

Observaciones en *Galaxaura rugosa* y *G. obtusata* con el microscopio electrónico de barrido (Rhodophyta, Galaxauraceae)

JULIO AFONSO-CARRILLO, LUZ PÉREZ, MARTA SANSÓN y JAVIER REYES.

*Departamento de Biología Vegetal (Botánica). Universidad de La Laguna.
38271 La Laguna. Islas Canarias.*

AFONSO-CARRILLO, J., L. PÉREZ, M. SANSÓN and J. REYES. (1996). Observations on *Galaxaura rugosa* and *G. obtusata* with the scanning electron microscope (Rhodophyta, Galaxauraceae). *VIERAEA* 25: 125-132.

ABSTRACT: *Galaxaura rugosa* (Ellis et Solander) Lamouroux and *G. obtusata* (Ellis et Solander) Lamouroux were examined with the scanning electron microscope. The thallus surfaces showed a series of orbicular or polygonal concavities representing the sites previously occupied by outer cortical cells. These cells disintegrate during specimen preparation, leaving only the calcium carbonate and the surface depressions. Round trichocyte pores, persistent assimilatory filaments and pores of collapsed assimilatory filaments were also observed. Among vegetative features observed in surface view, it merit to be remarked that cortical cell concavity diameters are markedly smaller in *Galaxaura rugosa* than *G. obtusata* and that the number of cells surrounding trichocytes appears to vary among the species. The pores of gametangial cavities examined under SEM have shown that a particular ostiolar structure is not elaborated. The transverse section of branches of well calcified plants showed that in *Galaxaura* the calcium carbonate was mainly placed in the intercellular space of the outer cortical cells.

Key words: marine algae, *Galaxaura*, SEM, morphology.

RESUMEN: *Galaxaura rugosa* (Ellis et Solander) Lamouroux y *G. obtusata* (Ellis et Solander) Lamouroux fueron examinadas con el microscopio electrónico de barrido. Las superficies del talo mostraron una serie de concavidades orbiculares o poligonales que representan los lugares ocupados previamente por las células corticales más externas. Estas células se desintegran durante el proceso de preparación del espécimen dejando solamente el carbonato cálcico y las depresiones superficiales. Se observaron poros circulares de tricocitos, filamentos asimiladores persistentes y filamentos asimiladores colapsados. Entre los caracteres vegetativos observados en visión superficial, merece ser señalado que los diámetros de las concavidades de las células corticales son mucho más pequeños en *Galaxaura rugosa* que en *G. obtusata*, y que el número de células que rodean a los tricocitos parece variar entre las especies de *Galaxaura*. Los poros de la cavidades gametangiales examinadas

en el MEB no mostraron una estructura ostiolar elaborada. La sección transversal de ramas de plantas bien calcificadas mostró que en *Galaxaura* el carbonato cálcico está situado principalmente en el espacio intercelular de las células corticales más externas.

