

CULTIVO ARTIFICIAL DE *MACROCYSTIS PYRIFERA* (L.)
C.A. AGARDH (PHAEOPHYTA, LAMINARIALES)

HECTOR ETCHEVERRY Y GLORIA COLLANTES *

A B S T R A C T: The artificial culture of *Macrocystis pyrifera* (L.) C.A. Agardh in the laboratory was carried out considering parameters that regulate its growth in order to know the life cycle of the species and study the possibility of its transplant to the coast of Britany (France).

The present paper describes the liberation of zoospores, gametophyte development and formation of a new sporophyte.

New data are given regarding cultures undertaken for the same species in other countries.

Macrocystis pyrifera represents a valuable resource, and the knowledge of its life cycle is imperative to achieve adequate management.

I N T R O D U C C I O N

Entre los recursos algológicos chilenos de importancia industrial se encuentran las especies del género *Macrocystis* C.A. Agardh 1821, del Orden Laminariales.

Los trabajos publicados referentes a la composición química y taxonomía de las especies de *Macrocystis* son numerosos, se ha hecho poco sobre la biología y ciclo de vida, salvo los de Delf y Levyns (1933), Neushul (1963), North (1971) y Skottsberg (1907), todos ellos realizados en base a material de las costas del Pacífico Norte, de Nueva Zelanda, Africa del Sur y Chile Austral.

Aprovechando la experiencia lograda en cultivos de otras especies (Etcheverry et al., 1977) decidimos iniciar el presente trabajo estimulados por una petición de F.A.O. y del Dr. R. Pérez del Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes de Nantes en Francia para evaluar la posibilidad de introducir el alga *Macrocystis pyrifera* de Chile, en el litoral francés, debido a la disminución de las especies de Laminarias, representantes del mismo orden, materia prima de la industria francesa de alginatos y movidos principalmente por el creciente interés de los industriales chilenos en nuestros recursos algológicos.

Para emprender esta tarea, era indispensable y condición previa, tener conocimiento de su ciclo de vida en nuestras costas.

El presente trabajo aborda sólo este aspecto, ya que la experiencia de implantación de *Macrocystis pyrifera* de las costas de Chile, a las costas de Bretaña, había sido ya objeto de una publicación (Braud et al. 1974).

Caracteres genéricos y especies del litoral chileno.—El género fue establecido por C.A. Agardh en 1821, en base al *Fucus pyriferus* de Lineo, su área de dispersión se extiende desde la Antártica y avanza a lo largo de la costa chilena y peruana, desaparece en el trópico y reaparece en la costa occidental de los Estados Unidos (Baja California), llegando por el Norte hasta Canadá y Alaska. También se encuentra en Africa del Sur, Nueva Zelanda y Australia. Es, pues, un género bipolar, pero su distribución principal es circum-subantártica.

* Laboratorio de Botánica, Depto. Biología, Universidad de Chile de Valparaíso, Casilla 130-V, Valparaíso.

El género se puede caracterizar por presentar un esporófito macroscópico que es un cladoma, la planta adulta de gran longitud, perenne, crece desde un órgano adhesivo cónico o rizoide provisto de hapterios ramificados. Este se continúa en el estípite o caulóide, tallo derecho, cilíndrico, 2-4 veces dicotómicamente ramificado cerca de la base, formando varios estípites secundarios de gran longitud. A lo largo de ellos se encuentran los frondes, filoides, que se producen en un solo lado, con aerocistes globosos, ovales o piriformes, resultado de la dilatación de la base del pecíolo.

La estructura anatómica presenta epidermis, corteza y médula. Las especies del género crecen en costas rocosas en lugares abiertos, bahías tranquilas o agitadas; en ciertos lugares la acumulación de estas algas constituye los llamados lechos o praderas (beds.).

Las especies dadas para Chile son numerosas. Montagne (1852) describe 6, De Toni (1895) 3; pero Skottsberg (1907) las reduce sólo a una, *Macrocystis pyrifer*.

