

## Influencia de la salinidad y la temperatura sobre el crecimiento de *Bryothamnion triquetrum* (Rhodophyta: Rhodomelaceae)

A. J. Areces<sup>1</sup> y M. Araujo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Bentos, Instituto de Oceanología. 1ra No. 18406, Rpto Flores, Playa, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Laboratorio Costero, Ministerio de Ciencias, Tecnología y Medio Ambiente, Calle 17 y Ave. 46 s/n Cienfuegos, Cuba.

(Rec. 20-I-1995. Rev. 21-IX-1994. Acep. 29-VI-1995)

**Abstract:** Salinity and temperature effects on the growth rate of *Bryothamnion triquetrum*, a red algae widespread in Caribbean basin, was evaluated in a range limited by naturally extreme values of these factors in the species biotope. The tropical behavior of this species was corroborated experimentally. In the range of salinities between 27 and 43 ‰ the thermal optimum of growth was 29°C and only salinities greater than 39 ‰ depressed growth. Combination of different levels of both factors showed that with a temperature of 29 or 32°C and salinities of 27 to 35 ‰ the weight was enhanced.

**Key words:** Growth, salinity, temperature, Rhodophyta agarophyte, *Bryothamnion*.

La temperatura y el contenido salino determinan la magnitud del estrés hídrico y por ello, rigen la presión selectiva de origen abiótico quizás más importante a la que se ven sometidos los miembros de cualquier comunidad. En las halófitas y vegetales marinos, la estrategia de adaptación osmótica al medio incluye a nivel celular cambios de volumen, (Reed y Barron 1983, Erdmann y Schiewer 1984), variaciones de la presión de turgencia (Zimmermann 1978, Reed *et al.* 1980) o la acumulación de metabolitos (Schobert 1980, Yancey *et al.* 1982, Mackay *et al.* 1983). Aún así, el estrés salino, al provocar una alteración del balance iónico interno y muchas veces la acumulación de osmolitos orgánicos en detrimento de la formación de sustancias requeridas para el desarrollo celular, afecta el metabolismo global del vegetal y por ende su crecimiento (Munns *et al.* 1983). Cerca de los valores extremos de salinidad tolerables, el mismo puede incluso ser sacrificado en aras de preservar el equilibrio osmótico de la planta.

La temperatura también regula el crecimiento a partir de mecanismos de variada complejidad. Desde un desplazamiento del equilibrio global de reacciones metabólicas acopladas con Q<sub>10</sub> diferentes (Marré 1962), hasta la inducción de cambios en las proporciones relativas de aloenzimas o isozimas con umbrales de respuesta distintos (Dawes 1986), es capaz de controlar la intensidad de casi cualquier proceso fisiológico en organismos poiquiloterms. Por lo tanto, el crecimiento vegetal no solo resume el balance entre su respiración y fotosíntesis; su tasa refleja también el grado de adaptación de la planta al marco ambiental, y constituye además un sensible indicador de la acción de variables como la salinidad y la temperatura.

Considerada una de las agarófitas más promisorias en las comunidades arrecifales de Cuba (Díaz-Piferrer 1961, Sosa 1983), desde 1985 *Bryothamnion triquetrum* (Gmelin) Howe ha sido estudiado con vista a implementar su explotación comercial en el país (Areces 1990).

Toda la información recopilada hasta la fecha acerca de la distribución y el crecimiento de la especie sugería considerarla de naturaleza estenohalina, con una significativa respuesta ante variaciones térmicas de poca amplitud. (Areces, datos no publicados). Con el fin de comprobar este comportamiento para poder seleccionar adecuadamente las zonas potenciales de cultivo, se evaluó en condiciones experimentales la influencia de la temperatura y la salinidad sobre su crecimiento. Para ello se encogieron intervalos cuyos valores centrales correspondieran aproximadamente a la temperatura media del agua durante el verano y a la salinidad habitual en su biotopo.

### MATERIAL Y METODOS

Se seleccionó un intervalo de variación de la salinidad de 4 ‰, desde 27 hasta 43 ‰, y de 3°C, a partir de 23 hasta 35°C para la temperatura.

