

ALGUNOS ASPECTOS DE LA APLICACION DE LA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO AL ESTUDIO DE LAS ALGAS CORALLINACEAE (RHODOPHYTA).

por

J. Afonso-Carrillo, M.C. Gil-Rodriguez,

R. Haroun Tabraue y W. Wildpret de la Torre

Departamento de Botánica - Facultad de Biología - Universidad de La Laguna - Islas Canarias.

Résumé

Les algues corallinacées suivantes : *Neogoniolithon hirtum* (Lemoine) Afonso-Carrillo et *Porolithon oligocarpum* (Foslie) Foslie des Iles Canaries, et *Lithophyllum decussatum* (Ellis et Solander) Philippi des Açores sont examinées au microscope électronique à balayage en vue superficielle et sur des sections longitudinales radiales. Les variations de morphologie de la surface sont étudiées. Les caractères utilisés auparavant en microscopie optique pour les diagnoses : structure de la croûte, sinapses secondaires, fusions cellulaires, tricocytes et mégacytes sont observés sur les sections.

Introducción

El talo de las algas de la familia *Corallinaceae* (*Rhodophyta*) está formado por un conjunto de filamentos celulares coalescentes que clásicamente han sido separados en tres estratos. Uno basal, cuyos filamentos discurren paralelos al sustrato (hipotalo), a partir de los cuales se originan otros verticales (peritalo) que terminan en una o varias células (epitalo). Salvo las células epitalianas, la totalidad de la pared de las células está compuesta principalmente por carbonato cálcico en forma de calcita. La pared puede ser esquematizada como una rígida envoltura de carbonato, aproximadamente cilíndrica, con un orificio en cada extremo ocupado por una sinapsis primaria. Por todos estos caracteres estas algas son un material muy interesante para la realización de estudios con el microscopio electrónico de barrido (MEB).

Aunque para observar la disposición del carbonato, Bailey y Bisalputra (1970) y Borowitzka *et al.* (1974) fueron los primeros en aplicar el MEB al estudio de las coralináceas, la aplicación sistemática de esta técnica es muy reciente. El estudio de las superficies de los talos la inicia Garbary (1978) quien destaca caracteres que pueden ser usados con criterios taxonómicos, posteriormente ampliados con otras obser-

vaciones: Garbary y Scagel (1979), Garbary y Veitkamp (1980), Garbary *et al.* (1981), Garbary y Johansen (1982). Por otra parte, Woelkerling (1978, 1980, 1983a, 1983b) y Turner y Woelkerling (1982a y 1982b), utilizan el MEB para poner de manifiesto la morfología y el número de poros de los conceptáculos.

Chamberlain (1983) lo aplica de forma extensiva para precisar la morfología de pequeñas coralináceas epífitas.

Los caracteres estructurales y las relaciones intercelulares, junto con los conceptáculos son los principales criterios taxonómicos que se usan actualmente en esta familia. Requieren para su estudio, luego de la descalcificación, la aplicación de técnicas histológicas. El estudio con el MEB de las fracturas longitudinales radiales de los talos incrustantes, el mismo plano usado en las secciones histológicas, permite la observación del carbonato de las paredes celulares, eliminado tradicionalmente con la descalcificación, y constituye un complemento importante a la información previamente obtenida con la microscopía óptica.

