El filamento carpogonial o procarpio, levemente arqueado, estuvo constituido por 2 a 4 células cilíndricas, que se originaron de células basales o proximales de las ramas primarias y raramente de las secundarias.

Los carposporófitos esféricos, desnudos, se distribuyeron por todo el talo especialmente en las regiones nodales (Fig. 2C). Su diámetro fue de 93,35 (61,6-126) μm , su altura de 66,44 (36,4-106,4) μm (Fig. 2D) y estuvieron constituidos por filamentos gonimoblásticos formados por 3 a 9 células (Fig. 2F), con 45,60 (23,52-67,2) μm de longitud y 9,56 μm (6,72-16,8) μm de diámetro. Las células basales fueron alargadas de 10,15 (12,32-7,28) μm de longitud y 8,05 (6,72-10,64) μm de anchura. Las células intermedias, también alargadas, presentaron una longitud de 10,04 (16,8-6,72) μm y una anchura de 8,90 (6,72-12,32) μm . Los carposporangios esféricos y de ubicación siempre terminal, tuvieron una longitud de 8,28 (5,6-15,68) μm y una anchura de 7,73 (5,6-12,32) μm .

El estado *Chantransia* se caracterizó por la presencia de filamentos cortos y delgados, que se encontraron en el ambiente natural adheridos al sustrato rocoso (Fig. 2G). La longitud total de los filamentos fue de 103,6 μm y estuvieron constituidos por 3 a 4 células alargadas, con una longitud de 26,88 μm (5,6-36,96) μm y una anchura de 13,13 (10,64-20,16) μm (Fig. 2H).