Las salinidades experimentales se elaboraron añadiendo a volúmenes conocidos de agua de mar, salmuera de salinidad inferior a 70 ‰ ó agua destilada. A cada matriz así preparada se le determinó la clorinidad final mediante valoración con nitrato de plata según el método de Strickland y Parsons (1968).

En los ensayos se utilizaron porciones de plantas no senescentes con una talla comprendida entre 15 y 20 cm, provenientes de un banco cercano a la rada del Instituto de Oceanología (23° 04' 29" N y 82° 28' 20" W), situada aproximadamente a 1 Km al W del río Quibú, en el litoral de la ciudad de La Habana.

En el laboratorio, el ejemplar recolectado se liberó de la epibiotia vágil mediante inmersión en agua dulce por espacio de un minuto. Inmediatamente después se colocaba en un acuario de 30 L de capacidad con aireación, recirculación de agua y luz natural difusa, donde se mantuvo mientras su vitalidad fuera evidente.

Todas las plantas se ambientaron a dichas condiciones como mínimo cinco días antes de utilizarse en los experimentos.

De los extremos apicales del talo se seccionaron fragmentos de 80 a 120 mg en peso húmedo. Cada fragmento después de ser pesado y lavado en agua de mar se incluyó en una bolsa confeccionada con malla de nailon de 163 µm, y cerrada mediante un cordón plástico de color. En cada frasco de cultivo se colocó 1 L

de medio von Stosch (Edwards 1970) y cinco de estas bolsas con su correspondiente ápice. Tanto el agua de mar usada para el enjuague de los ápices y la preparación del medio de cultivo como los frascos, el instrumental y las bolsas fueron esterilizados previamente.

Para pesar los segmentos de talo se usó una balanza analítica con un error de  $\pm 1$  mg. El porcentaje de crecimiento diario (C.D) de cada ejemplar se calculó a partir de la variación de su peso húmedo según las formulaciones expuestas por Hastings y Gutknecht (1976):  $K = \ln(P_f/P_i)t_{-1}$  y  $C.D. = 100 K$  donde K, la razón exponencial de crecimiento se obtuvo considerando  $P_f$  peso final,  $P_i$  peso inicial y t período de crecimiento expresado en días.

La incubación se llevó a cabo en una cubeta de plástico opaco con agua destilada, adosada a un termostato refrigerado Haake D1-G. Como fuente de iluminación se utilizó un panel compuesto por 2 tubos Phillips de 40 W de luz fluorescente del tipo blanco frío.

Los frascos de cultivo se sometieron por espacio de 19 días a una intensidad lumínica constante de  $60 \mu E m^{-2} s^{-1}$ , bajo un fotoperíodo de 12:12 hrs.

La temperatura del agua en la cubeta se registró mediante un termómetro graduado con apreciación de 0.5 °C. Durante el desarrollo de los experimentos su oscilación no resultó superior a  $\pm 1$ °C en todo el intervalo de valores utilizados.

Se emplearon dos frascos por cada salinidad experimental, A cada uno de los diez frascos usados se les colocó un difusor plástico conectado a un pequeño compresor a través de un colector común y una trampa de agua (Fig. 1). Antes de comenzar un experimento los frascos se sumergían en la cubeta de incubación durante 24 horas a la temperatura deseada. Solo después de este acondicionamiento térmico del medio de cultivo se añadían las bolsas a cada frasco, dando inicio el experimento.

El efecto de la salinidad y la temperatura así como de su interacción sobre el crecimiento se obtuvo mediante un arreglo factorial con cinco niveles para cada variable. Acorde a este diseño fueron realizadas cinco experiencias; una por cada temperatura, contrastándose en ellas los cinco valores de salinidad seleccionados. De esta forma en cada experiencia se evaluó el crecimiento de 50 ejemplares segregados en cinco grupos, correspondiendo a cada grupo de diez ejemplares una salinidad dada. La subsiguiente