La clasificación tradicional se basa en los caracteres morfológicos del fronde y forma del aerociste, todos muy variables, sin embargo, aquí adoptamos el criterio establecido por Womersley (1954), Setchell (1932) y otros que consideran como órgano diferenciador de las especies al disco adhesivo, apoyado en observaciones de terreno y en el numeroso material colectado a lo largo del país.

De acuerdo con este último criterio las especies dadas para Chile serían sólo dos:

1. *Macrocystis pyrifer* (L.) C.A. Agardh, 1821 Sp. I. p. 46.
Sinonimia *Fucus pyriferus* L. 1771. p. 311.
Distribución: Talcahuano a Cabo Hornos.
2. *Macrocystis integrifolia* Bory 1826 Dict. class. de Hist. Nat. vol. X p. 10.
Distribución: Arica a Talcahuano.

Ambas se pueden diferenciar por la clave siguiente:

- A. Disco adhesivo consistente en un eje central derecho, del cual salen hacia abajo hapterios en todas direcciones, que fijan el alga al substrato. *Macrocystis pyrifer*.
- B. Disco adhesivo consistente en una porción rastrera rizomatosa aplanada, desde cuyos bordes laterales salen hapterios ramificados. *Macrocystis integrifolia*.

La especie que cultivamos es *M. pyrifer*, el huiro, y se reconoce por su mayor tamaño; pasa por ser el alga más grande conocida. Posee un talo que crece desde un disco adhesivo, provisto de numerosos hapterios, anastomosados. Se continúa en un estípite derecho dicotómicamente ramificado que lleva frondes ensiformes, rígidas (más anchas que en las otras especies), plegadas, de color verde a pardo, con dientes o pestañas en los bordes y aerocistes, piriformes, globulares o alargados en sus bases, salvo los frondes basales que carecen de ellos. El alga crece sobre substrato rocoso de 5-30 mt. de profundidad.

MATERIAL Y METODO

Se trabajó con *Macrocystis pyrifera* proveniente de la Península de Tumbes (36° 40'S), lugar en que se recolectaba mediante buceo autónomo, durante los meses de mayo a diciembre. Se hicieron también algunos cultivos con *M. integrifolia*, colectado en primavera en la Bahía de Quintero (Playa del Papagayo), por buceo autónomo a los 32° 45'S. Fue posible encontrar, durante el invierno, y a lo largo del año, ejemplares fértiles, probablemente por la discontinuidad de la reproducción en una población determinada.

De los ejemplares debidamente identificados sólo se utilizaban los frondes basales que son los fértiles, presentan soros que forman manchas de color café pardusco sobre la línea media de ellos y que están constituidos por esporangios.

La reproducción de *M. pyrifera* es la típica de una especie de Laminariales. Se realiza por vía asexual y sexual. El ciclo comprende una alternancia entre un esporófito macroscópico y un gametófito microscópico.

Como cámara de incubación se empleó un refrigerador con una unidad de enfriamiento reforzada. La temperatura osciló entre 8-12°C y llegó a 14°C en verano. La intensidad luminosa suministrada por un grupo de tubos fluorescentes Philips de 40 W. de luz blanca, varió entre 1200-1800 lux. Se utilizó un fotoperíodo de 10-12 hrs. y la oxigenación fue proporcionada con una bomba Dyna, diariamente, en la etapa inicial. Las observaciones se realizaron en microscopio Zeiss con contraste de fase y aumento 25 x.

Para los cultivos se usaron cápsulas de Petri de 10-15 cm. de diámetro esterilizadas y como medio nutritivo una solución Schreiber, con o sin extracto de tierra vegetal; en algunos casos se utilizó solución de Provasoli (1963). La solución Schreiber contiene 10 mg. de nitrato de sodio y 2 mg. de fosfato bisódico por cada 1000 ml. de agua de mar; a esta solución se agregó 5 ml. de extracto de tierra vegetal, esterilizado y filtrado y la de Provasoli contiene 4,5 mg. de fosfato monopotásico y 11 mg. de glicerofosfato bisódico por litro en agua de mar.

