

**ECOLOGIA REPRODUCTIVA DE *Gracilaria pacifica* ABBOTT  
(GRACILARIALES; RHODOPHYTA),  
EN EL ESTERO DE PUNTA BANDA, MEXICO**

**REPRODUCTIVE ECOLOGY OF *Gracilaria pacifica* ABBOTT  
(GRACILARIALES; RHODOPHYTA),  
IN ESTERO DE PUNTA BANDA, MEXICO**

Isaí Pacheco-Ruíz<sup>1</sup>  
José A. Zertuche-González<sup>1</sup>  
Raúl Aguilar-Rosas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Oceanológicas  
Universidad Autónoma de Baja California  
Apartado postal 453  
Ensenada, Baja California, México

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Marinas  
Universidad Autónoma de Baja California  
Apartado postal 453  
Ensenada, Baja California, México

*Recibido en enero de 1993; aceptado en octubre 1993*

**RESUMEN**

En el Estero de Punta Banda, Baja California (México), se estudiaron dos poblaciones de *Gracilaria pacifica* Abbott que se desarrollan en diferentes tipos de sustrato (fangoarenoso y rocoso) y difieren en el tipo y predominio de fases de reproducción. Para determinar si la falta de sustrato duro (rocoso) que permita la fijación y la viabilidad de las tetrasporas se relaciona con la ausencia de plantas cistocárpicas en praderas distribuidas en sustrato blando (fangoarenoso), se evaluó la fijación y viabilidad de las tetrasporas sobre un sustrato artificial (placas de concreto), *in situ* y en cultivo bajo condiciones semicontroladas. Se cuantificó la fertilidad y la viabilidad de las tetrasporas bajo condiciones controladas de laboratorio. Las tetrasporas de ambas estaciones germinaron bajo condiciones controladas y semicontroladas. Sólo se presentó germinación *in situ* en la estación con sustrato duro. En el ambiente fangoarenoso (*in situ*) no se observó crecimiento de plantas sobre los sustratos artificiales instalados en medio de la pradera. Se concluye que no es la falta de sustrato duro (rocoso) ni de viabilidad de las tetrasporas lo que provoca la ausencia de plantas cistocárpicas en las praderas de *G. pacifica* que crecen sobre sustrato fangoarenoso.

*Palabras clave:* *Gracilaria pacifica*, Rhodophyta, tetrasporas, germinación de tetrasporas, liberación de esporas.

**ABSTRACT**

Two populations of *Gracilaria pacifica* Abbott, that grow on different types of substrates (mud-sand and rocky) and that differ in the type and dominance of reproductive phases, were studied in Estero de Punta Banda, Baja California (Mexico). To determine whether the lack of hard (rocky) substrate, which allows attachment, and the viability of the tetraspores are related to the absence of cystocarpic plants in beds distributed on a soft substrate (mud-sand), the attachment and viability of the tetraspores, on an artificial substrate (concrete slabs), were evaluated *in situ* and under semicontrolled culture conditions. The fertility and viability of the

tetraspores under controlled laboratory conditions were quantified. The tetraspores from both stations germinated under controlled and semicontrolled conditions. Germination *in situ* occurred only at the station with hard substrate. In the mud-sand environment, growth of plants on the artificial substrates placed among the beds was not observed. It is concluded that the absence of cystocarpic plants in *G. pacifica* beds that grow on a mud-sand substrate cannot be attributed to the lack of hard (rocky) substrate or the viability of the tetraspores.

**Key words:** *Gracilaria pacifica*, Rhodophyta, tetraspores, germination of tetraspores, release of spores.

## INTRODUCCION

A pesar de que *Gracilaria* ha sido ampliamente estudiada a nivel mundial, en muchos lugares aún se desconocen aspectos relacionados con la reproducción de esta especie (N. Bird, 1976; C. Bird *et al.*, 1977).

Se ha demostrado que *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (N. Bird *et al.*, 1977), *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Ogata *et al.*, 1972; C. Bird *et al.*, 1982) y *Gracilaria foliifera* Forsskal (McLachlan y Edelstein, 1977) poseen un ciclo de vida tipo *Polysiphonia* (Dixon, 1973). Sin embargo, estudios estacionales de campo muestran diferencias en la proporción de fases reproductivas de poblaciones de una misma región, en Canadá (N. Bird, 1976; C. Bird *et al.*, 1977).

Se ha observado que la respuesta reproductiva de *Gracilaria* está directamente relacionada con el tipo de sustrato (Romo y Alveal, 1979). En un sustrato fangoarenoso prosperan únicamente poblaciones monofásicas de plantas tetraspóricas o vegetativas, en las cuales se detectan tetrasporas, pero no indicios de reproducción por medio de ellas. Se infiere que en un ambiente fangoarenoso la población se mantiene por fragmentación o reproducción vegetativa, aun cuando en cultivos de laboratorio sus tetrasporas pudieran germinar y cumplir la alternancia de generaciones, como sucede con algunas poblaciones de *Gracilaria* en Chile (Dellarossa *et al.*, 1980). Por otro lado, un sustrato rocoso permite la fijación de esporas y el desarrollo de plantas espermatangiales (gametofitas masculinas), cistocárpicas (femeninas) y tetraspóricas, que cumplen con la alternancia de generaciones (Lindsay y Saunders, 1977; Romo y Alveal, 1979; Romo *et al.*, 1979; Dellarossa *et al.*, 1980; Ramírez *et al.*, 1981).