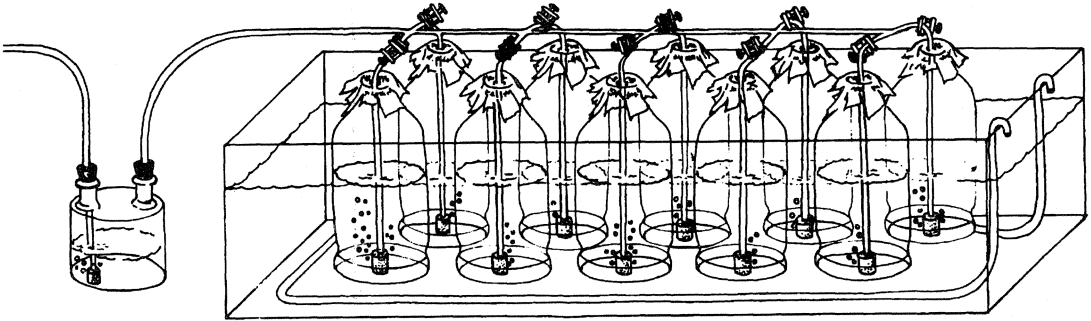


Fig. 1. Dispositivo de cultivo.

aplicación de un ANDEVA de clasificación doble, permitió establecer la significación de las diferencias registradas.

Ha sido consignado por diversos autores que en numerosas macroalgas la relación entre la temperatura y el crecimiento puede ser representada mediante una parábola. Este hecho determinó que dicha relación fuese evaluada a través del ajuste a polinomios de segundo orden según el método de los mínimos cuadrados. Para ello se utilizó el sistema STATGRAPHICS version 4.0 para microprocesadora.

## RESULTADOS

La acción de los cinco tratamientos experimentales sobre el aumento de biomasa resulta evidente (Fig. 2). A pesar de que las magnitudes extremas utilizadas no sobrepasan 8 ‰ y 6°C con respecto a la salinidad usual en el biotopo de esta especie o a la temperatura medias del agua durante los meses estivales, las respuestas además de ser altamente significativas resultan distintas (Cuadro 1).

Ambos factores segregan grupos constituidos por tratamientos cuyas medias no difieren entre sí a un nivel del 5% (Fig. 2).

No obstante, el efecto provocado por cambios en la salinidad parece ser secundario en relación a la influencia ocasionada por la temperatura. Cuando los valores de crecimiento se agrupan de acuerdo al tratamiento térmico, el C.D. adquiere su máximo valor. Así, a 29°C el mismo alcanza una magnitud media de 3.00 %, con un límite inferior de su intervalo de confianza superior a 2.57 %, cifra equivalente a la mejor respuesta promedio observada en todo el intervalo de salinidades.

CUADRO 1

Valores del estadígrafo *F* y probabilidades asociadas (*P*) del ANDEVA aplicado a los efectos de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento de *B. triquetrum*. (Grados de libertad (g.l) entre paréntesis)

Fuente de variación	F	Significancia	Crecimiento g.l
S ‰	16.839	P < 0.0001	(4.225)
T °C	45.035	P < 0.0001	(4.225)
Interacción S*T	2.667	P < 0.001	(16.225)

Aún sin descartar los tratamientos con salinidades mayores de 35 ‰, en las cuales el C.D. no rebasó un valor medio de 1.59%, cuando el criterio de agrupamiento lo constituye este factor el perfil de los C.D. posee también más uniformidad. La única disrupción en la respuesta al gradiente osmótico se observó entre 35 y 39 ‰, con un valor menor a los observados en la escala térmica (Fig. 2).

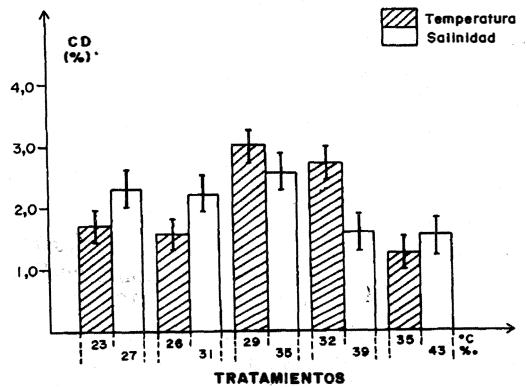


Fig. 2. Crecimiento diario medio de *Bryothamnion triquetrum* cultivado en cinco condiciones distintas de salinidad y temperatura. Las barras enmarcan dos desviaciones estándar.

El efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *B. triquetrum* además de confirmar el estrecho intervalo de valores que caracteriza al óptimo térmico de numerosas macroalgas (Lignell 1988), determina la significación estadística de la interacción Salinidad-Temperatura (S\*T) y rige su contorno (Cuadro 1; Fig. 3). Las interacciones que provocan una mayor respuesta corresponden a la combinación de los niveles 29 y 32°C con salinidades comprendidas entre 27 y 35‰ (Fig. 3). Exceptuando 29‰ \* 35°C, ninguna de ellas resultó significativamente diferente (ANDEVA,  $\alpha = 0.05$ ) entre sí.

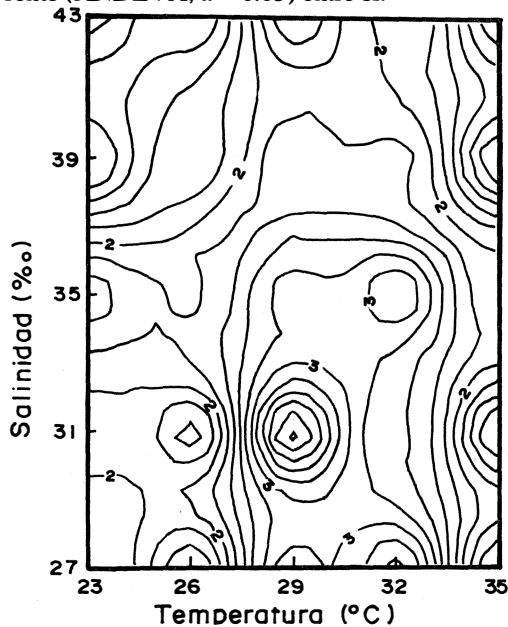


Fig. 3. Efecto sobre el crecimiento diario ocasionado por todas las combinaciones posibles de la salinidad y la temperatura (isolíneas separadas entre sí 0.2‰).

El ajuste del C.D. a un modelo lineal de segundo orden dependiente de la temperatura generó los polinomios:

C.D. =  $-0.031826T^2 + 1.849106T - 23.907935$  (ANDEVA: F, 14.99; p, 0.0001), para el intervalo de salinidades comprendido entre 27 y 35‰ y C.D. =  $-0.039625T^2 + 2.313187T - 31.489608$  (ANDEVA: F, 31.85, p, 0.0001), para el de las dos salinidades más elevadas (Fig. 4). Teniendo en cuenta el nivel de precisión de las lecturas termométricas, los óptimos de crecimiento inferidos de estas expresiones a partir de la segunda derivada de la

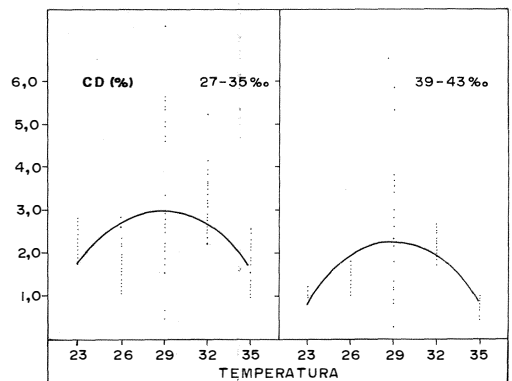


Fig. 4. *Bryothamnion triquetrum*. Tasa de crecimiento en función de la temperatura. Ajuste a polinomios de segundo orden.

temperatura (29.05 y 29.19°C respectivamente), no resultaron significativamente diferentes.