Para preparar los cultivos se procedió en la forma siguiente: los frondes con soros y limpios se colocaron en lienzos humedecidos con agua de mar esterilizada, por 24 hrs. a 6°C en la cámara refrigeradora, luego de retirados y de lavados con agua de mar esterilizada, trozos pequeños de 1 cm² o algo más se acondicionaron en las cápsulas Petri con solución alimenticia, que contenían portas y cubres objetos como medio de fijación de los elementos reproductores. También se utilizó, para dicho fin, cuerdas de poli-propileno enrolladas en espiral fijas a una lámina plástica.

RESULTADOS:

Ciclo de vida a) liberación de las zoósporas. Se produjo al segundo y tercer día de colocados los trozos de frondes en la solución alimenticia, primero en número escaso y masivamente en los días siguientes. Se realizó cambios diarios de la solución alimenticia y después de liberadas las esporas, semanalmente.

Las zoósporas son esféricas a elipsoidales de 4-6 u de diámetro, provistas de 2 flagelos de inserción lateral; no se apreciaron diferencias de tamaño, ni las estructuras citoplasmáticas se presentaban bien definidas, cambiando de forma con facilidad. Detalles de las zoósporas se aprecian en la figura 1 (a-b).

Son foto sensibles y nadan durante 24 hrs. para luego fijarse a los portas, cubres y cuerdas colocados. La oxigenación adecuada y los cambios del medio favorecieron su germinación, que se inicia con la formación de un pequeño tubo al que pasa el citoplasma (Fig. 1 c-f). El material observado presentaba en esta etapa una longitud de 15-20 u.

El desarrollo continúa con un proceso intenso de división celular que termina con la formación del gametófito.

b) Gametófito.—A los 8 días de iniciados los cultivos se pudo apreciar la formación de gametófitos (Fig. 3), claramente diferenciados en anteridios, órganos masculinos y oogonios femeninos, que a los 10 a 12 días de desarrollo estaban definitivamente constituidos. Anteridios y oogonios se forman profusamente, sin claro dominio de uno u otro; con una estructura filamentososa más definida, los anteridios, constituidos por 2-4 células alargadas más altas que anchas, que llegan a 100-120 u de largo, cuyas células terminales presentan una coloración más intensa que acusa un proceso de formación de espermatozoides (Fig. 3).

Los oogonios se presentan como filamentos de mayor diámetro con células más anchas que altas, menos ramificados que los anteridios e irregulares en su forma, llegando a alcanzar 800 u de longitud; sus células terminales y a veces las centrales se tornan esféricas y generarán las oósfemas (Figs. 2 y 4).

Las siembras en medio Provasoli no progresaron, no así las con solución Schreiber, de la que se eliminó el extracto de tierra vegetal por la producción de bacterias y hongos. A los quince días de iniciado el desarrollo de los órganos sexuales se observó la liberación de anterozoides, que al contraste de fase dejan ver los flagelos en movimiento, paralelamente con la formación de oósfemas, la mayoría de las cuales quedan adheridas al oogonio, dando la impresión de que no son expulsadas. El proceso mismo de fecundación y gamia, por falta de una técnica adecuada, no se apreció.

Durante el mismo período, las oósfemas aumentaron de tamaño, indicio de que ya habrían sido fecundadas y se trataba ahora de cigotos que, continuando su crecimiento y gracias a un período de intensa división celular, evolucionaron en plántulas que serán los nuevos esporófitos. Producida la fecundación el resto del oogonio degenera y el nuevo esporófito se desarrolla fuera de él (Fig. 5a).

Si se compara la marcha del proceso de reproducción con las observaciones en cultivos "in vitro" descritos por Levyns y otros (1935) con la de los nuestros, se tiene un ritmo de mayor velocidad.