Material y método

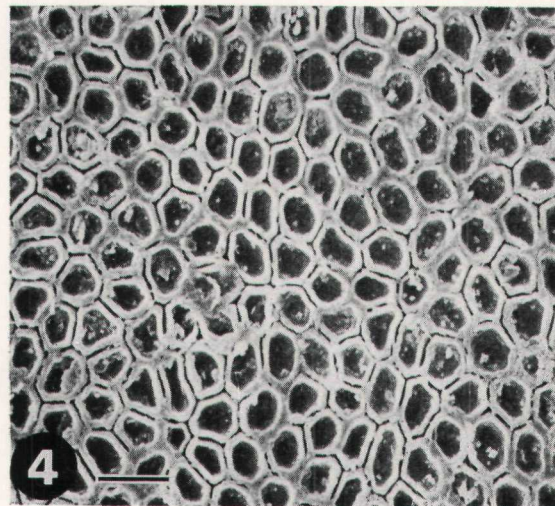
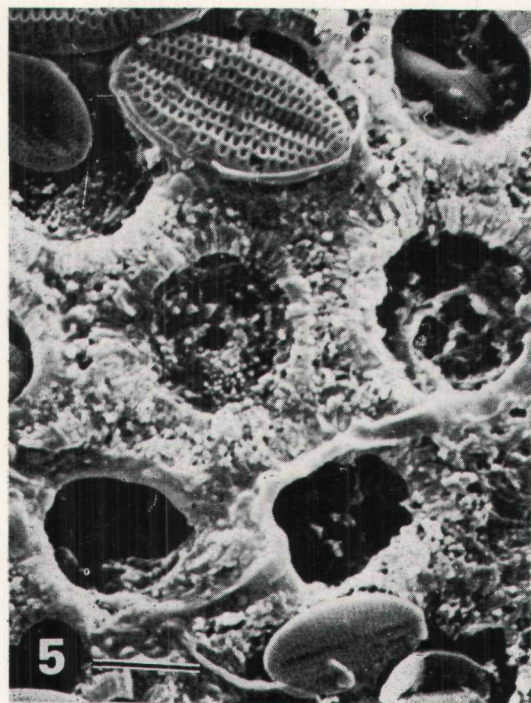
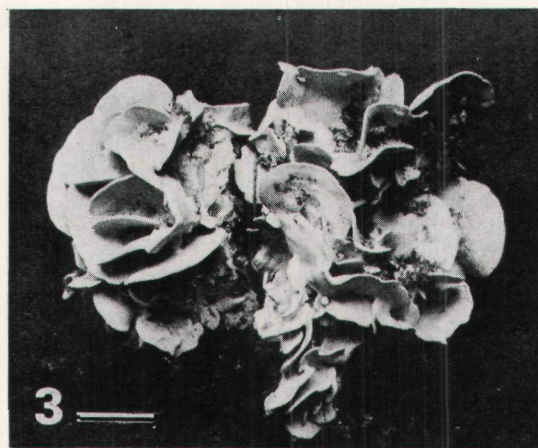
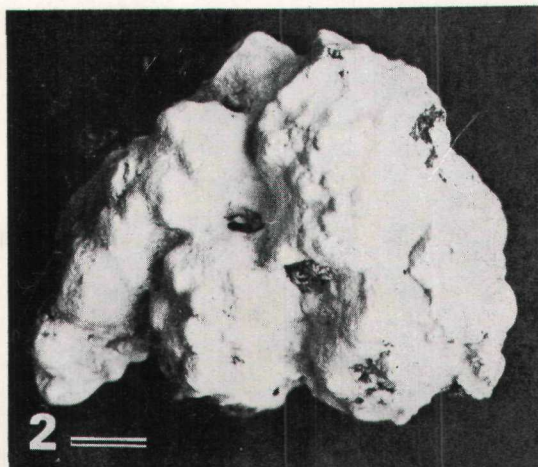
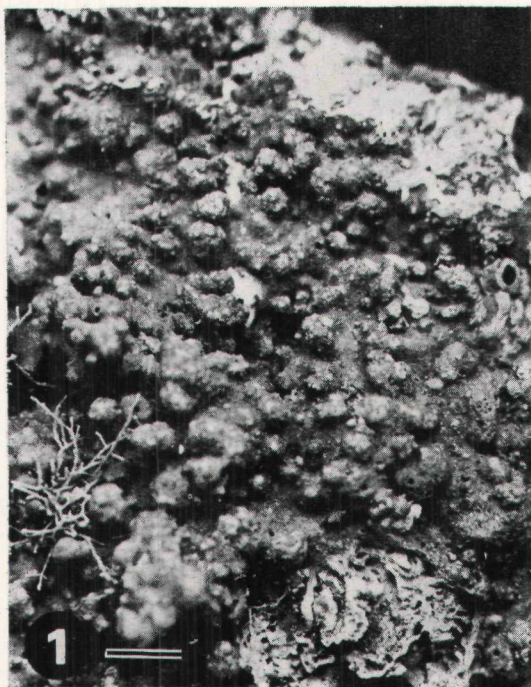
Se estudiaron plantas depositadas en la Phycoteca del Herbario del Departamento de Botánica de la Facultad de Biología de la Universidad de La Laguna (TFC Phyc). *Neogoniolithon hirtum* (Lemoine) Afonso-Carrillo (1984) y *Porolithon oligocarpum* (Foslie) Foslie de las Islas Canarias y *Lythophyllum decussatum* (Ellis et Solander) Philippi de Azores.

La preparación de las coralináceas para el MEB es muy simple. Por presión con un bisturí se obtuvieron fracturas longitudinales radiales que después de lavadas en agua destilada se secaron al aire y se metalizaron en alto vacío con oro-paladio. Las observaciones fueron realizadas en un estereomicroscopio Hitachi S-450.

RESULTADOS

Neogoniolithon hirtum (Lemoine) Afonso-Carrillo (Afonso-Carrillo, 1984)