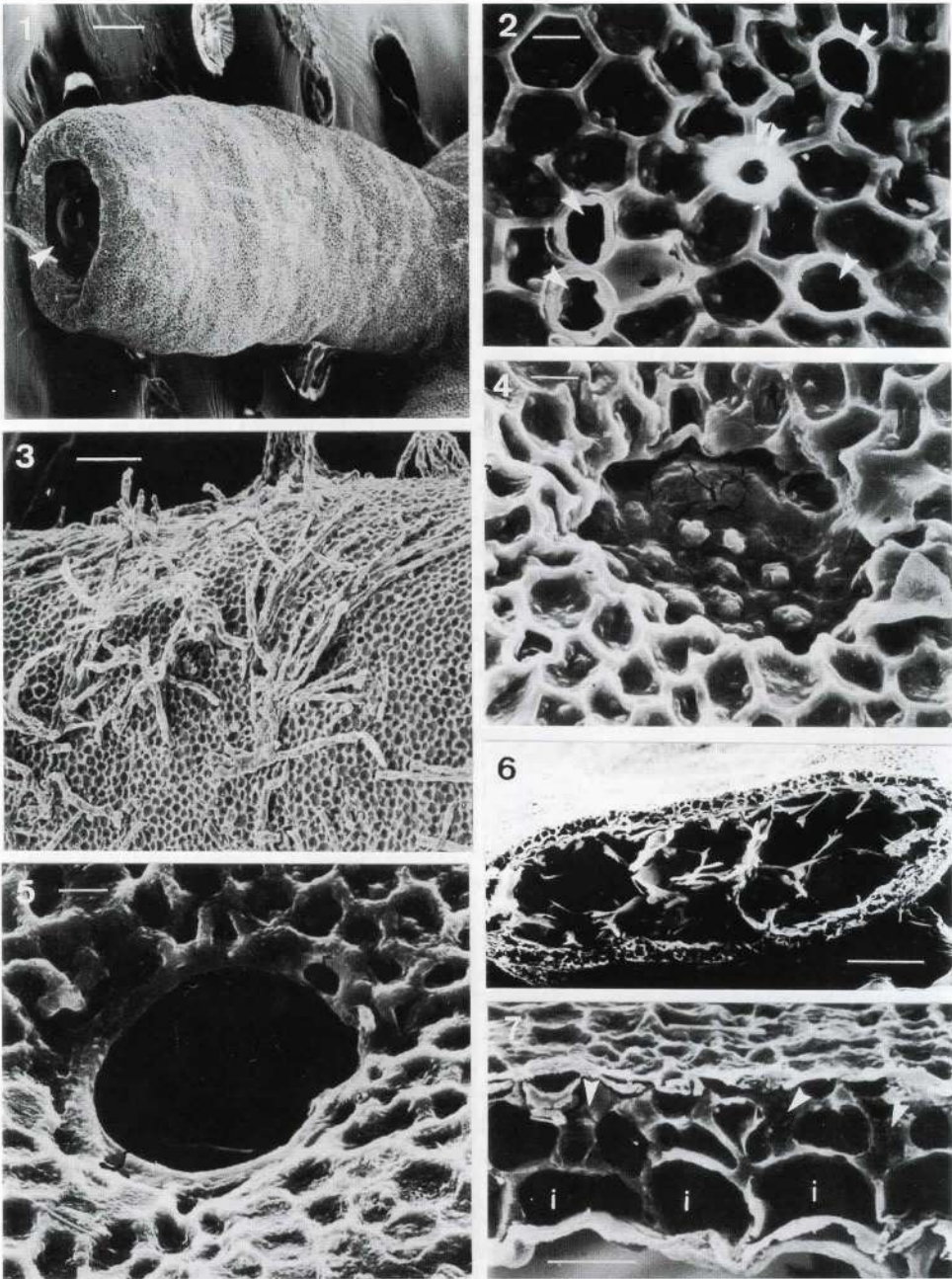
Palabras clave: algas marinas, *Galaxaura*, MEB, morfología.

INTRODUCCIÓN

Galaxaura Lamouroux y *Tricleocarpa* Huisman et Borowitzka (Galaxauraceae, Rhodophyta), incluyen plantas calcificadas, dicotomamente ramificadas con ramas cilíndricas o comprimidas. Las ramas están compuestas por una médula interna de filamentos entremezclados que producen filamentos radiales que forman el córtex. Uno de los caracteres más distintivos de estos géneros es que en muchas especies y especialmente en las plantas gametófitas, los estratos de células más externos constituyen un córtex pseudoparenquimatoso calcificado bien diferenciado (Papenfuss & Chiang, 1969). Como en otras Nemaliales calcificadas, el carbonato cálcico es depositado principalmente bajo la forma de aragonito extracelular en el espacio intercelular (Borowitzka, 1982). Información general sobre estos géneros ha sido presentada por Kjellman (1900), Papenfuss & Chiang (1969), Papenfuss et al. (1982) y Huisman & Borowitzka (1990). Las especies de las Islas Canarias fueron estudiadas recientemente por Pérez & Afonso-Carrillo (1993).

Garbary (1978) mostró la utilidad de la microscopía electrónica de barrido (MEB) en la taxonomía de Rhodophyta y posteriormente la MEB ha sido usada ampliamente en el estudio de la morfología y la anatomía de Corallinales. No obstante, en otras Rhodophyta calcificadas, como Galaxauraceae, la MEB ha sido poco utilizada. Ozaki et al. (1982) usaron la MEB para estudiar la estructura y organización del carbonato cálcico en *Tricleocarpa cylindrica* (Ellis et Solander) Huisman et Borowitzka (como *Galaxaura fastigiata*). Sin embargo, un estudio para la observación de los caracteres con valor taxonómico no ha sido realizado hasta el momento en los géneros *Galaxaura* y *Tricleocarpa*. La recolección en las Islas Canarias de abundante material de *Galaxaura* y *Tricleocarpa* (Pérez & Afonso-Carrillo, 1993) nos ha dado la oportunidad de estudiar la variabilidad morfológica y anatómica de los caracteres microscópicos. Esta primera contribución está dedicada a *Galaxaura rugosa* y *G. obtusata*.