En líneas generales la reproducción en las etapas estudiadas concuerda con las observaciones de estos autores, y las características de la reproducción del orden Laminariales, con las variantes propias del género *Macrocystis*.

c) Formación del nuevo esporófito.—El proceso ontogenético del nuevo esporófito se inicia con divisiones transversales paralelas a la base, repetidas, seguido de una diferenciación de la parte basal en un órgano de fijación. A las divisiones transversales suceden las longitudinales y así gradualmente pasamos de una estructura haplóstica a una polística. Ciertas células de la porción basal se modifican y alargan, constituyendo rizoides (Fig. 5 b y c). Tenemos, finalmente, un órgano asimilable al fronde y que, por un proceso de crecimiento, multiplicación y diferenciación, pasará a ser el esporófito adulto claramente diferenciado en un órgano de fijación, irregular en su forma, con rizoides que lo fijan al substrato y una parte derecha, el fronde. A los quince días de crecimiento la embriófita medía 254,5 u de largo, sin los rizoides, con

un ancho en la zona mayor de 129.4 u; los rizoides fluctuaban entre 12-14 u de largo; con posterioridad a los 30 días los valores llegaban a 500-600 u de largo y antes de los 90 días alcanzaron 1.000 u, pudiendo apreciarse a ojo desnudo. (Fig. 6). Muchas de estas plántulas o frondes juveniles se fijaron a las cuerdas de poli-propileno, recibidas de Francia. Este material era el que se enviaba al Laboratorio de Botánica Marina de Nantes, para que se siguiera cultivando y luego ser fijado en bloques de cemento en el mar. También se enviaban frondes con soros, los que, previo cultivo de las zoósporas liberadas, eran utilizadas para el fin anterior. Seguimos el desarrollo de las plántulas durante un año, en buenas condiciones (Fig. 7 y 9).

No se presentó contaminación con diatomeas; se agregó óxido de germanio 2 ml. x lt. de medio cultivo, de la solución stock que contenía 10 mg por lt., para neutralizar o eliminar su presencia.

DISCUSION

El ciclo, en sus diversas etapas, correspondió en líneas generales al de las Laminariales. Tratamos de reproducir las condiciones de temperatura y salinidad del habitat en que crece *M. pyrifera* en la zona de Talcahuano - Cabo de Hornos, por lo que los rangos de temperatura no excedieron los 12°C, aunque otros investigadores han trabajado en el laboratorio a temperaturas superiores a 14°C, con la misma especie.

Constatamos, como lo ha comprobado el Dr. Neushul, en el mar, que el gametófito presenta un rango amplio de variación en cuanto a forma, con un crecimiento rápido. No se observó muerte de plántulas por infección bacteriana o de otra naturaleza, tal vez porque se extremaron las condiciones de asepsia.

La experiencia de trasplante sugiere la extraordinaria capacidad de adaptación de la especie a nichos ecológicos distintos al propio y su capacidad de fijación en lugares tan expuestos como es la zona de Bretaña.

Queremos destacar la importancia de esta investigación para un mejor conocimiento biológico de una especie que constituye un recurso marino de importancia química y económica, base de la industria de alginatos y que se explota en el país y por la cual hay gran interés.