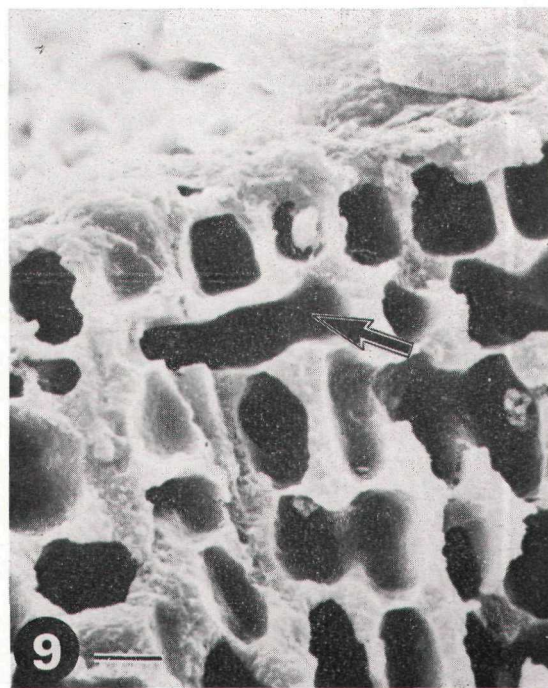
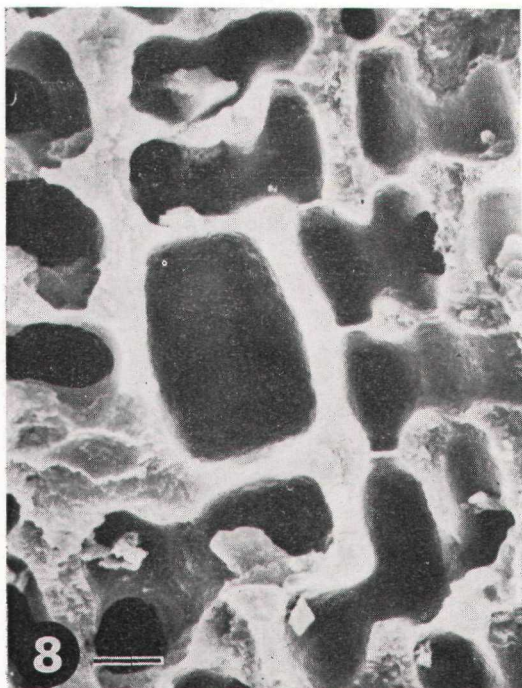
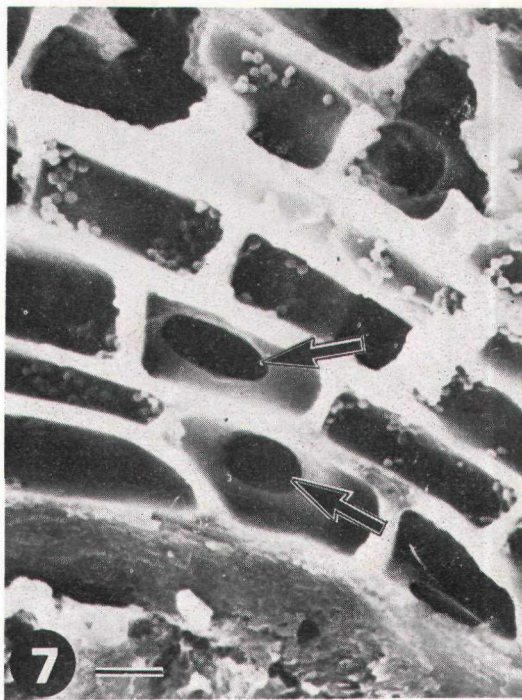
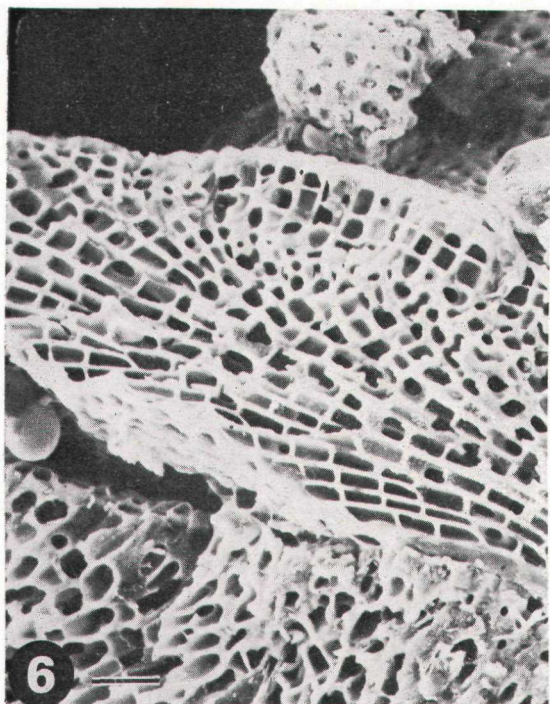
Es una especie incrustante, común en las Islas Canarias, que forma costras delgadas bastante polimorfas sobre las rocas, con características papilas aplastadas y pequeñas proyecciones en forma de espina (Fig. 1). Con el MEB la superficie del talo aparece ocupada por pequeñas concavidades circulares o irregulares (originadas por la pérdida de las células epitalianas durante la manipulación), cuyas paredes dejan hendiduras entre sí (Fig. 4). Las fracturas permiten observar la estructura de la costra (Fig. 6). Se distingue así, en la región basal (Fig. 7) una serie de estratos de cavidades celulares



J. AFONSO-CARRILLO, M.C. GIL-RÓDRIGUEZ, R. HAROUN TABRAUE Y W. WILDPRET DE LA TORRE

LAMINA I

1. — Morfología de *Neogoniolithon hirtum* (escala = 0,5 cm). 2. — Idem de *Porolithon oligocarpum* (escala = 1 cm). 3. — Idem de *Lithophyllum decussatum* (escala = 1 cm). 4. — Micrografía de microscopio electrónico de barrido de la superficie del tale de *N. hirtum* (escala = 10 μ m). 5. — Idem de *L. decussatum* (escala = 5 μ m).