La inestabilidad del sustrato fangoarenoso y las bajas temperaturas se han señalado como dos de los posibles factores que impiden la germinación de las tetrasporas de

## INTRODUCTION

Though *Gracilaria* has been extensively studied world-wide, aspects related to the reproduction of this species are still not known in many places (N. Bird, 1976; C. Bird *et al.*, 1977).

It has been shown that *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (N. Bird *et al.*, 1977), *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Ogata *et al.*, 1972; C. Bird *et al.*, 1982) and *Gracilaria foliifera* Forsskal (McLachlan and Edelstein, 1977) have a *Polysiphonia*-type of life cycle (Dixon, 1973). However, seasonal field studies show differences in the proportion of reproductive phases in populations from the same region in Canada (N. Bird, 1976; C. Bird *et al.*, 1977).

It has been observed that the reproductive response of *Gracilaria* is directly related to the type of substrate (Romo and Alveal, 1979). In a mud-sand substrate, only monophasic populations of tetrasporic and vegetative plants thrive in which tetraspores are detected, but there is no evidence of reproduction by them. It is inferred that in a mud-sand environment the populations are maintained by fragmentation or vegetative reproduction, even though in laboratory cultures their tetraspores may germinate and present alternation of generations, as occurs in some populations of *Gracilaria* in Chile (Dellarossa *et al.*, 1980). On the other hand, a rocky substrate allows the attachment of spores and the development of spermatangial (male gametophytes), cystocarpic (female) and tetrasporic plants, that present alternation of generations (Lindsay and Saunders, 1977; Romo and Alveal, 1979; Romo *et al.*, 1979; Dellarossa *et al.*, 1980; Ramírez *et al.*, 1981).

The instability of mud-sand substrates and low temperatures have been reported to be two of the possible factors that impede the germination of the tetraspores of *Gracilaria* in the natural environment of Chilean popula-

*Gracilaria* en el ambiente natural de poblaciones chilenas (Romoy Alveal, 1979; Romo *et al.*, 1979; Dellarossa *et al.*, 1980; Ramírez *et al.*, 1981). Lindsay y Saunders (1977) atribuyen la ausencia de plantas cistocárpicas a la poca o nula viabilidad de las tetrasporas producidas por las plantas de *Gracilaria* en el medio natural de poblaciones canadienses.

En el Estero de Punta Banda (Baja California, México), se han observado diferencias marcadas en el tipo y predominio de fases de reproducción según el tipo de sustrato (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993). En el presente estudio, se consideró la hipótesis de que la falta de sustrato duro (rocoso) y/o la carencia de viabilidad de las tetrasporas fueran causantes de la ausencia de plantas cistocárpicas en praderas de *Gracilaria pacifica* Abbott que crecen sobre un sustrato blando fangoarenoso.

#### AREA DE ESTUDIO Y ESTACIONES EXPERIMENTALES

Las observaciones y experimentos fueron realizados en el Estero de Punta Banda (31°40'-31°48' N y 116°36'-116°40' O), en Baja California. Se seleccionaron dos estaciones experimentales (E1 y E2) de acuerdo con el tipo de sustrato y forma de vida de *G. pacifica* (Fig. 1).

En la estación E1, *G. pacifica* crece en la zona intermareal, sobre un sustrato blando fangoarenoso, poblado de plantas tetraspóricas, vegetativas y escasas espermatangiales. Los talos se encuentran entrelazados, formando una población densa, con una porción subterránea. En la estación E2, la pradera de *G. pacifica* queda expuesta en la zona intermareal y está compuesta de plantas espermatangiales, cistocárpicas, tetraspóricas y vegetativas, adheridas a rocas (guijarros de 0.2 a 25.0 cm de diámetro) dispersas sobre un sustrato de arcilla gruesa (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993).

#### MATERIALES Y METODOS

##### Fijación

Para conocer la capacidad de fijación *in situ* de las tetrasporas en sustratos duros artificiales, se colocaron tres placas de concreto de 40 x 20 x 3 cm (largo, ancho y alto), entre los mantos de *G. pacifica* de ambas estaciones. Los sustratos se colocaron en el

tions (Romo and Alveal, 1979; Romo *et al.*, 1979; Dellarossa *et al.*, 1980; Ramírez *et al.*, 1981). Lindsay and Saunders (1977) attribute the absence of cystocarpic plants to the little or null viability of the tetraspores produced by the plants of *Gracilaria* in the natural environment of Canadian populations.

In Estero de Punta Banda (Baja California, Mexico), differences have been observed in the type and dominance of the reproductive phases, depending on the type of substrate (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993). In the present study, we consider the hypothesis that the lack of hard (rocky) substrate and/or the lack of viability of the tetraspores are responsible for the absence of cystocarpic plants in meadows of *Gracilaria pacifica* (Abbott) growing on a soft mud-sand substrate.

#### STUDY AREA AND EXPERIMENTAL STATIONS

The observations and experiments were carried out in Estero de Punta Banda (31°40'-31°48' N and 116°36'-116°40' W), in Baja California. Two experimental stations (E1 and E2) were selected according to the type of substrate and life form of *G. pacifica* (Fig. 1).