CONCLUSIONES

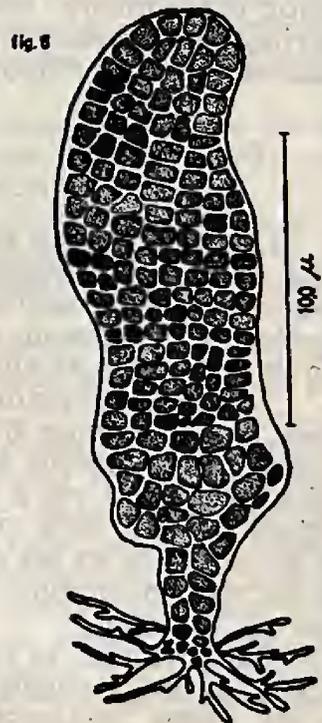
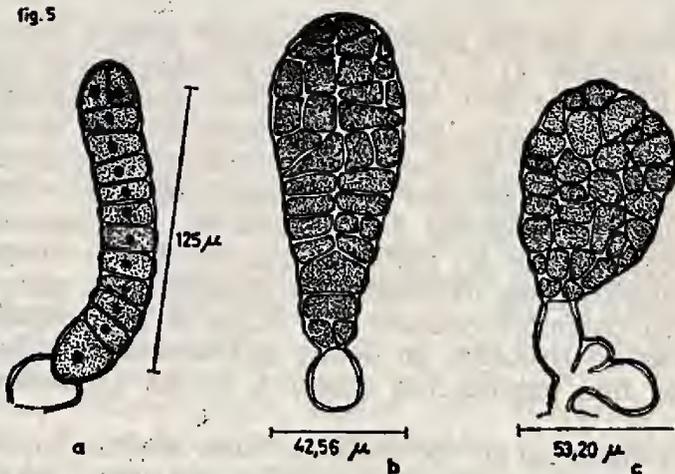
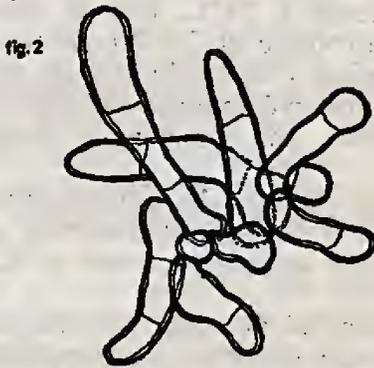
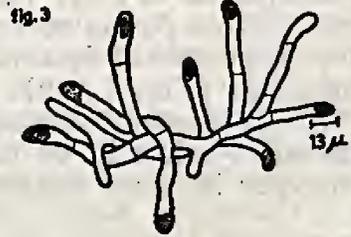
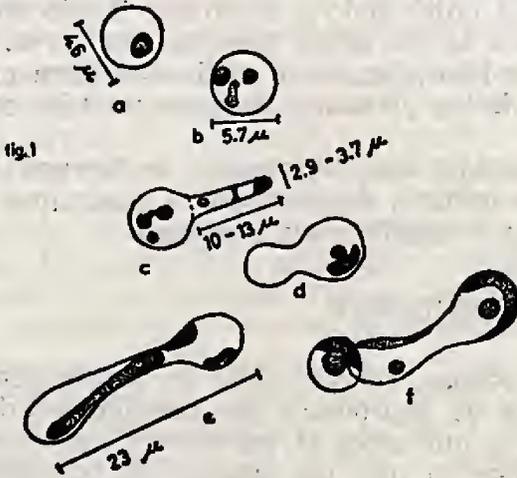
La investigación realizada nos ha permitido conocer paso a paso el desarrollo de *Macrocystis pyrifera* (L.) C.A. Ag. en el laboratorio, partiendo de las zoósporas, liberadas por los esporofilos basales hasta la formación de plántulas o frondes juveniles que originan el alga adulta. No se continuó más allá por falta de los medios e instrumental adecuado.

También se realizó el mismo estudio con *Macrocystis integrifolia* Bory, constatándose que las dos especies no difieren en su desarrollo. Evolucionaron mejor los cultivos de *M. pyrifera* que los de *M. integrifolia*, debido tal vez a requerimientos diferentes de temperatura para la última especie. Este cultivo permitió realizar con éxito la implantación de *M. pyrifera* en las costas de Bretaña, en donde la biomasa algológica se ha visto disminuida por una explotación excesiva de las Laminarias que las pueblan.

Sin embargo, la experiencia no se continuó por una alarma injustificada de los ecólogos franceses —a nuestro juicio— de una invasión de las costas francesas por *Macrocystis*.

Consideramos que los resultados logrados han de permitir, con las precauciones que los estudios del ecosistema indiquen, realizar el transplante de algas de una región a otra.

Igualmente se podrán efectuar trabajos de implantación o repoblación en lugares de la costa de Chile en que *Macrocystis* no exista o haya disminuido.