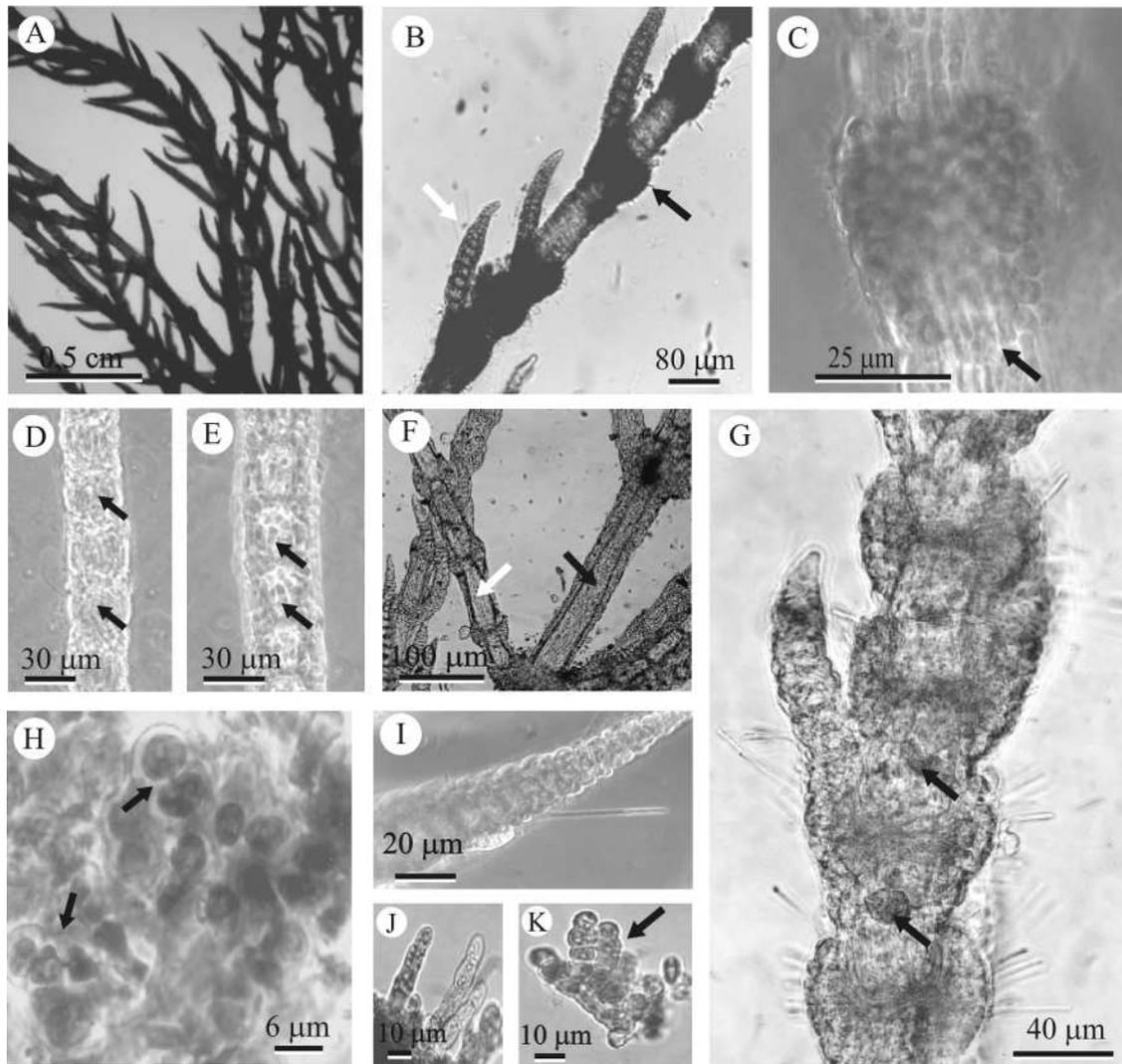


Fig. 1.- *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum*. A: talo gametofítico. B: detalle de rama joven con verticilos (flecha negra) y ramificaciones jóvenes incipientes (flecha blanca). C: verticilo de forma subcónica característica, por debajo se observan las células corticales internodales (flecha). D: talo con células axiales en foco. E: mismo talo que D pero con las células corticales en foco. F: vista general de ramas gametofíticas que muestra las células axiales. Nótese la longitud considerable que alcanzan (flecha negra) y las células en crecimiento de menor tamaño (flecha blanca). G: detalle del talo que muestra los núcleos de gran tamaño de las células axiales (flechas). H: "pit plugs" (flechas). I: pelo apical con el contenido citoplasmático en su extremo distal. J: disección de verticilo que muestra las ramas rectas. K: disección de verticilo constituido por cuatro ramas secundarias (flecha).

Ciclo de vida. El ciclo de vida de la especie estuvo caracterizado por un gametófito monoico constituido por filamentos haploides ramificados en verticilos. Los gametangios masculinos (espermatangios) se desarrollaron especialmente sobre las ramas secundarias en posición terminal o subterminal, formados por una única célula, cuyo citoplas-

ma se consumió en la formación de un espermacio esférico. Los gametangios femeninos (cargogonios) se hallaron situados entre las ramas portadoras de espermatangios, siempre en posición terminal y estuvieron constituidos por una única célula alargada, con su parte inferior dilatada y la superior prolongada en una tricógina claviforme.