Figs 1-7. *Galaxaura rugosa* (Ellis et Solander) Lamouroux. Gametófito. MEB. Fig. 1. Visión superficial de una rama terminal mostrando la depresión apical (flecha). Escala = 200 μ m. Fig. 2. Detalle de la superficie de una rama terminal mostrando concavidades corticales poligonales, poros de filamentos asimiladores colapsados (flechas) y un poro de tricocito (flecha doble). Escala = 10 μ m. Fig. 3. Superficie de una rama basal con concavidades corticales y filamentos asimiladores persistentes. Escala = 100 μ m. Fig. 4. Detalle de la superficie de la porción distal de una rama joven mostrando el poro cerrado y poco definido de una cavidad cistocárpica. Escala = 10 μ m. Fig. 5. Detalle de la superficie de una rama terminal mostrando el poro de una cavidad espermatangial. Escala = 10 μ m. Fig. 6. Sección transversal de una rama ligeramente comprimida. Obsérvese el córtex calcificado bien diferenciado rodeando la región central hueca parcialmente ocupada por filamentos medulares colapsados. Escala = 200 μ m. Fig. 7. Detalle de la sección transversal de una rama mostrando



la anatomía del córtex. Obsérvense las células corticales más internas (i) ligeramente deformadas por la manipulación para la MEB y abundante carbonato cálcico en los espacios entre las células corticales más externas (flechas). Escala = 20 μ m.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos fueron obtenidos a partir de plantas recolectadas en las Islas Canarias y depositadas en TFC (Departamento de Biología Vegetal, Universidad de La Laguna, Islas Canarias). Para el estudio en microscopía electrónica de barrido se siguió a Afonso-Carrillo et al. (1984). Los fragmentos secos seleccionados fueron seccionados, lavados en agua destilada, secados al aire y metalizados con oro. Las observaciones se realizaron en un Estereo Microscopio Hitachi S-450.

RESULTADOS

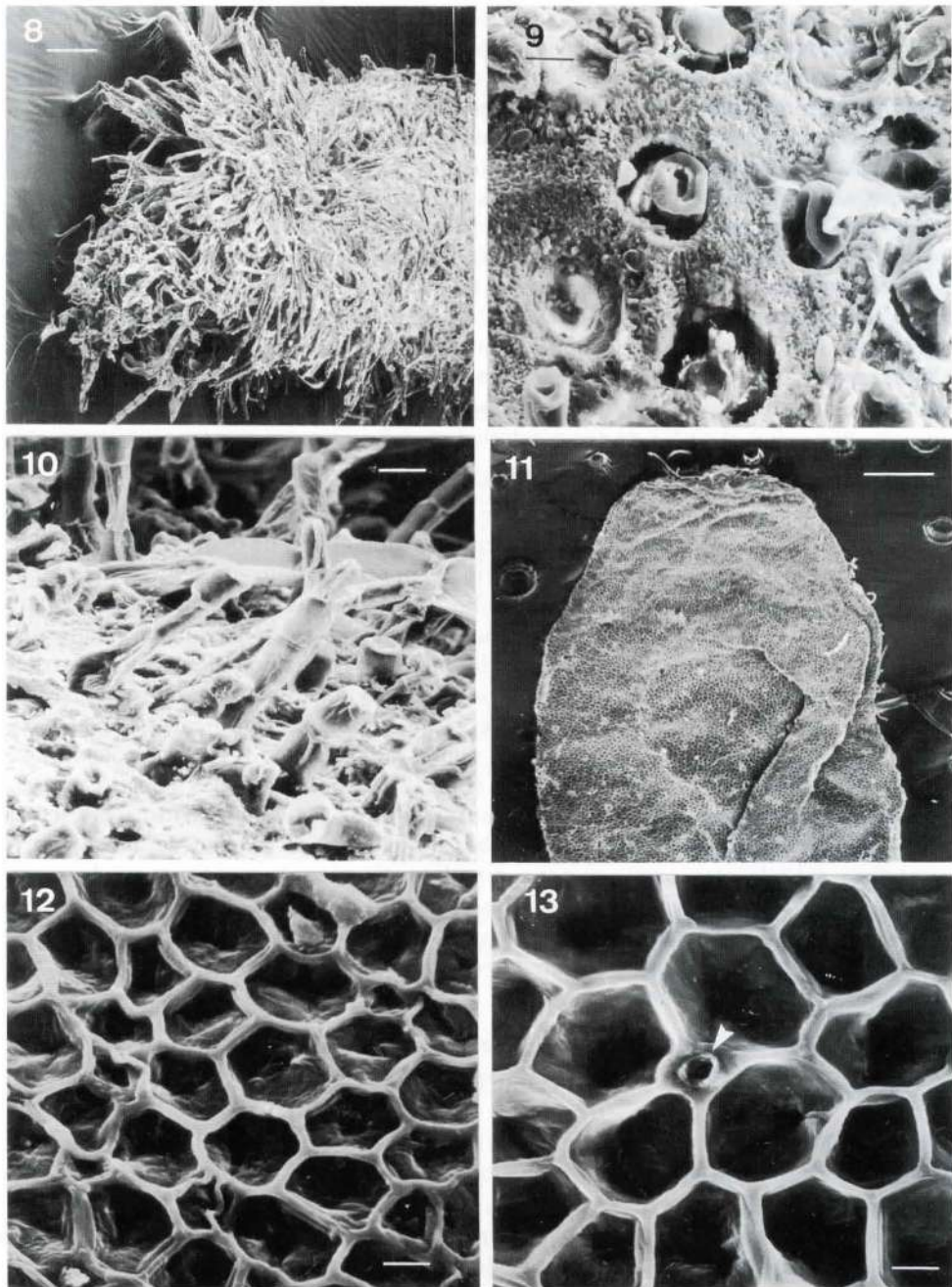
Galaxaura rugosa (Ellis et Solander) Lamouroux