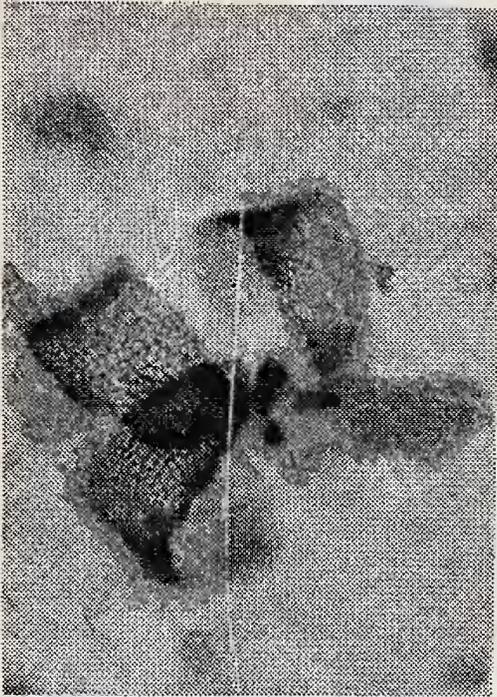


Fig. 7.

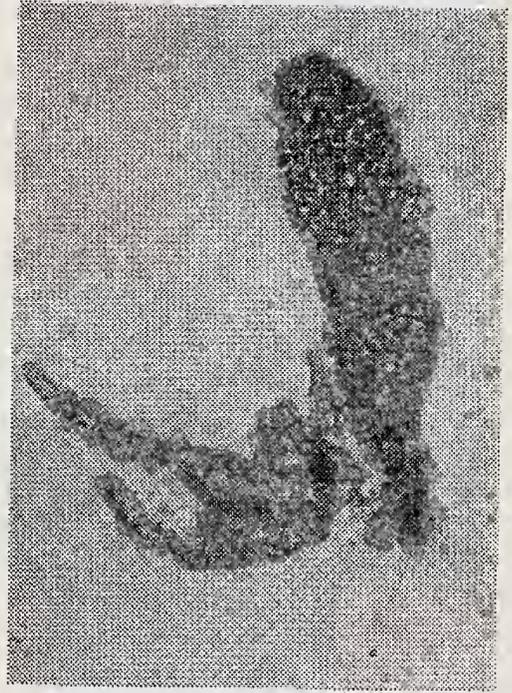


Fig. 9.



Fig. 8.

Figura 1. (a-f): a y b Zoósporas libres y c - f Germinación de ellas.

Primeros estados: Cuatro días después de iniciado el cultivo.

Figura 2. Gametófito femenino.

Figura 3. Gametófito masculino en desarrollo, antes de su maduración a 10 días de iniciado el cultivo.

Figura 4. Gametófito femenino maduro con Zigoto ya formado, 15 días.

Figura 5. (a-c): Desarrollo del fronde, en a: Divisiones transversales; b y c: Divisiones longitudinales, 20 días.

Figura 6. Plántula diferenciada en una porción basal con rizoide, que será el órgano de fijación y porción derecha futura fronda (22-30 días).

Figura 7. Plántulas después de 90 días.

Figura 8. Microfotografía. Desarrollo de anteridios y oogonios en la solución alimenticia.

Figura 9. Microfotografía. Plántulas, a los 30 días.