At station E1, *G. pacifica* grows in the intertidal zone, on a soft mud-sand substrate populated by tetrasporic, vegetative and very few spermatangial plants. The thalli are interwoven, forming a dense population, with a subterranean portion. At station E2, the *G. pacifica* beds are exposed in the intertidal zone and composed of spermatangial, cystocarpic, tetrasporic and vegetative plants, attached to rocks (pebbles of 0.2 to 25.0 cm diameter) dispersed over a thick clay substrate (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993).

#### MATERIALS AND METHODS

##### Attachment

To determine the capacity of attachment *in situ* of the tetraspores to hard artificial substrates, three slabs of concrete of 40 x 20 x 3 cm (length, width, height) were placed at each station, among the *G. pacifica* beds. The substrates were placed in August 1988, when there was a large number of tetrasporic plants in the area (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993). The slabs were checked after

mes de agosto de 1988, cuando un número grande de plantas tetraspóricas se localizaba en el área (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993). La revisión de las placas de concreto se realizó a los 49 días, con el fin de verificar el crecimiento de las tetrasporas que se fijaron *in situ*. Las observaciones se efectuaron directamente sobre los sustratos artificiales, ya que en ese momento los juveniles de *G. pacifica* tenían de 2 a 4 cm de longitud.

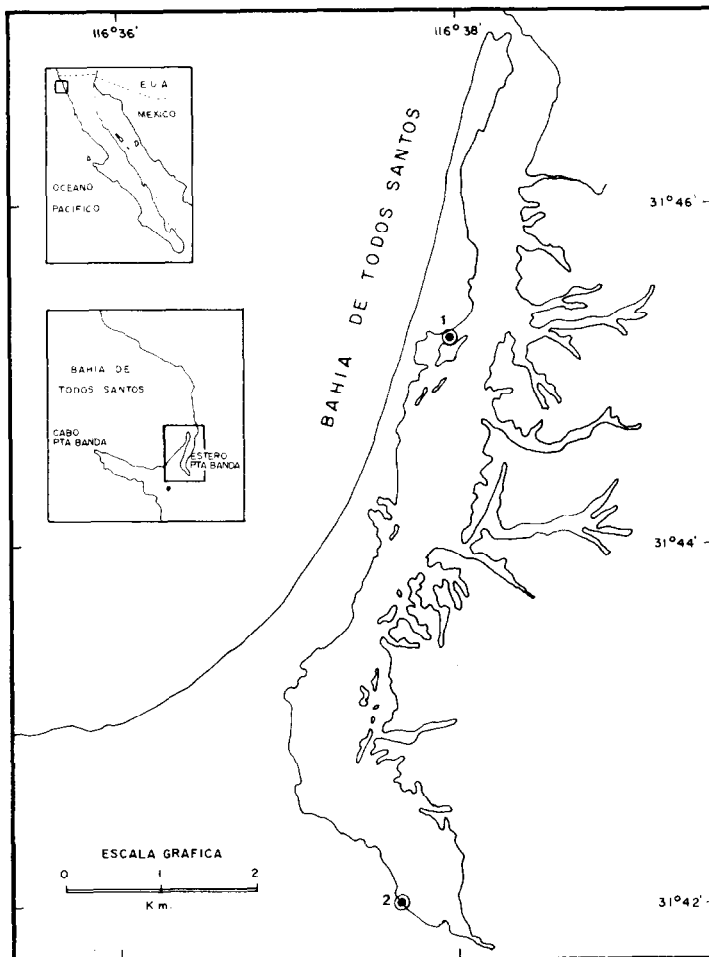
### Viabilidad

Con el propósito de verificar la viabilidad de las tetrasporas de ambas estaciones

49 days in order to verify the growth of the tetraspores that settled *in situ*. The observations were made directly on the artificial substrates, since at that time the juveniles of *G. pacifica* were 2 to 4 cm long.

### Viability

In order to determine the viability of the tetraspores from both stations (E1, E2), transplants were carried out of tetraspores attached to artificial concrete substrates between stations. The attachment of the tetraspores to the substrates was accomplished by placing tetrasporic plants of *G. pacifica* from



**Figura 1.** Área de estudio y localización de las estaciones de recolección y experimentales 1 y 2.  
**Figure 1.** Study area and location of the collecting and experimental stations 1 and 2.

(E1, E2), se realizaron trasplantes de tetrasporas adheridas a sustratos artificiales de concreto, entre estaciones. La fijación de las tetrasporas a los sustratos se realizó colocando plantas tetraspóricas de *G. pacifica* de ambas estaciones en tanques de cultivo por separado, bajo condiciones semicontroladas. Los tanques de cultivo fueron como los descritos por Zertuche-González *et al.* (1987). El aire introducido en los tanques ( $10\text{ l min}^{-1}$ ) desde el fondo permitió mantener las plantas en constante movimiento y las tetrasporas liberadas con una distribución homogénea en el medio. El flujo de agua en los tanques se mantuvo cerrado, para evitar pérdida de tetrasporas. La máxima irradiancia fue de  $1,578\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$  a las 13:00 hrs. La máxima temperatura ambiental fue  $24.5^{\circ}\text{C}$  y la mínima  $18^{\circ}\text{C}$ .