J. APOUNO-CARRILLO, M.C. GIL-RODRIGUEZ, R. HAROUN TABRAUE Y W. WILDPRET DE LA TORRE

LAMINA II

Micrografías de microscopio electrónico de barrido con diferentes aspectos de la estructura de fracturas longitudinales radiales de *Neogoniolithon hirtum*. 6. — Aspecto general de la estructura de una costra joven (escala = 25 μ m). 7. — Detalle del hipotalo con grandes perforaciones en las paredes (flechas): fusiones celulares (escala = 5 μ m). 8. — Detalle del peritalo con la gran cavidad de un megacito (escala = 5 μ m). 9. — Detalle de la porción terminal del peritalo con una gran fusión (flecha) formada bajo la cavidad de las células iniciales peritalianas (escala = 5 μ m).

subcilíndricas dispuestas paralelas al sustrato (hipotalo pluriestratificado). Las paredes de las cavidades presentan dos tipos de perforaciones que conectan entre sí cavidades vecinas. Unas muy pequeñas, localizadas exclusivamente en las bases de las cavidades (perforaciones de sinapsis primarias) que mantienen conectadas todas las cavidades de un estrato (filamento hipotaliano), y otras de gran tamaño, circulares o elípticas, situadas en las paredes laterales (perforaciones de las fusiones celulares). Por encima de estos estratos basales se disponen cavidades más pequeñas dispuestas verticalmente al sustrato (peritalo). Son morfológicamente muy variables, entre subesféricas y subcilíndricas, separadas lateralmente por gruesas paredes (Fig. 8), frecuentemente reabsorbidas (fusiones celulares), mientras que las tabicaciones horizontales son muy delgadas, portan una pequeña perforación (de la sinapsis primaria) y conectan entre sí una hilera vertical de cavidades (filamento peritaliano). Ocasionalmente se observan grandes cavidades (Fig. 8), aisladas o en grupos verticales, que pueden corresponder a megacitos (Cabioc, 1971) característicos de muchos *Neogoniolithon*. Las paredes celulares reabsorbidas (fusiones celulares) aparecen precozmente y afectan a las cavidades situadas en el tercer estrato superficial (el primero corresponde a las células epitalianas y el segundo a las células iniciales peritalianas) y de este modo resultan ampliamente intercomunicadas hasta cinco cavidades en este nivel (Fig. 9).

Porolithon oligocarpum (Foslie) Foslie

Es posiblemente la coralinácea incrustante más frecuente en Canarias. Forma grandes costras de color beige, de 1-2 mm de grosor, con la superficie lisa o con numerosas crestas o protuberancias (Fig. 2). La superficie de la costra al MEB aparece irregular por el elevado grosor de la 'cutícula', pero permite observar en ciertos puntos pequeñas concavidades circulares o irregulares, similares a las observadas en *N. hirtum*, pero sin hendiduras en el carbonato cálcico de separación entre cavidades. Con frecuencia se distinguen superficies aproximadamente circulares, carentes de 'cutícula', y en las que el fondo de las pequeñas concavidades presenta un grueso orificio rodeado por una matriz circular de carbonato (Fig. 10). Estos orificios pueden corresponder a los tricocitos, cuya disposición en estratos circulares es característica del género *Porolithon*. En las fracturas se observa la estructura. Un pequeño número de estratos, constituido por cavidades subcilíndricas paralelas al sustrato, entre las que son comunes las interconexiones laterales de las fusiones celulares, constituye el hipotalo (Fig. 11). El peritalo está muy desarrollado y es la parte dominante de la costra. Está formado por pequeñas cavidades con gruesas paredes laterales, con frecuencia reabsorbidas e intercomunicando un cierto número de cavidades (Fig. 12), mientras que son muy delgadas las paredes de separación horizontales que portan la perforación de la sinapsis primaria. Es común encontrar estratos horizontales de cavidades de gran tamaño (Fig. 13) que con seguridad corresponden a los megacitos que caracterizan la estructura de los talos asexuales de *Porolithon*,