Las plantas examinadas mostraban ramificación dicótoma y alcanzaban hasta 125 mm de alto. Las ramas eran cilíndricas, 0,5-2 mm de diámetro, con diferencias evidentes entre las plantas gametófitas y tetrasporófitas. Las ramas de los gametófitos eran glabras o con filamentos asimiladores en las porciones basales, mientras que las ramas de los tetrasporófitos eran hirsutas portando filamentos asimiladores cortos y largos conjuntamente.

Las ramas de los gametófitos examinadas (Fig. 1) resultaron ligeramente comprimidas por la manipulación realizada para la MEB. En las ramas jóvenes la depresión apical fue evidente (Fig. 1), y la superficie del talo mostró una serie de concavidades poligonales de 4-7 lados y 12-23 μm de diámetro, que representan los lugares previamente ocupados por las células corticales más externas (Fig. 2). Estas células se desintegran durante la preparación del espécimen, dejando solamente el carbonato cálcico y la depresión superficial. Las concavidades corticales estaban separadas por una matriz lisa y plana de carbonato cálcico, de 2-4 μm de ancho. En la superficie del talo estaban también presentes poros circulares de tricocitos de *c.* 6 μm de diámetro y poros de filamentos asimiladores colapsados, ambos rodeados por 6-7 concavidades de células corticales (Fig. 2). La superficie hacia las regiones basales de las plantas mostró concavidades corticales de tamaño similar, pero no se observaron poros de tricocitos y abundaban filamentos asimiladores persistentes (Fig. 3).

Las plantas examinadas eran dioicas y mostraban los poros de las cavidades gametangiales en las ramas terminales fértiles. En la porción distal de las ramas jóvenes se observaron poros cerrados poco definidos (Fig. 4). Sin embargo, los poros circulares bien definidos, de 45-70 μm de diámetro, de las cavidades espermatangiales maduras (Fig. 5) eran abundantes reunidos en grupos en las ramas terminales. Los poros de las cavidades cistocárpicas, de 50-78 μm de diámetro, eran menos numerosos pero tenían una morfología similar a la de los poros de las cavidades espermatangiales (Fig. 4).

Figs 8-10. *Galaxaura rugosa* (Ellis et Solander) Lamouroux. Tetrasporófito. MEB. Fig. 8. Visión superficial de una rama terminal mostrando una extensa cubierta de filamentos asimiladores. Escala = 200 μm . Fig. 9. Visión superficial de una rama basal con concavidades circulares ocupadas por filamentos asimiladores senescentes. Escala = 10 μm . Fig. 10. Visión superficial de una rama basal mostrando filamentos asimiladores. Escala = 20 μm . Figs 11-13. *Galaxaura obtusata* (Ellis et Solander) Lamouroux. Tetrasporófito. MEB. Fig. 11. Visión superficial de una rama terminal. Escala = 500 μm . Fig. 12. Detalle de la superficie



de una rama terminal mostrando las concavidades corticales. Escala = 10 μ m. Fig. 13. Detalle de la superficie de una rama basal con concavidades corticales y un poro de tricocito (flecha). Escala = 10 μ m.