Los cultivos se fertilizaron con  $80\ \mu\text{M}$  de  $\text{NaNO}_3$  y  $8\ \mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . La fertilización se realizó agregando los nutrientes cada tres días, durante tres horas, con flujo de agua cerrado. Después de la fertilización, el flujo de agua en los tanques fue de  $500\ \text{ml min}^{-1}$ .

Después de cuatro días, las plantas se removieron de los tanques de cultivo y los sustratos artificiales, y se realizó un conteo aleatorio, por centímetro cuadrado, utilizando un microscopio estereoscópico (Zeiss), con el fin de cuantificar las tetrasporas fijas.

El trasplante de tetrasporas consistió en colocar, en cada estación, tres sustratos artificiales con tetrasporas de la estación opuesta. En los tanques de cultivo y bajo las condiciones antes descritas, se dejaron tres sustratos artificiales con tetrasporas fijas de la estación E1 y otros tres de la estación E2. El crecimiento se midió a los 49 días, en todos los sustratos.

Para estimar la viabilidad de las tetrasporas bajo condiciones controladas, se tomó una gota de cada muestra, después de haber contado las tetrasporas liberadas, y se colocó en una caja de petri ( $60 \times 15\ \text{mm}$ ) con medio de cultivo. Se cuidó que el número de tetrasporas fuera pequeño para evitar competencia por espacio debida a la alta densidad (Reed *et al.*, 1991). El número de tetrasporas se contó al inicio, utilizando un promedio de  $100 \pm 10$  tetrasporas por experimento. Las tetrasporas se pusieron en un incubador, bajo 12:12 de fotoperiodo y  $18 \pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura. La iluminación para el cultivo fue de  $20\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ , generada por lámparas de luz

both stations in separate culture tanks, under semicontrolled conditions. The culture tanks are described by Zertuche-González *et al.* (1987). Air was supplied from the bottom of the tanks ( $10\ \text{l min}^{-1}$ ), allowing the plants to be in continuous motion and the tetraspores released with a homogeneous distribution in the medium. The flow of water in the tanks was kept closed, to prevent the loss of tetraspores. Maximum irradiance was  $1,578\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$  at 13:00 hours. Maximum ambient temperature was  $24.5^{\circ}\text{C}$  and minimum  $18^{\circ}\text{C}$ .

The cultures were fertilized with  $80\ \mu\text{M}$  of  $\text{NaNO}_3$  and  $8\ \mu\text{M}$  of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . The nutrients were added every three days for three hours, with a closed water flow. After fertilization, water flow in the tanks was  $500\ \text{ml min}^{-1}$ .

After four days, the plants were removed from the culture tanks and from the artificial substrates. A random count per square centimetre was then carried out, using a stereoscopic microscope (Zeiss), in order to quantify the attached tetraspores.

For the transplant of tetraspores, three artificial substrates with tetraspores from the opposite station were placed at each station. Three artificial substrates with attached tetraspores from station E1 and three from station E2 were left in the culture tanks, under the previously described conditions. Growth on all the substrates was measured after 49 days.

To estimate the viability of the tetraspores under controlled conditions, a drop of each sample was taken, after having counted the released tetraspores, and placed in a petri dish ( $60 \times 15\ \text{mm}$ ) containing culture medium. The number of tetraspores was kept low to prevent competition for space due to high density (Reed *et al.*, 1991). The number of tetraspores was counted at the beginning, using an average of  $100 \pm 10$  tetraspores per experiment. The tetraspores were placed in an incubator, with a photoperiod of 12:12 and at a temperature of  $18 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Illumination for the culture was  $20\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ , provided by 40 W white-light lamps integrated in the incubator. Salinity was 33‰ and Provasoli was used as culture medium (Bold and Wynne, 1978). After the first week, the media were changed every three days. After 30 days, the number of germinated tetraspores was

blanca de 40 W integradas en el incubador. La salinidad fue de 33‰ y el medio de cultivo utilizado fue el Provasoli (Bold y Wynne, 1978). Después de la primera semana, los medios se cambiaron cada tres días. A los 30 días, se contó el número de tetrasporas germinadas, que se indica como porcentaje de viabilidad con respecto al número inicial de tetrasporas presentes. Todos los conteos se realizaron a través de un microscopio estereoscópico (Zeiss) y papel cuadriculado milimétrico colocado en el fondo de la caja de petri. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar la viabilidad de las tetrasporas de las dos poblaciones (Zar, 1984).

### **Fertilidad**

La fertilidad de las plantas de ambas poblaciones se estimó contando el número de tetrasporas liberadas por gramo de planta, en peso húmedo, bajo condiciones controladas de laboratorio. Se utilizaron seis plantas tetraspóricas que se recolectaron en forma aleatoria en el mes de agosto de 1988, en cada una de las estaciones. De cada planta se tomó un gramo en peso húmedo. El material se colocó en una caja de petri esterilizada de 10 x 15 cm (diámetro, altura), en agua de mar filtrada y esterilizada, bajo las mismas condiciones utilizadas para la viabilidad. Cada 24 horas, se sacaron los trozos de plantas y se pusieron en una nueva caja con agua de mar. Después, se retiró parte del agua de la caja, utilizando un gotero, para posteriormente pasar las tetrasporas y el resto del agua a un tubo de ensayo. El fondo de la caja se enjuagó y se frotó suavemente con un pincel, para asegurar que no quedaran tetrasporas adheridas. La pérdida de tetrasporas en el manejo fue alrededor de 0.5%. La muestra se homogenizó por medio de un agitador eléctrico (Super-Mixer # 1298, Lab-Line Inst.), durante un minuto. Con un gotero, se tomó un milímetro cúbico de esta muestra homogenizada, de volumen conocido, y se colocó en una cámara Fuchs Rosenthal (ultraplana, de 2/10 mm de profundidad). Se contaron las tetrasporas con un microscopio compuesto (Bausch & Lomb), siguiendo la metodología descrita por Guillard (1973). El número de tetrasporas por mililitro que se obtuvo se multiplicó por el número total de mililitros de muestra en el tubo de ensayo, y se calculó así el total de tetrasporas liberadas por experimento. Este procedimiento se realizó