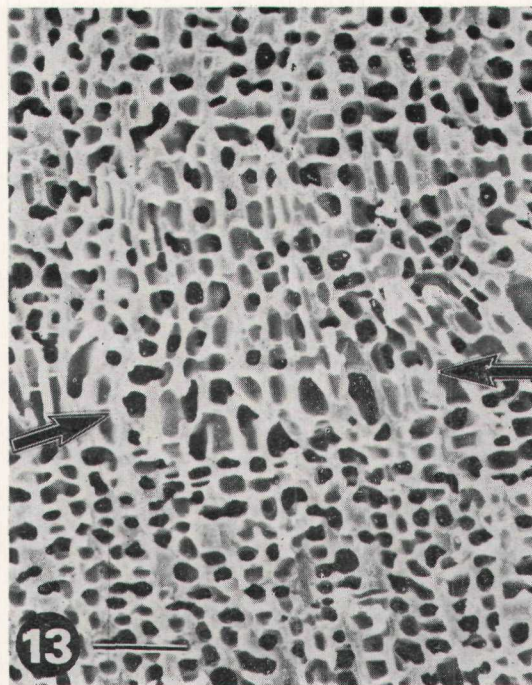
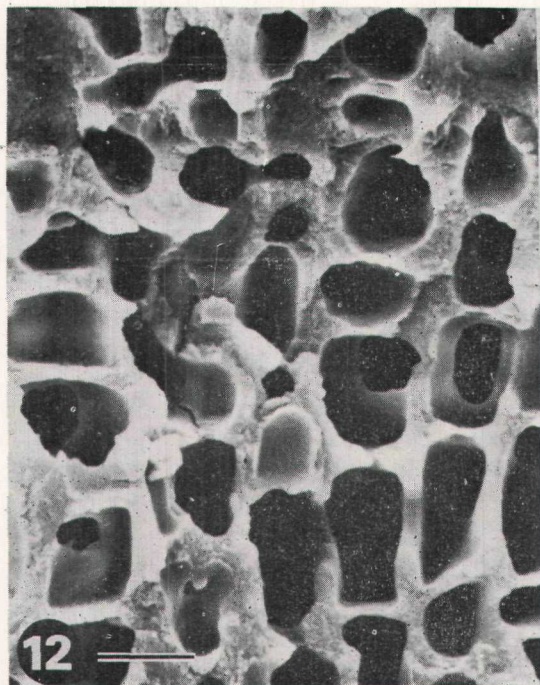
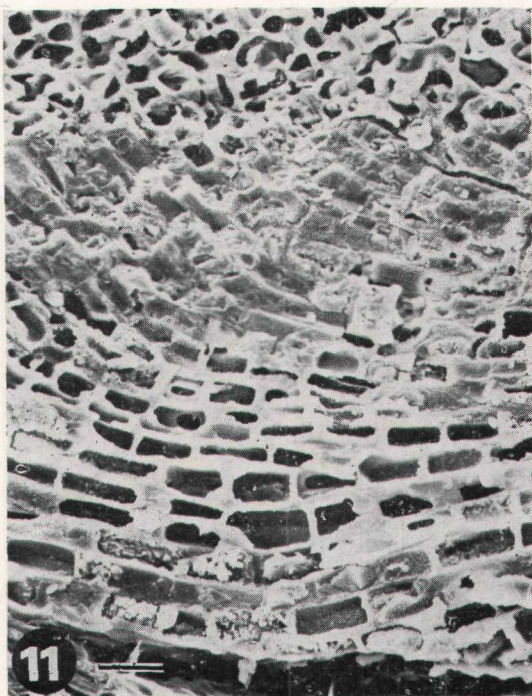
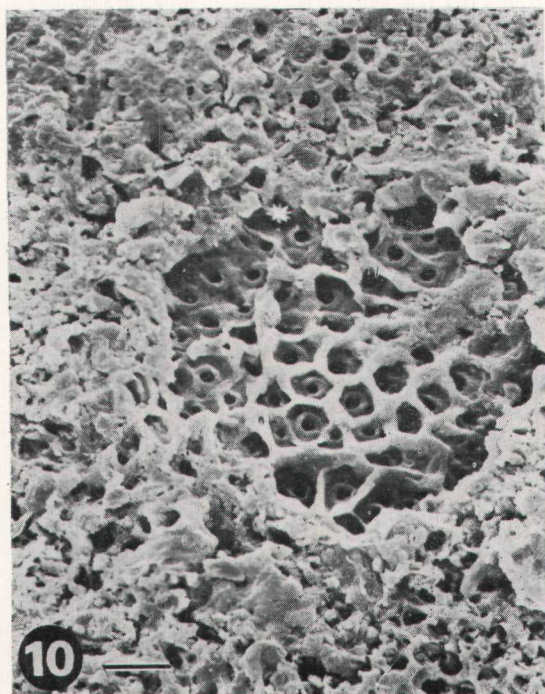
Lithophyllum decussatum (Ellis et Solander) Philippi

El talo de esta bella especie está formado por una costra basai de la que se originan laminillas verticales delgadas que con frecuencia se anastomosan y delimitan alveolos (Fig. 3). La superficie de la costra al MEB muestra las concavidades epitalianas rodeadas por rosetas circulares de carbonato (Fig. 5). En el estudio de las fracturas se observa que existen claras diferencias entre la estructura de la costra y la de las laminillas verticales. En la costra basal (Fig. 14) se distinguen varios estratos paralelos al sustrato (falso hipotalo?) con cavidades celulares cilindricas con dimensiones aproximadamente similares, separadas por delgadas paredes, más o menos ordenadas de forma concéntrica. Las perforaciones presentes son todas puntuales y pequeñas. Unas aparecen en las bases (orificios de las sinapsis primarias) y otras son laterales (orificios de las sinapsis secundarias). En las cavidades dispuestas verticalmente (peritalo) se distingue una porción inferior ocupada por cavidades celulares cilindricas ordenadamente dispuestas en estratos, mientras que las superiores son morfológicamente irregulares y están desordenadas. Las paredes celulares son muy gruesas y están puntualmente perforadas por pequeños orificios que corresponden a las sinapsis secundarias. En los estratos superficiales se pueden distinguir las cavidades de las células iniciales peritalianas, que portan a las células epitalianas (epitalo pluriestratificado) que también presentan perforaciones sinápticas secundarias (Fig. 15). La estructura de las laminillas se caracteriza por un hipotalo (?) central, similar al de la costra, con peritalo a ambos lados (Fig. 16). La estructura del peritalo y epitalo no parece diferir de la de la costra (Fig. 17).