En secciones transversales de las ramas de los gametófitos resultó evidente un córtex pseudoparenquimatoso calcificado bien diferenciado rodeando a la región hueca central parcialmente ocupada por filamentos medulares colapsados (Fig. 6). El córtex, de 40-80 μm de grosor, estaba formado por tres (ocasionalmente cuatro) estratos de células, el más interno constituido por grandes células a menudo fusionadas lateralmente y el resto de los estratos formados por células progresivamente más pequeñas (Fig. 7). El carbonato cálcico era abundante entre las células corticales más externas.

Las ramas de los tetrasporófitos estaban ligeramente calcificadas y cubiertas por abundantes filamentos asimiladores (Fig. 8). La disposición del carbonato cálcico pudo ser observada en las regiones basales del talo, donde los filamentos asimiladores, ya senescentes, son escasos (Fig. 9). La superficie del talo mostró concavidades circulares (15-30 μm de diámetro) ocupadas por filamentos senescentes (Fig. 10). Estas concavidades estaban separadas por depósitos de carbonato cálcico de hasta 30 μm de diámetro. Las ramas resultaron comprimidas por la manipulación por la MEB impidiendo obtener información sobre el córtex en sección transversal.

Galaxaura obtusata (Ellis et Solander) Lamouroux

Las plantas examinadas alcanzaban hasta 90 mm de alto, con ramas subdicótomamente ramificadas, claramente segmentadas, de 2-4 mm de diámetro. El córtex de los gametófitos y tetrasporófitos estaba formado por tres estratos de células, mostrando diferencias anatómicas en el estrato intermedio. Se estudiaron sólo plantas tetrasporófitas.

Las ramas del tetrasporófito examinadas (Fig. 11) estaban ligeramente calcificadas y resultaron marcadamente comprimidas durante la preparación del espécimen para la MEB. La superficie del talo mostró una serie de concavidades poligonales separadas por regiones calcificadas (Figs 12, 13). Se observaron diferencias significativas en el tamaño de las concavidades corticales. En la región subapical de las ramas jóvenes, las concavidades tenían 16-27 μm de diámetro (Fig. 12); en porciones más bajas alcanzaban 20-38 μm de diámetro (Fig. 13). Las concavidades de las células corticales estaban separadas por una delgada matriz de carbonato cálcico, de 2-4 μm de ancho. En la superficie del talo eran comunes poros circulares de tricocitos *c.* 6 μm de diámetro, rodeados por 3-5 concavidades de células corticales. Sin embargo, no se observaron poros de filamentos vegetativos colapsados ni filamentos asimiladores persistentes. Las ramas, muy comprimidas por la manipulación para la MEB impidieron obtener información en secciones transversales.

DISCUSIÓN

La introducción de la microscopía electrónica de barrido en la taxonomía de Rhodophyta fue propuesta por primera vez por Garbary (1978) y posteriormente ha sido usada ampliamente para estudios sobre la morfología y la taxonomía en Corallinales (ver Garbary & Johansen, 1982; Woelkerling, 1988; Chamberlain, 1983, 1991). De acuerdo con Garbary (1978), las especies de algas con una elevada calcificación presentan numerosas ventajas con respecto a los otros grupos de algas en relación a la aplicación taxonómica de las técnicas de la MEB. Mientras que las especies de Corallinales son las únicas macroalgas que depositan carbonato cálcico bajo la forma de calcita en sus paredes celulares, *Galaxaura* pertenece al grupo de algas que lo depositan en forma

de aragonito, fuera de las células, en el espacio intercelular (Borowitzka, 1982). Según Johansen (1981) las algas que depositan aragonito no alcanzan la consistencia sólida de las algas coralináceas.

Las especies de *Galaxaura* examinadas en el presente estudio mostraron claras diferencias en el grado de calcificación. Las plantas gametófitas de *G. rugosa* presentaban una calcificación elevada y las ramas se modificaron poco por la manipulación de la MEB, presentando un córtex firme que puede ser examinado en secciones transversales de las ramas. Por el contrario, las plantas tetrasporófitas de *G. rugosa* y *G. obtusata*, presentaban una calcificación reducida, y las ramas resultaron comprimidas por la manipulación de la MEB, y por lo tanto, el córtex no pudo ser examinado en secciones transversales de las ramas. En todas las plantas estudiadas el córtex más externo estaba siempre relativamente bien calcificado, permitiendo la observación de la morfología microscópica superficial. Entre los caracteres vegetativos observados en visión superficial, merece ser señalado que los diámetros de las concavidades de las células corticales son significativamente más pequeños en *G. rugosa* que en *G. obtusata*.