counted, which is given as the percentage of viability with respect to the initial number of tetraspores present. All the counts were made using a stereoscopic microscope (Zeiss) and millimetric graph paper placed at the bottom of the petri dish. An analysis of variance (ANOVA) was applied to compare the viability of the tetraspores from both populations (Zar, 1984).

### **Fertility**

The fertility of the plants from both populations was estimated by counting the number of tetraspores released per gram of plant (wet weight), under controlled laboratory conditions. Six tetrasporic plants were used, collected at random in August 1988 at each station. One gram (wet weight) was taken from each plant. The material was placed in a sterilized petri dish of 10 x 15 cm (diameter, height), in filtered and sterilized seawater, under the same conditions used for the viability. Every 24 hours, the pieces of plants were removed and placed in a new dish with seawater. Then, part of the water was removed with a dropper, and the tetraspores and the rest of the water were transferred to a test tube. The bottom of the dish was rinsed and softly scrubbed with a brush, to ensure that no tetraspores remained attached. The loss of tetraspores due to handling was around 0.5%. The sample was homogenized with an electric mixer (Super-Mixer # 1298, Lab-Line Inst.) for one minute. One cubic millimetre of this homogenized sample, of known volume, was taken and placed in a Fuchs Rosenthal chamber (ultrathin, 2/10 mm deep). The tetraspores were counted under a compound microscope (Bausch & Lomb), following the methodology described by Guillard (1973). The number of tetraspores per millilitre obtained was multiplied by the total number of millilitres of sample in the test tube, and the total of tetraspores released per experiment was calculated. This procedure was carried out when the plants had stopped releasing tetraspores. An analysis of variance (ANOVA) was applied to compare the fertility of the two populations (Zar, 1984).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The results of this study indicate that the lack of a hard substrate does not explain

hasta que las plantas dejaron de liberar tetrasporas. Se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar la fertilidad de las dos poblaciones (Zar, 1984).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del presente estudio indican que la falta de un sustrato duro no explica la ausencia de plantas gametofitas en la población de sustrato blando (E1). Las plantas que crecen sobre sustrato blando muestran capacidad de producir esporas más viables que aquéllas producidas por plantas adheridas a rocas. Sin embargo, una relación inversa entre el número de esporas y su viabilidad se observó entre las dos poblaciones, con un mayor número de esporas producidas por las plantas de la estación E2 (con sustrato duro). Estas plantas muestran una apariencia más saludable, son de mayor tamaño y están libres de epifitas mientras que las plantas que crecen sobre un sustrato blando resultan ser de menor tamaño, con relativamente menor coloración y frecuentemente epifitadas.

En relación con la canalización de la energía para reproducción, De Wreede y Klinger (1988) proponen que cuando un número de esporas se producen de una cantidad de energía predeterminada y el resto de esta energía (la mayoría) se utiliza para el crecimiento, el resultado es un decremento en la viabilidad de las esporas que se producen, como resultado de una menor cantidad de energía canalizada para la reproducción. Esta hipótesis explica la relación inversa entre fertilidad y viabilidad que se presenta entre las dos poblaciones, ya que las algas de la estación E1 son pequeñas (< 20 cm) y producen menor cantidad de esporas, pero con mayor viabilidad; mientras las plantas de la estación E2, utilizan la mayoría de su energía para crecer (> 30 cm) y producen más esporas, pero éstas tienen menor viabilidad. Estos resultados sugieren que *G. pacifica* se ha adaptado a un ambiente más hostil por medio de una estrategia *r*, en la cual lo más importante para mantenerse en el medio es su reproducción vegetativa; mientras las plantas del ambiente menos hostil presentan una estrategia *k*, en la que lo más importante es la alta fertilidad que le permite a la espora colonizar nuevos espacios (Pianka, 1970; Parry, 1981).

the absence of gametophyte plants in the soft-substrate population (E1). Plants that grow on soft substrate have the ability to produce spores which are more viable than those produced by plants attached to rocks. However, an inverse relationship between the number of spores and the viability is observed between the two populations, with a greater number of spores produced by the plants from station E2 (hard substrate). These plants have a healthier appearance, a larger size and are free of epiphytes, whereas the plants that grow on soft substrate are of smaller size, have relatively less colouration and are frequently epiphytized.