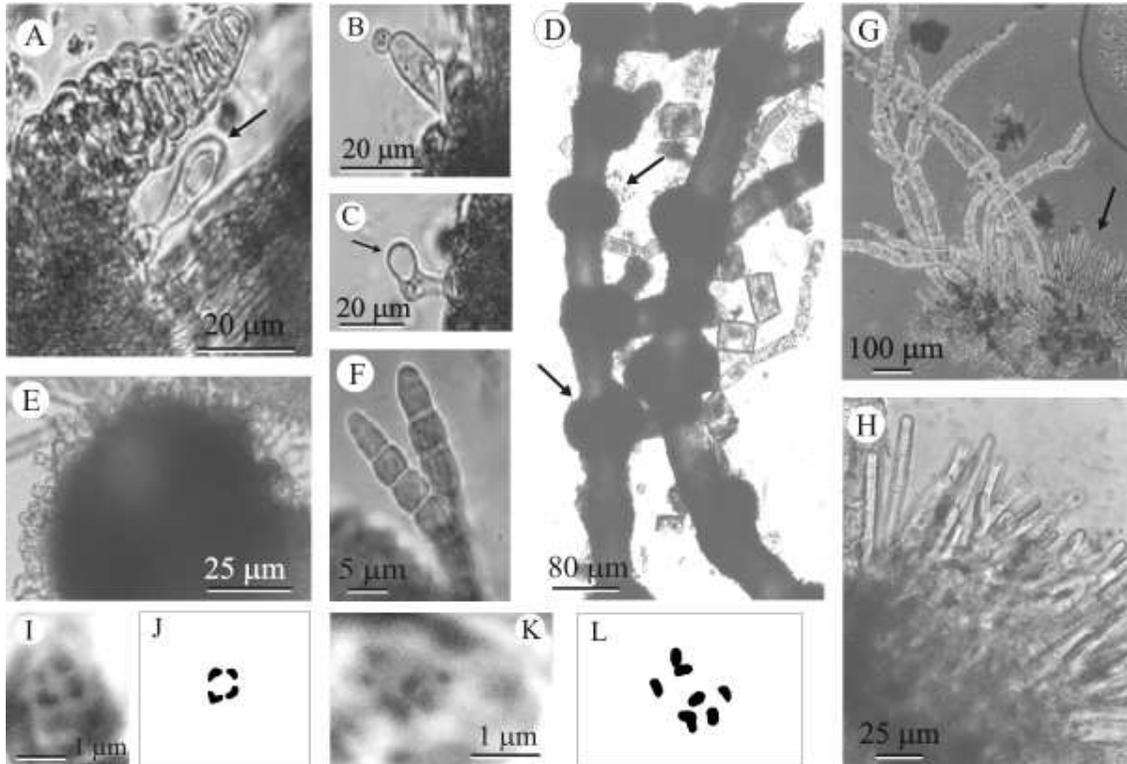


Fig. 2.- *Batrachospermum atrum* var. *puiggarianum*. A: carpogonio en formación con vacualización incipiente (flecha). B: fecundación. Obsérvese la unión del espermatocito a la tricógina. C: carpogonio fecundado con una gran vacuola en su interior (flecha). D: vista general del talo con carposporófitos desarrollados (flechas). E: carposporófito esférico. F: disección de carposporófito, obsérvese los filamentos gonimoblásticos portadores de carposporangios apicales. G: estado *Chantransia* (flecha). H: detalle de los filamentos chantránsicos. I: célula haploide del gametófito con 4 cromosomas. Tinción con carmín acético. J: reconstrucción de placa metafásica $n = 4$. K: célula diploide en diferentes planos con 8 cromosomas. Tinción con carmín acético. L: reconstrucción de placa metafásica $2n = 8$.

Los carposporófitos constituidos por filamentos gonimoblásticos diploides, se desarrollaron a partir del cigoto y permanecieron unidos al gametófito. En sus células terminales se formaron las mitósporas esféricas, que correspondieron a carpósporas diploides. Estas células aflageladas se liberaron como cuerpos esféricos y generaron el estado *Chantransia*.

Éste se caracterizó por la presencia de filamentos diploides microscópicos, escasamente ramificados que representó al proembrión del gametófito haploide que luego origina. La meiosis se produjo en células aisladas del filamento, sin la formación de meiósporas. Estas células haploides desarrollaron el gametófito macroscópico de ramificación verticilada.

Número cromosómico. Se determinó el número cromosómico haploide del material estudiado, $n = 4$ y el número diploide $2n = 8$ y pudo evidenciarse la ausencia de un núcleo adicional en la tricógina (Fig. 2I-L).

DISCUSIÓN

Los ejemplares estudiados, al igual que los observados por Sheath et al. (1993), revelaron coincidencias con *B. atrum* (Hudson) Harvey en el diámetro de los verticilos y número de células de la rama carpogonial, con *B. orthostichum* Skuja en el diámetro de los verticilos y carposporangios, y con *B. sertularina* (Bory) Bory en el largo de los carpogonios. Ya Sirodot (1884) consideró a *B. sertularina* sinónimo de *B. atrum* (Starmach, 1977; Entwisle, 1992), y Sheath et al. (1993) también consideraron a

B. orthostichum como sinónimo de *B. atrum* ya que ambas carecen de diferencias significativas para ser tratadas como especies diferentes. Compartimos los criterios de estos autores y, por lo tanto, las observaciones realizadas confirman la identidad específica de los ejemplares como *B. atrum*.

Además, la altura del carposporófito, el diámetro del carpogonio y el de los verticilos de los ejemplares estudiados coincidieron con *B. puiggarianum* Grunow, especie que según Necchi (1989), no presenta características distintivas suficientes para diferenciarla de *B. atrum* y por ello propuso considerar a *B. puiggarianum* como una variedad de *B. atrum* (Hudson) Harvey var. *puiggarianum* (Grunow) Necchi, criterio que compartimos.

Kylin (1912) y Bourrelly (1970) señalaron que las principales diferencias entre los géneros *Batrachospermum* y *Sirodotia* residen en las características de los filamentos gonimoblásticos, especialmente en su influencia en la forma del carposporófito, que es compacto, esférico o semiesférico en *Batrachospermum* y sin forma definida en *Sirodotia* (Necchi, 1987; Sheath et al. 1993).

Los talos de *B. atrum* var. *puiggarianum* suelen identificarse erróneamente como pertenecientes a *Compsopogon*, ya que los patrones de crecimiento de los gametófitos en ambas especies son similares, aún cuando en este último género no existe una clara distinción entre las zonas nodales e internodales (Necchi, 1989).

De acuerdo con Necchi (1990) y Eloranta & Kwandrans (2002), de 178 especies de agua dulce, 73 taxones se encuentran ubicados en el género *Batrachospermum*. El mismo fue dividido por Sirodot (1884) y Skuja (1931) en 7 secciones basándose en la coloración de los talos gametofíticos, en las formas de las tricóginas y en el número y localización de los carposporófitos.