## DISCUSION

La disminución del crecimiento de *B. triquetrum* causada por condiciones hipertónicas coincide con observaciones efectuadas en otras algas marinas. Ogata y Matsui (1968), demostraron que la hipertonicidad limita la respiración de las plantas marinas e incluso en especies propias del supralitoral como *Porphyra umbilicalis* (L.) J. Agardh, la acción continua de un medio hipertónico deprime el crecimiento y la actividad fotosintética (Ogata y Schramm 1971). Esta evidencia experimental fundamenta sobre principios fisiológicos el hecho de que *B. triquetrum* no suela aparecer en macrolagunas de la plataforma insular cubana con salinidades superiores a 39‰

Los mayores aumentos de la biomasa se registraron en medios cuyo contenido salino osciló entre 27 y 35‰, lo que evidenció la tolerancia de *B. triquetrum* a condiciones hiposmóticas moderadas. El fenómeno, ya observado en macroalgas de origen estuarino (Bolton 1979, Reed y Barron 1983), no parece requerir de una componente genética en algunos grupos taxonómicos, sustentándose más bien en adaptaciones basadas en cambios fisiológicos y morfológicos a corto y largo plazo (Munda y Kremer 1977). Aún así, esta aparente contradicción entre respuesta experimental y localización

natural no deja de resultar paradójica si se considera la estricta correlación existente en los vegetales marinos entre el hábitat y la resistencia osmótica de la especie (Almodóvar y Biebl 1962).

Propio de la biocenosis arrecifal, *B. triquetrum* medra por lo general en los lugares sometidos a variaciones raramente superiores a 2 ó 3 ‰ con relación al contenido de sales del agua oceánica. Acorde a su microlocalización cabría ser catalogada como muy estenohalina según la clasificación propuesta por Earle (1969) para las feofíceas de la región E el Golfo de México, con un umbral de supervivencia acotado entre 30 y 38 ‰ y un margen estrecho de adaptación a cambios en la salinidad.

Todo parece indicar que otros elementos actúan limitando su proliferación en áreas polihalinas cercanas a la desembocadura de ríos o lagunas costeras. Factores ecológicos como la ocupación del sustrato por especies oportunistas, el grado de consolidación de los sedimentos circundantes y la cantidad de sólidos suspendidos en la columna de agua, o incluso ontogénicos como la modificación de los umbrales de tolerancia a cambios en el balance iónico durante el curso de su desarrollo, pueden afectar su distribución.

La naturaleza tropical de la planta no solo fue confirmada por su óptimo término de crecimiento. De las 17 rodofíceas presentes en aguas de la Florida cuya respuesta fotosintética fue evaluada en función de la temperatura (Mathieson y Dawes 1986), solo *Laurencia poitei* (Lamouroux) Howe, *Bryothamnion triquetrum*, y *B. seaforthii* (Turner) Kutzling mostraron una tasa máxima de fotosíntesis a 27°C, únicamente superadas por *Bostrychia rivularis* Harvey y *Bryopsis plumosa* (Hudson) C. Agardh. Por otro lado, el área de máximas respuesta de la interacción S\*T corresponde en aguas de la plataforma insular cubana a un campo de valores de temperatura y salinidad propios del verano (Luis Riera 1974, Blazquez 1981), lo cual refleja la adaptación fisiológica de esta especie el período anual de mayor potencialidad productiva.

## RESUMEN

Se analizaron la influencia de la salinidad y la temperatura sobre el crecimiento de la rodofícea *Bryothamnion triquetrum* en un campo de valores representativo de las oscilaciones extremas de ambos factores en el biotopo de la es-

pecie. Fue comprobada experimentalmente la naturaleza tropical de esta especie.

El óptimo térmico de crecimiento fue de 29°C para el intervalo de salinidades comprendido entre 27 y 43 ‰ y solo a partir de 39 ‰ la salinidad deprimió el crecimiento. La combinación de los niveles 29 y 32°C con salinidades desde 27 hasta 35 ‰ generaron los mayores incrementos del peso.