With regard to the channelling of energy into reproduction, DeWreede and Klinger (1988) propose that when a number of spores are produced from a predetermined amount of energy and the rest of this energy (most) is utilized for growth, the result is a decrease in viability of the spores produced, as a result of a lower amount of energy channelled into reproduction. This hypothesis explains the inverse relationship between fertility and viability that exists between the two populations, since the algae from station E1 are small (<20 cm) and produce fewer spores, but with greater viability. On the other hand, the plants from station E2 expend most of their energy on growth (> 30 cm) and produce more spores, but these have less viability. These results suggest that *G. pacifica* has adapted to a more hostile environment through an *r* strategy, in which the most important factor for its survival in the environment is its vegetative reproduction. Plants from a less hostile environment present a *k* strategy, in which the most important factor is the high fertility that allows the spore to colonize new spaces (Pianka, 1970; Parry, 1981).

The fertility experiments on *G. pacifica* show that the plants from both populations release most of their tetraspores in the first three days, after which this activity decreases (table 1). This behaviour is common in the genus *Gracilaria* (Chennubhotla *et al.*, 1973). However, the plants from station E2 (rocky substrate) presented greater fertility, with 268,000 tetraspores g<sup>-1</sup> wet weight, than those from station E1 (mud-sand), with 38,000 tetraspores g<sup>-1</sup> wet weight (table 1). The statistical analysis (ANOVA) showed highly significant differences between them (F = 15.23;

Los experimentos de fertilidad sobre *G. pacifica* muestran que las plantas de ambas poblaciones liberan la mayoría de sus tetrasporas en los primeros tres días y después disminuyen esta actividad (tabla 1), lo cual es un comportamiento común observado en el género *Gracilaria* (Chennubhotla *et al.*, 1973). Sin embargo, las plantas de la estación E2 (rocoso) presentaron mayor fertilidad, con 268,000 tetrasporas g<sup>-1</sup> de peso húmedo, que las de la estación E1 (fangoarenoso), con 38,000 tetrasporas g<sup>-1</sup> de peso húmedo (ta-

P ≤ 0.01). This result was reflected in the number of tetraspores per square centimetre that settled on the artificial substrates in culture. There was greater attachment of tetraspores to the substrates on which plants from the station with higher fertility were placed; the difference was of the order of magnitude 6 ± 0.7 cm<sup>-2</sup> vs. 60 ± 10.2 cm<sup>-2</sup> (table 2).

The inverse relationship between fertility and viability observed between the populations cannot be attributed to different states of reproductive maturity, since well-defined

**Tabla 1.** Número de tetrasporas liberadas por día, por gramo de peso húmedo, y porcentaje de viabilidad de éstas, en *Gracilaria pacifica* bajo condiciones controladas.

**Table 1.** Number of tetraspores released per day per gram wet weight and their percentage of viability, in *Gracilaria pacifica* under controlled conditions.

Días	No. de esporas liberadas g <sup>-1</sup> (10 <sup>3</sup> ) n = 6		Porcentaje de viabilidad n = 3	
	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>
1	8 ± 1.0	96 ± 0.5	3 ± 0.5	3 ± 0.2
2	8 ± 1.0	38 ± 0.5	0	3 ± 0.2
3	8 ± 1.3	106 ± 0.5	3 ± 0.2	0
4	6 ± 0.5	16 ± 0.5	2 ± 0.2	0
5	6 ± 0.5	8 ± 1.5	0	0
6	2 ± 0.5	4 ± 1.0	6 ± 0.2	0

± = error estándar

**Tabla 2.** Tetrasporas de *Gracilaria pacifica* que se fijaron y desarrollaron, por centímetro cuadrado, en placas de concreto *in situ*, en cultivo y trasplantadas entre estaciones.

**Table 2.** Tetraspores of *Gracilaria pacifica* that settled and developed, per square centimetre, on concrete slabs *in situ*, in culture and transplanted between stations.

Estación	No. de esporas adheridas cm <sup>-2</sup>		No. de esporas viables cm <sup>-2</sup>	
	<i>in situ</i>	en cultivo	en trasplante	en cultivo
E1	0	6 ± 0.7	1.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.4
E2	3 ± 0.6	60 ± 10.2	0 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.6

± = error estándar  
n = 30 lecturas

a = trasplante de E1 a E2  
b = trasplante de E2 a E1



bla 1). Un análisis estadístico (ANOVA) arrojó diferencias altamente significativas entre ellas ( $F = 15.23$ ;  $P \leq 0.01$ ). Este resultado se reflejó en el número de tetrasporas por centímetro cuadrado que se fijó sobre los sustratos artificiales en cultivo. Se presentó mayor fijación de tetrasporas en los sustratos donde se pusieron plantas de la estación con mayor fertilidad; la diferencia fue del orden de magnitud  $6 \pm 0.7 \text{ cm}^{-2}$  vs.  $60 \pm 10.2 \text{ cm}^{-2}$  (tabla 2).

La relación inversa entre fertilidad y viabilidad observada entre las poblaciones no se puede atribuir a diferentes estados de madurez reproductiva, ya que en las plantas de *G. pacifica* de ambas poblaciones se observaron cicatrices bien definidas que indican que sus tetrasporas fueron liberadas al mismo tiempo y es en este periodo del año cuando se presenta la mayor proporción de fases tetraspóricas (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993).