Las características de la especie *B. atrum* var. *puiggarianum* coinciden con las señaladas por Sirodot (1884) al establecer la sección *Setacea* (De Toni, 1897). También lo hacen con los ejemplares descritos por Necchi (1989). Por otro lado, la ausencia de ramas carpogoniales enrolladas en hélice, propia de la sección *Contorta* (Sheath et al. 1993), confirma su ubicación en la sección *Setacea*.

Asimismo, el estudio cariológico confirmó la identificación de los ejemplares estudiados y que en la fase haploide presentaron $n = 4$, previamente hallado para la especie por Sheath & Cole (1993). El

número cromosómico $2n = 8$, determinado en células del carposporófito no había sido señalado hasta la fecha para esta especie y permitió comprobar la alternancia entre las fases haploide y diploide.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió con fondos de la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional del Sur, PGI CSU- 24/B 077 otorgado a E. R. P. Las autoras agradecen al Dr. E. J. Cáceres la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Bourrelly, P. 1970. *Les Algues d'Eau Douce. Initiation à la Systématique*. Ed. Boubée et Cie, París.
- De Toni, G. B. 1897. *Sylloge algarum: Florideae. Typis Seminarii, Palavii*.
- Eloranta, P. & Kwandrans, J. 2002. Notes on some interesting freshwater Rhodophyta from Finland. *Arch. Hydrobiol. Suppl. Algol. Stud.* 105: 95-109.
- Entwistle, T. J. 1992. The setaceous species of *Batrachospermum* (Rhodophyta): a re-evaluation of *B. atrum* (Hudson) Harvey and *B. puiggarianum* Grunow including the description of *B. diatyches* sp. nov. from Tasmania, Australia. *Muelleria* 7: 425-445.
- Gain, M. L. 1912. La flore algologique des régions antarctiques et subantarctiques, in Charcot, J., *Deuxième expédition antarctique française 1908-1910. Sci. Nat. Doc. Sci. París*.
- Hariot, P. 1889. Algues in Mission scientifique du Cap Horn. (1882-83). *Bot.* 5: 1-109.
- Jensen, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry*. Eds. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Kylin, H. 1912. Studien über die schwedischen Arten der Gattungen *Batrachospermum* Roth und *Sirodotia* nov. gen. *Nova Acta Regiae Soc. Sci. Upsal. ser.* 4, 3: 1-40.
- Kützing, F. T. 1849. *Species algarum. Lipsiae*. VI.
- Mori, M. 1975. Studies on the genus *Batrachospermum* in Japan. *J. Jap. Bot.* 20: 461-485.
- Necchi, O. Jr. 1987. Studies on the freshwater Rhodophyta of Brazil-3: *Batrachospermum* sp. nov. from the State of São Paulo, Southern Brazil. *Revista Bras. Biol.* 47: 41-446.
- . 1989. Rhodophyta de água doce do Estado de São Paulo: Levantamento taxonômico. *Bol. Bot. Univ. São Paulo* 11: 11-69.
- . 1990. Revision of the genus *Batrachospermum* Roth (Rhodophyta, Batrachospermales) in Brazil. *Bibl. Phycol.* 84: 1-201.

- Nordestedt, O. 1883. Sobre algunas algas de la República Argentina. *Bol. Acad. Nac. Ci. Córdoba*. 4:81-187.
- Pujals, C. 1963. Catálogo de Rhodophyta citadas para la Argentina. *Revista Mus. Argent. Ci. Nat. Bernardino Rivadavia Inst. Nac. Invest. Ci. Nat., Bot.* 3: 1-139.
- . 1968. Revalidación de algunas especies argentinas de Rhodophycophyta. *Comun. Mus. Argent. Cienc. Nat. "Bernardino Rivadavia" Inst. Nac. Invest. Cienc. Nat. (Argent.) Hidrobiol.* 54: 1-2.
- Sheath, R.G. & Cole, K. M. 1993. Distribution and systematics of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America. 2. Chromosome numbers. *Phycologia* 32 : 304-306.
- , L. M. Vis & Cole, K. M. 1993. Distribution and systematics of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America 3. Section Setacea. *J. Phycol.* 29: 719-725.
- Sirodot, S. 1884. *Les Batrachospermes, Organisation, Fonctions, Développement, Classification*. Paris.
- Starmach, K. 1977. *Flora Slodkowodna Polski Tom 4: Phaeophyta- Brunatnice and Rhodophyta-Krasnorosky*. Polska Academia Nauk, Warszawa.
- Skuja, H. 1931. Einiges zur Kenntnis der brasilianischen *Batrachospermum*. *Hedwigia* 71: 78-87.