DISCUSION

La aplicación del MEB al estudio de las coralináceas pone en evidencia una serie de caracteres que no pueden ser observados con las técnicas histológicas tradicionales. Basándose en características propias de la superficie de los talos Garbary (1978) distingue tres tipos fundamentales de micromorfología superficial. Dos de estos tipos parecen estar ligados a epitalos situados directamente sobre hipotalos, mientras que el tercero, con un total de cuatro variantes, parece corresponder a los epitalos dispuestos sobre peritalos. En las muestras que hemos estudiado hemos distinguido tres de las cuatro variantes descritas por Garbary.

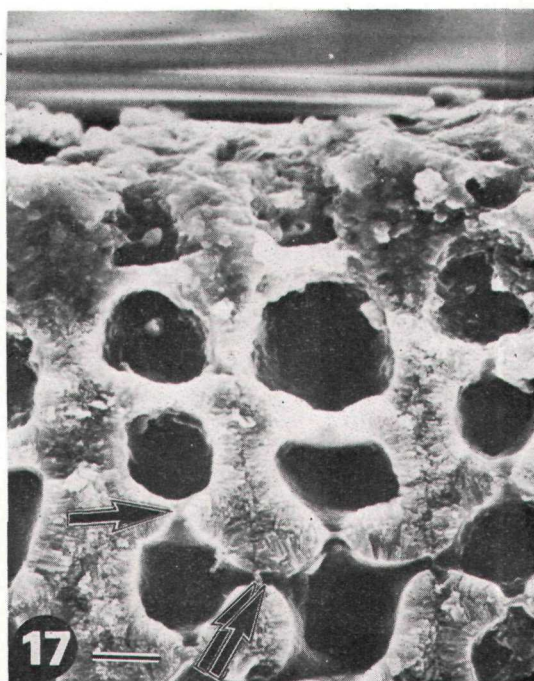
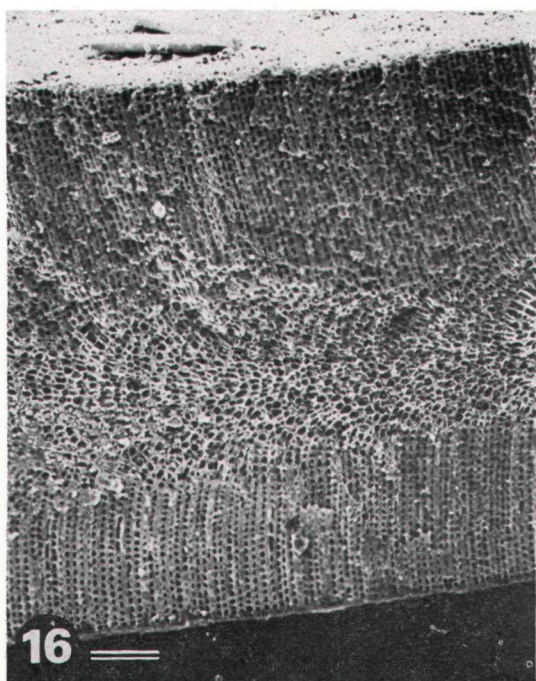
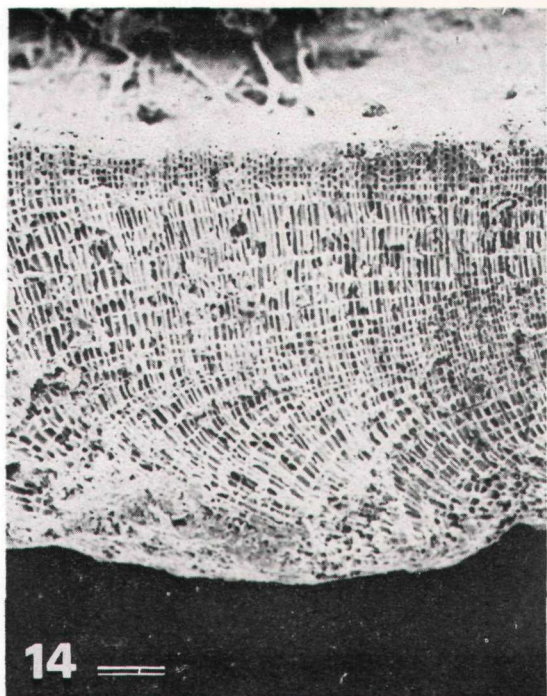
La micromorfología superficial, con hendiduras separando las paredes de células vecinas, como sucede en *Neogoniolithon hirtum* (Fig. 4), es posible que esté ligada a las superficies de talos con crecimiento activo, puesto que parece lógico suponer que las hendiduras corresponden a aquellos puntos que por su lejanía sufren una calcificación más tardía. La superficie de *Porolithon oligocarpum* (Fig. 10), sin hendiduras y con una gruesa 'cutícula', puede corres-