En el presente estudio, solamente en la estación con sustrato rocoso (E2) se detectó fijación y crecimiento *in situ* de tetrasporas ( $3 \pm 0.6 \text{ cm}^{-2}$ ) de ambas estaciones sobre las placas de concreto (tabla 2). Se podría pensar que la falta de un sustrato duro o la carencia de viabilidad de las esporas provocó que no se observara crecimiento de esporas en la estación E1. Sin embargo, placas con esporas de la E1 germinaron tanto en tanques de cultivo como en la estación E2. Los trasplantes entre estaciones confirmaron que las tetrasporas de la estación E1 (sustrato fangoarenoso) fueron viables, ya que se desarrollaron ( $1.3 \pm 0.7 \text{ cm}^{-2}$ ) cuando se trasplantaron sobre las placas de concreto a la estación E2 (sustrato rocoso, tabla 2). También germinaron las tetrasporas provenientes del sustrato fangoarenoso sobre los sustratos artificiales que se dejaron en los tanques de cultivo ( $1.8 \pm 0.4 \text{ cm}^{-2}$ ). Estos resultados descartan la posibilidad de que la ausencia de un sustrato duro o la carencia de viabilidad de las esporas sean señalados como factores que no permiten la fijación de tetrasporas, como es el caso de otras especies de *Gracilaria* (Romoy Alveal, 1979; Romo *et al.*, 1979; Dellarossa *et al.*, 1980; Ramírez *et al.*, 1981).

Aun cuando las tetrasporas de la estación E2 (sustrato duro) crecieron *in situ* ( $3 \pm 0.6 \text{ cm}^{-2}$ ), en los tanques de cultivo ( $3.3 \pm 0.6 \text{ cm}^{-2}$ , tabla 2) y bajo condiciones controladas (3%, tabla 1), al ser trasplantadas sobre placas de concreto a la estación E1

scars were observed in the *G. pacifica* plants from both populations, which indicate that tetraspores were released at the same time, and it is at this time of year when the highest proportion of tetrasporic phases occur (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993).

In this study, settlement and growth *in situ* of tetraspores ( $3 \pm 0.6 \text{ cm}^{-2}$ ) from both stations on the concrete slabs were observed only at station E2, with rocky substrate (table 2). It could be thought that the absence of a hard substrate or the lack of viability of the spores were the reason why no growth of spores was observed at station E1. However, spores from E1 attached to slabs germinated in both the culture tanks and at station E2. The transplants between stations confirm that the tetrasporas from station E1 (mud-sand substrate) were viable, since they developed ( $1.3 \pm 0.7 \text{ cm}^{-2}$ ) when they were transplanted on the concrete slabs to station E2 (rocky substrate; table 2). Germination of the tetrasporas from the mud-sand substrate was also observed on the artificial substrates that were left in the culture tanks ( $1.8 \pm 0.4 \text{ cm}^{-2}$ ). These results rule out the possibility that the absence of a hard substrate or lack of viability of the spores be considered factors that do not allow the attachment of tetrasporas, as is the case in other species of *Gracilaria* (Romo and Alveal, 1979; Romo *et al.*, 1979; Dellarossa *et al.*, 1980; Ramírez *et al.*, 1981).

Though the tetrasporas from station E2 (hard substrate) grew *in situ* ( $3 \pm 0.6 \text{ cm}^{-2}$ ), in the culture tanks ( $3.3 \pm 0.6 \text{ cm}^{-2}$ , table 2) and under controlled conditions (3%, table 1), they did not develop when they were transplanted on concrete slabs to station E1 (soft substrate; table 2). It is therefore inferred that in the mud-sand environment the population is maintained by fragmentation or vegetative reproduction, as occurs with some populations of *Gracilaria* in Chile (Dellarossa *et al.*, 1980), and that the lack of a hard (rocky) substrate or the viability of the tetrasporas are not responsible for the absence of cystocarpic plants in the *G. pacifica* beds growing on a soft mud-sand substrate, in Estero de Punta Banda.

Though the viability of the tetrasporas under controlled conditions was low for both populations (<7%), the tetrasporas from station E1 showed significantly higher viability than those from station E2 (table 1) ( $F = 5.30$ ;  $P \leq 0.05$ ).

(fangoarenosa) no se desarrollaron (tabla 2). Esto permite inferir que en el ambiente fangoarenoso la población se mantiene por fragmentación o reproducción vegetativa, como sucede con algunas poblaciones de *Gracilaria* en Chile (Dellarossa *et al.*, 1980), y que no es la falta de un sustrato duro (rocoso) ni la viabilidad de las tetrasporas, lo que provoca la ausencia de plantas cistocárpicas en las praderas de *G. pacifica* que se desarrollan sobre un sustrato blando fangoarenoso, en el Estero de Punta Banda.

A pesar de que la viabilidad de las tetrasporas bajo condiciones controladas fue baja para ambas poblaciones (< de 7 %), las tetrasporas de la estación E1 mostraron significativamente mayor viabilidad que las de la estación E2 (tabla 1) ( $F = 5.30$ ;  $P \leq 0.05$ ).

Factores ambientales, como luz, temperatura y nutrientes, pueden intervenir para que varíe la fertilidad de un misma especie (Santelices, 1990). Las dos poblaciones consideradas en este estudio crecen en ambientes diferentes con respecto a disponibilidad de nutrientes, salinidad y dinámica (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993).