## REFERENCIAS

- Almodóvar, L. R. & R. Biebl. 1962 Osmotic resistance of mangrove algae around La Parguera, Puerto Rico. *Rev. Alg.* 3: 203-208.
- Areces, A. J. 1990. Mariculture of agarophytes in Cuba: present status, trends and perspectives. *In* E. C. de Oliveira, N. Kautsky (eds). *Cultivation of seaweeds in Latin America*. Univ. Sao Paulo.
- Blazquez, L. 1981. Algunos aspectos del régimen de temperatura en la plataforma NW de Cuba y la región oceánica adyacente. *Inf. Cien. Tec.* 171: 1-28.
- Bolton, J.J. 1979. Estuarine adaptations in populations of *Phyllyella littoralis* (L.) Kjellm. *Est. Coast. Mar. Sci.* 9: 273-280.
- Dawes, C.J. 1986. Ecología fisiológica: Conceptos y métodos. *In* *Botanica Marina*. Limusa, México. 673p.
- Díaz-Piferrer, M. 1961. Taxonomía, ecología y valor nutricional de algas marinas cubanas. III. Algas productoras de agar. *Mem. Inst. Cubano Invest. Tecnol.* 17: 82p.
- Earle, S.A. 1969. Phaeophyta of eastern Gulf of Mexico. *Phycologia*. 7: 71-254.
- Edwards, P. 1970. Illustrated guide to the seaweeds and sea grasses in the vicinity of Port Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sci. Suppl.* 15, 126p.
- Erdmann, N. & U. Schiewer. 1984. Cell size changes as indicator of salt resistance of blue-green algae. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 67, 4: 431-439.
- Hastings, D.F. & J. Gutknecht. 1876. Ionic relations and the regulation of turgor pressure in the marine alga *Valonia macrocrophysa*. *J. memb. Biol.* 28: 263-275.
- Lignell, A. 1988. Physiology and cultivation of marine seaweeds with emphasis on *Gracilaria secundata* (Rhodophyta, Gigartinales). *Acta Univ. Ups., Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science*, 120. Uppsala. 48p.
- Lluis Riera, M. 1974. Estudios hidrológicos de un área semicerrada y de las aguas adyacentes, en la costa norte de la provincia de la Habana. *Ser. Oceanol.* 19: 5-45.
- Mackay, M.A., R.S. Norton, & I. J. Borowitzka. 1983. Marine Bluegreen algae have a unique osmoregulatory system. *Mar. Biol.* 73: 301-307.

- Marré, E. 1962. Temperature. *In* Ralph A. Lewin (ed.). Physiology and biochemistry of algae. Academic. Nueva York.
- Mathieson, A.C. & C.J. Dawes. 1986. Photosynthetic responses of Florida seaweeds to light and temperature: a physiological survey. *Bull. Mar. Sci.* 38: 512-524.
- Munda, I.M. & B.P. Kremer. 1977. Chemical composition and physiological properties of fucoids under conditions of reduced salinity. *Biol* 42: 9-15.
- Munns, R., H. Grenway, & G.O. Kirst. 1983. Halotolerant eukaryotes, p. 59-135, *In* O.L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond, H. Ziegler (eds). *Encyclopedia of plant physiology Vol 12C. Physiological plant ecology III.* Springer. Nueva York.
- Ogata, E. & T. Matsui. 1968. Photosynthesis in several marine plants of Japan as affected by salinity, drying, and pH, with attention to their growth habitats. *Bot. Mar.* 8: 199-217.
- Ogata, E. & W. Schramm. 1971. Some observations on the influence of salinity on growth and photosynthesis in *Porphyra umbilicalis*. *Mar. Biol.* 10: 70-76.
- Reed, R.H., J.C. Collins, & G. Russel. 1980. The effects of salinity upon cellular volume of the marine red alga *Porphyra purpurea* (Roth.) C. Ag. *J. exp. Bot.* 31: 1521-1537.
- Reed, R.H. & J. A. Barron. 1983. Physiological adaptation to salinity change in *Pilayella littoralis* from marine and estuarine sites. *Bot.* 26: 409-416.
- Shobert, B. 1980. The importance of water activity on water structure during hyperosmotic stress in algae and higher plants *Biochem. Physiol. Pflanzen* 175: 91-103.
- Sosa, E. 1983. Posibilidades de utilización industrial de las agarófitas de Cuba. *Rep. Invest. Inst. Bot.* 4: 1-25.
- Strickland, J. D. & T.R. Parsons. 1968. *A Practical Handbook of Seawater Analysis.* Bull. 167, Fish. Res. Board Canada. p. 11-16.
- Yancey, P. H., M. E. Clark, S.C. Hand, R.D. Bowlus, & G.N. Somero. 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science* 217: 1214-1222.
- Zimmermann, U. 1978. Physics of turgor and osmoregulation, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 121-148.