J. AFOONSO-CARRILLO, M.C. GIL-RODRIGUEZ, R. HAROUN TABRAUE Y W. WILDPRET DE LA TORRE

LAMINA III

Micrografías de microscopio electrónico de barrido de *Porolithon oligocarpum*. 10. — Superficie de la costra con un área circular en la que se observan los pequeños poros de los tricocitos (escala = 20 μ m). 11-13. — Fracturas longitudinales radiales. 11. — Detalle del hipotalo con perforaciones de fusiones celulares (escala = 20 μ m). 12. — Detalle del peritalo con numerosas perforaciones de fusiones celulares (escala = 10 μ m). 13. — Porción del peritalo con megacistos (flechas) dispuestos en hileras horizontales (escala = 30 μ m).



J. AFONSO-CARRILLO, M.C. GIL-RODRIGUEZ, R. HAROUN TABRAUE Y W. WILDPRET DE LA TORRE

LAMINA IV

Micrografías de microscopio electrónico de barrido con diferentes aspectos de la estructura de fracturas longitudinales radiales de *Lithophyllum decussatum*. 14. — Aspecto general de la estructura de la costra (escala = 100 μ m). 15. — Detalle de las células superficiales de la costra donde se distinguen las células iniciales peritalianas y algunas epitalianas con sinapsis secundarias (sinapsis primaria flecha simple; sinapsis secundaria flecha doble) (escala = 4 μ m). 16. — Aspecto general de la estructura de las laminillas (escala = 100 μ m). 17. — Detalle de las células superficiales de las laminillas (sinapsis primaria flecha simple; sinapsis secundaria flecha doble) (escala = 5 μ m).

ponderarse con un crecimiento más ralentizado. La presencia de superficies con hendiduras en los conceptáculos, mientras que las partes vegetativas carecen de ellas, como encontraron Garbary y Veltkamp (1980) en *Mesophyllum lichenoides*, parece apoyar esta idea.

Por último, el tipo de superficie de *Lithophyllum decussatum* (Fig. 5) ha sido descrito previamente en otras especies de *Lithophyllum* (BoVowitzka, *et al.*, 1974; Garbary, 1978) y en *Clathromorphum* (Garbary y Scagel, 1979), y parece estar ligado a los grandes epitalos pluriestratificados característicos de estos géneros (Cabiocch, 1972; Cardinal *et al.*, 1978), que en los cortes histológicos aparecen como cortos filamentos laxamente dispuestos.

Las fracturas de los talos permiten la observación de todos los caracteres ligados a la pared celular calcificada. La presencia de las sinapsis primarias, una en cada extremo de la cavidad celular, nos permite precisar el ordenamiento de las células en los filamentos. Sin embargo, aparte de estas conexiones originadas por la tabicación incompleta durante la división celular, la pared celular, a pesar de su rigidez, puede sufrir ciertas modificaciones que conducen a la creación de puentes de unión entre células de filas próximas. Estas conexiones de gran interés para la sistemática de la familia, son de dos tipos : fusiones celulares y sinapsis secundarias.

Tanto *Neogoniolithon hirtum* como *Porolithon oligocarpum* pueden ser caracterizados por la rapidez con que se reabsorben las paredes celulares laterales para producir grandes fusiones celulares (Figs 9, 12 y 13). Esta rapidez, que ya había sido señalada por Cabiocch (1971) con microscopía óptica, puede afectar a las células situadas exactamente debajo de las células iniciales peritalianas (Fig. 9). La rapidez de este fenómeno impide detallar diferentes fases en el proceso. La presencia de megacitos también puede ser detectada en las fracturas de estas especies (Figs 8 y 13) y salvo en su tamaño, los caracteres de la pared no parecen diferir del resto de las células.

Lithophyllum decussatum exhibe el otro tipo de conexión intercelular, las sinapsis secundarias (Fig. 17). Mucho más precoces que las fusiones, afectan no solo a las células iniciales peritalianas, sino también a las células epitalianas más jóvenes (Fig. 15), que también están calcificadas.

La observación con el MEB de las fracturas del talo de corallíneas pone de relieve que a pesar de la rígida envuelta con que las células son formadas, los rápidos procesos de reabsorción de la pared que conducen a la formación de las fusiones celulares y de las sinapsis secundarias establecen un elevado número de conexiones secundarias, que posiblemente permiten disminuir la importante barrera que la calcificación supone con el exterior.

Por otra parte, el hecho de que en las fracturas puedan ser reconocidos todos los caracteres vegetativos utilizados para la taxonomía, abre una nueva posibilidad al estudio de estas algas.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a Antonio Padrón por su asistencia técnica en el microscopio electrónico.

Resumen

Se estudian con el microscopio electrónico de barrido las superficies y secciones longitudinales radiales de las coralináceas : *Neogoniolithon hirtum* (Lemoine) Afonso-Carrillo y *Porolithon oligocarpum* (Foslie) Foslie de las Islas Canarias, y *Lithophyllum decussatum* (Ellis et Solander) Philippi de Azores. Se discuten las diferencias de la morfología superficial. Se observan en sección caracteres usados previamente en microscopía óptica para las diagnosis : estructura de la costra, sinapsis secundarias, fusiones celulares, tricocitos y megacélulas.