Estos resultados indican la posibilidad de que otros factores ambientales bióticos, como el "pastoreo", y abióticos, como la acción abrasiva de las partículas en suspensión, el hundimiento de las estructuras reproductoras en el limo o incluso algunas variaciones hidrológicas (salinidad, temperatura, pH, etc.), sean los determinantes de que las plantas cistocárpicas estén ausentes en praderas de *G. pacifica* sobre un sustrato fangoarenoso, en el Estero de Punta Banda.

## REFERENCIAS

- Aguilar-Rosas, R., Marcos-Ramírez, R., Lobo-Miembro, J.M. y Zertuche-González, J.A. (1993). Variación estacional de fases reproductoras y vegetativas de *Gracilaria pacifica* Abbott, en el Estero de Punta Banda, Baja California, México. *Ciencias Marinas*, 19(2): 219-228.
- Bird, C.J., Edelstein, T. and McLachlan, J. (1977). Studies on *Gracilaria*. Experimental observations on growth and reproduction in Pomquet Harbour, Nova Scotia. *Nat. Can.*, 104: 245-255.
- Bird, C.J., van der Meer, J.P. and McLachlan, J. (1982). A comment on *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophyta: Gigartinales). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 62: 453-459.
- Bird, N. (1976). Studies on *Gracilaria*: ecology of an attached population of *Gracilaria* sp. at Barrachois Harbour, Colchester Co. N.S. *Proc. N.S. Inst. Sci.*, 27: 144-158.
- Bird, N., McLachlan, J. and Grund, D. (1977). Studies on *Gracilaria*. 5. *In vitro* life history of *Gracilaria* sp. from the Maritime Provinces. *Can. J. Bot.*, 55: 1282-1290.
- Bold, C.H. and Wynne, M.J. (1978). *Introduction to the Algae Structure and Reproduction*. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 706 pp.
- Chennubhotla, V.S.K., Kaliaperumal, N., Ramaligam, J.R. and Kalimuthu, S. (1973). Growth, reproduction and spore output in *Gracilaria foliifera* (Forsskal) Boergesen and *Gracilaria sjostedtii* (Kylin) Dawson around Mandapan. *Indian J. Fish.*, 20: 76-84.
- Dellarossa, V., Romo, H. y Alveal, K. (1980). Avances en el conocimiento ecológico de *Gracilaria verrucosa* en el área de Concepción, Chile. *Bol. Inst. Oceanogr. S. Paulo*, 29(2): 149-155.
- DeWreede, R. and Klinger, T. (1988). Reproductive strategies in algae. In: J. Lovett-Doust and Lovett-Doust (eds.),

English translation by Christine Harris.

- Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies.** Oxford University Press, Oxford, pp. 267-284.
- Dixon, P.S. (1973). **Biology of the Rhodophyta.** Hafner Press, New York, 285 pp.
- Guillard, R.R.L. (1973). Division rates. In: J.R. Stein (ed.), **Handbook of Phycological Methods, Culture Methods & Growth Measurements.** Cambridge University Press, pp. 289-320.
- Lindsay, J.G. and Saunders, R.G. (1977). Growth and enhancement of agarophyte *Gracilaria* 1976-77. British Columbia Marine Resources Branch, **Fisheries Management Report**, No. 8, 88 pp.
- McLachlan, J. and Edelstein, T. (1977). Life-history and culture of *Gracilaria foliifera* (Rhodophyta) from South Devon. **J. Mar. Biol. Ass. U.K.**, 57: 577-589.
- Ogata, E., Matsui, T. and Nakamura, H. (1972). The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) *in vitro*. **Phycologia**, 11: 75-80.
- Parry, D.G. (1981). The meanings of r- and k-selection. **Oecología**, 48: 260-264.
- Pianka, E.R. (1970). On r- and k-selection. **Am. Nat.**, 104: 592-597.
- Ramírez, C., Rivera, P. y Contreras, D. (1981). Prospección de *Gracilaria verrucosa* en la Bahía de Corral y Ensenada de San Juan (Valdivia, Chile). **Rev. Biol. Mar. Inst. Oceanol. Univ. Valparaíso**, 17(3): 389-404.
- Reed, D.C., Neushul, M. and Ebeling, A.W. (1991). Role of settlement density on gametophyte growth and reproduction in the kelps *Pterygophora californica* and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae). **J. Phycol.**, 27: 361-366.
- Romo, H.D. y Alveal, K. (1979). Estudios poblacionales en la pradera de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss de Isla de los Reyes, Bahía de Concepción. **Cienc. y Tec. del Mar, CONA**, 4: 15-26.
- Romo, H., Alveal, K. y Dellarossa, V. (1979). Biología de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss en Chile Central. En: B. Santelices (ed.), **Actas I Symp. Algas Mar. Chilenas.** Subsecretaría de Pesca, Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, pp. 155-163.
- Santelices, B. (1990). Patterns of reproduction. Dispersal and recruitment in seaweeds. **Oceanogr. Mar. Biol. Annv. Rev.**, 28: 176-276.
- Zertuche-González, J.A., García-Esquivel, Z. and Brinkhuis, B.H. (1987). Tank culture of red seaweed *Eucheuma uncinatum* from the Gulf of California. **Ciencias Marinas**, 13(2): 1-18.
- Zar, J.H. 1984. **Biostatistical Analysis.** Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 718 pp.