LITERATURA CITADA

- AGARDH, C. A., 1820. *Species algarum*. 1 Part 1. Lund Pp. 1-168.
- AGARDH, C. A., 1839. Revision der Algengattung *Macrocystis* Nova Acta Acad. Caes. Leop. 19: 281-317 pls. 26-28.
- ANDERSON, E. K. et NORTH W. J., 1969. Light requirements of juvenile and microscopic stages of giant kelp. *Macrocystis*, Proc. VI Intern. Seaw. Symp. 3-15.
- BORY DE SAINT-VINCENT, J. B., 1826. *Macrocystis* Dict. Class. Hist. Nat. 10: 8-10.
- BRANDT, R. D., 1923. Potash from kelp, early development and growth of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*. U. S. Dept. Agric. 1191, XII: 1-40.
- BRAUD, J. P., H. ETCHEVERRY D., et R. PEREZ, 1974. Développement de l'algue *Macrocystis pyrifera* (L.) Ag. Sur les cotes Bretonnes, Science et Pêche, Bull. des trav. Inst. Pêches Marit. N° 233.
- CRIBB, A. B., 1954. *Macrocystis pyrifera* (L.) Ag. in Tasmanian Waters. Austr. Journ Mar. Fish. R. 5: 1-34.
- DE TONI, J. B., 1895. *Sylloge Algarum*. 3. Fucoideae XVI. Patavii.
- DELF, E. M. et LEVYNS, M., 1926. Reproduction in *Macrocystis pyrifera*. Ag., Ann. Bot. 40, (158): 503-506.
- ETCHEVERRY D., H. y G. COLLANTES S., 1977. Cultivo artificial del luche. *Porphyra columbina* (Montagne 1845), Rhodophyta, Bangiaceae, Rev. Biol. Mar. Dep. Oceanol. Univ. Chile 16 (2): 195-202.
- HILSTON, W., SMITH, M. et F. WALKER, 1950. Culture of Marine Algae.
- LEVRING, T. 1960. Contributions to the Marine Algae Flora of Chile. Lunds. Univ. Chile Exp. 1948-1949. Lund. Univ. Ar. Avd. 2 Bd. 56 N° 10.
- LEVYNS, M., 1933. Sexual reproduction in *Macrocystis pyrifera*, Ann. Bot. 47, (196): 349-353.
- LINNE, C., 1771. *Mantissa plantarum altera generum editionis VI* Pp. (6) + 143-588.
- NEUSHUL, M., 1959. Studies on the growth and reproduction of the giant kelp *Macrocystis* Ph. Dr. Th. Univ. Calif.
- NEUSHUL, M. 1963. Studies on giant kelp *Macrocystis pyrifera* Reproduction, Ann. Jour. Bot. 50 (4): 358-359.
- NORTH, W. J. et C. A. HUBBS, 1968. Utilization of Kelp-Bed Resources in Southern Calif., Dept. Fish and Game, Fish. Bull. N° 139.
- NORTH, W. J., 1971. The Biology of Giant Kelp Beds, *Macrocystis* in Calif. Nova Hedw. Heft. 32.
- PAPENFUSS, G. F. 1942. Studies of South African Phaeophyceae I. *Ecklonia Maxima*, *Laminaria pallida*, *Macrocystis pyrifera*. Ann. Journ. Bot. 29. 15:24.
- PEREZ, R., 1973. Etude sur l'opportunité d'introduire l'algue *Macrocystis* sur le littoral français. Rev. des Trav. Inst. Pêch Marit. T. XXXVII. Fasc. 3.
- PROVASOLI, L., 1963. Growing Marine Seaweeds Proc. 4th Int. Seaweed Symp.: 9-17.
- SETCHELL, W. A., 1932. *Macrocystis* and its holdfasts. Univ. Calif. Publ. Bot. 16:445-492.
- SKOTTSBERG, C., 1907. Zur Kenntnis der subantarktischen und antarktischen Meeresalgen. I. Phaeophyceem Wiss. Ergebn. Sch. Sudp.-Exp. 1901-1903. Bd. 4 (6) Stock. 172 pp. 187 figs., 10 pls, 1 map.
- TAYLOR, W. R., 1939. Algae Collected by the Hassler, Albatross and Schmitt Exped. II Marine Algae from Uruguay, Argentina, the Falklands Islands and the Strait of Magellan. Mich. Acad. Sc. 24 (1): 127-164.
- WOMERSLEY, H. B. S., 1954. The species of *Macrocystis* with special reference to those on Southern Australian Coasts. Univ. Calif. Publ. Bot. 27 (2): 109-132.