Abstract

Surface characters and longitudinal sections of the following coralline algae : *Neogoniolithon hirtum* (Lemoine) Afonso-Carrillo and *Porolithon oligocarpum* (Foslie) Foslie from the Canary Islands, and *Lithophyllum decussatum* (Ellis et Solander) Philippi from the Azores, were examined with the scanning electron microscope. The variations in surface morphology are discussed. Characters observed previously under the optimal microscope and used for diagnostic purposes (crust structure, secondary pit-connections, cell fusions, trichocytes and megacells) were observed in sections*.

BIBLIOGRAFIA

- AFONSO-CARRILLO, J., 1984. — Estudios en las algas Corallinaceae (Rhodophyta) de las Islas Canarias. II. Notas taxonomicas. *Vieraea*, 13, pp. 127-144.
- BAILEY, A. and BISALPUTRA, T., 1970. — A preliminary account of the application on thin sectioning, freeze — etching and scanning electron microscopy to the study of Coralline algae. *Phycologia*, 9, pp. 83-101.
- BOROWITZKA, M.A., LARKUM, A.W.D. and NOCKOLDS, C.E., 1974. — A scanning electron microscope study of the structure and organization of the calcium carbonate deposits of algae. *Phycologia*, 13, pp. 195-203.
- CABIOCH, J., 1971. — Etude sur les Corallinacées. I. Caractères généraux de la cytologie. *Cah. Biol. Mar.*, 12, pp. 121-186.
- 1972. — Etude sur les Corallinacées. II. La morphogenèse : conséquences systématiques et phylogénétiques. *Cah. Biol. Mar.*, 13, pp. 137-287.
- CARDINAL, A., CABIOCH, J. et GENDRON, L., 1978. — Les Corallinacées (Rhodophyta, Cryptonemiales) des côtes du Québec. 1. *Clathromorphum* Foslie. *Cah. Biol. Mar.*, 19, pp. 175-187.
- CHAMBERLAIN, V.M., 1983. — Studies in the *Corallinaceae* with special reference to *Fosliella* and *Pneophyllum* in the British Isles. *Bull. Br. Mus. nat. Hist. (Bot.)* 11 (4), pp. 291-463.
- GARBARY, D.J., 1978. — An introduction to the scanning electron microscopy of red algae. In : D.E.G. Irvine and J.H. (eds.), *Modern approaches to the taxonomy of red and brown algae*. Academic Press, London, pp. 205-222.
- GARBARY, D. and JOHANSEN H.W., 1982. — Scanning electron microscopy of *Corallina* and *Haliptilon* (*Corallinaceae*, *Rhodophyta*) : surface features and their taxonomic implications. *J. Phycol.*, 18, pp. 211-219.
- GARBARY, D., JOHANSEN, H.W. and SCAGEL, R.F., 1981. — Aspects of the morphology, ultra structure and distribution of two species of *Yamadea* Segawa (*Corallinaceae*, *Rhodophyta*). *Jap. J. Phycol.*, 29, pp. 7-13.
- GARBARY, D. and SCAGEL, R.F., 1979. — Scanning electron microscopy of *Clathromorphum* spp. (*Corallinaceae*, *Rhodophyta*). *Proc. Micr. Soc. Canada*, 6, pp. 14-15.
- GARBARY, D. and VELTKAMP, C.J., 1980. — Observations on *Mesophyllum lichenoides* (*Corallinaceae*, *Rhodophyta*) with the scanning electron microscope. *Phycologia*, 19, pp. 49-53.
- TURNER, J.A. and WOELKERLING, J., 1982a. — Studies on the *Mastophora* — *Lithoporella* complex (*Corallinaceae*, *Rhodophyta*). I. Meristems and thallus structure and development. *Phycologia*, 21, pp. 201-217,

- TURNER, J.A. and WOELKERLING, j., 1982b. — Studies on the *Mastophora* — *Lithoporella* complex (Corallinaceae, Rhodophyta). II. Reproduction and generic concepts. *Phycologia*, 21, pp. 218-235.
- WOELKERLING, w.j., 1978. — *Mastophoropsis canaliculata* (Harvey in Hooker) gen. et comb. nov. (Corallinaceae, Rhodophyta) in Southern Australia. *Br. Phycol. J.*, 13, pp. 209-225.
- 1980. — Studies on *Metamastophora* (Corallinaceae, Rhodophyta). I. *M. flabellata* (Sonder) Setchell: morphology and anatomy. *Br. Phycol. J.*, 15, pp. 201-225.
- 1983a. — A taxonomic reassessment of *Lithothamnium* (Corallinaceae, Rhodophyta), based on studies of R.A. Philippi's original collections. *Br. Phycol. J.*, 18, pp. 165-197.
- 1983b. — A taxonomic reassessment of *Lithophyllum* (Corallinaceae, Rhodophyta) based on studies on R.A. Philippi's original collections. *B. Phycol. J.*, 18, pp. 299-328.