Los caracteres observados en este estudio sugieren que la MEB puede ser utilizada para la distinción de especies en *Galaxaura*. Aunque son necesarios estudios en otras especies, el valor diagnóstico de los caracteres microscópicos externos puede ser elevado, como ha sido demostrado en Corallinales (Garbary & Johansen, 1982). Además, las técnicas de la MEB pueden permitir comparar la morfología de la superficie de los especímenes de herbario, generalmente poco dañados, con la de recolecciones recientes.

AGRADECIMIENTOS

A Antonio Padrón por su asistencia técnica en el microscopio electrónico de barrido.

BIBLIOGRAFÍA

- AFONSO-CARRILLO, J., M.C. GIL-RODRÍGUEZ, R. HAROUN-TABRAUE & W. WILDPRET. (1984). Algunos aspectos de la aplicación de la microscopía electrónica de barrido al estudio de las algas Corallinaceae (Rhodophyta).- *Cah. Biol. Mar.* 25: 427-433.
- BOROWITZKA, M.A. (1982). Mechanisms in algal calcification.- In (Round, F.E. and D.J. Chapman, Eds.) *Progress in Phycological Research*. Vol. 1: 138-177. Elsevier Biomedical Press.
- CHAMBERLAIN, Y. M. (1983). Studies in the Corallinaceae with special reference to *Fosliella* and *Pneophyllum* in the British Isles.- *Bull. Br. Mus. nat. Hist. (Bot.)* 11: 291-463.
- CHAMBERLAIN, Y. M. (1991). Historical and taxonomic studies in the genus *Titanoderma* (Rhodophyta, Corallinales) in the British Isles.- *Bull. Br. Mus. nat. Hist. (Bot.)* 21: 1-80.
- GARBARY, D.J. (1978). An introduction to the scanning electron microscopy of red algae.- In (Irvine, D.G. and J.H. Price, Eds.) *Modern Approaches to the Taxonomy of Red and Brown Algae*. pp. 205-222.

- GARBARY, D. J. & H. W. JOHANSEN. (1982). Scanning electron microscopy of *Corallina* and *Halitilon* (Corallinaceae, Rhodophyta): surface features and their taxonomic implications.- *J. Phycol.* 18: 211-219.
- HUISMAN, J.M. & M.A. BOROWITZKA. (1990). A revision of the Australian species of *Galaxaura* (Rhodophyta, Galaxauraceae), with a description of *Tricleocarpa* gen. nov.- *Phycologia* 29: 150-172.
- JOHANSEN, H. W. (1981). *Coralline Algae, A First Synthesis*.- CRC Press, Boca Raton, Florida. 239 pp.
- KJELLMAN, F.R. (1900). Om floride-slagtet *Galaxaura* dess organografi och systematik.- *K. Svenska Vetensk Akad. Handl.* 33: 1-109, pls 1-20.
- OKAZAKI, M., K. ICHIKAWA & F. FURUYA. (1982). Studies on the calcium carbonate deposition of algae-IV. Initial calcification site of calcareous red alga *Galaxaura fastigiata* Decaisne.- *Bot. Mar.* 25: 511-518.
- PAPENFUSS, G.F. & Y. M. CHIANG. (1969). Remarks on the taxonomy of *Galaxaura* (Nemaliales, Chaetangiaceae).- *Proc. Int. Seaweed Symp.* 6: 303-314.
- PAPENFUSS, G.F., K.E. MSHIGENI & Y.M. CHIANG. (1982). Revision of the red algal genus *Galaxaura* with special reference to the species occurring in the western Indian Ocean.- *Bot. Mar.* 25: 401-444.
- PÉREZ, L. & J. AFONSO-CARRILLO. (1993). Estudios en las especies canarias de *Galaxaura* y *Tricleocarpa* (Rhodophyta, Galaxauraceae).- *Vieraea* 22: 35-64.
- WOELKERLING, Wm.J. (1988). *The Coralline Red Algae: An Analysis of the Genera and Subfamilies of Non-Geniculate Corallinaceae*.- British Museum (Natural History), London and Oxford University Press, Oxford. 268 pp.