

T  
528

90898

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

---

UNIDAD IZTAPALAPA  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



Casa abierta al tiempo

Fenología, nutrientes limitantes y agar de dos especies  
de *Gracilaria* (Rhodophyta) del Caribe Mexicano

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
P R E S E N T A

M. EN C. JULIO ESPINOZA AVALOS

DIRECTORES DE TESIS:  
DRA. MARÍA ESTHER ANGÉLICA MEAVE DEL CASTILLO  
DR. JOSÉ ANTONIO ZERTUCHE GONZÁLEZ  
ASESORA:  
DRA. MARGARITA ELIZABETH GALLEGOS MARTÍNEZ

México, D. F.

Diciembre de 2004

El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana

Pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT

y cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP– 20-93

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud

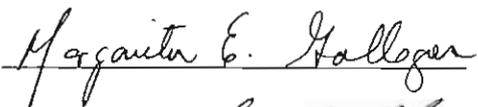
De las Unidades Iztapalapa y Xochimilco

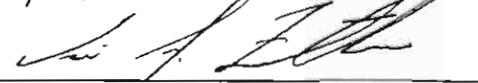
Aprobó la tesis que presentó

Julio Espinoza Avalos

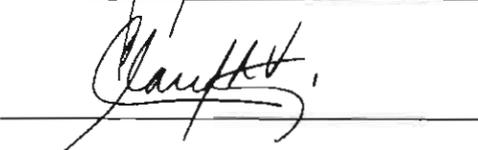
El día 13 de diciembre de 2004

Sinodales:

Dra. Margarita Elizabeth Gallegos Martínez (Presidenta) 

Dr. José Antonio Zertuche González (Secretario) 

Dra. María Esther Angélica Meave del Castillo (Vocal) 

Dra. Dení Claudia Rodríguez Vargas (Vocal) 

Dra. Hilda Patricia León Tejera (Vocal) 

## **COMITÉ TUTORIAL**

### **DIRECTORES DE TESIS:**

#### **Dra. María Esther Angélica Meave del Castillo**

Profesor Titular "C", Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa  
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I

#### **Dr. José Antonio Zertuche González**

Investigador Titular "C", Universidad Autónoma de Baja California  
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II

### **ASESORA:**

#### **Dra. Margarita Elizabeth Gallegos Martínez**

Profesor Titular "C", Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa  
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I

### **SINODALES:**

#### **Dra. Dení Claudia Rodríguez Vargas**

Profesor Titular "A", Universidad Nacional Autónoma de México  
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I

#### **Dra. Hilda Patricia León Tejera**

Profesor Asociado "C", Universidad Nacional Autónoma de México  
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I

Para:

Ana María

Imelda

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible concluirlo con la ayuda de amigos y colegas, a los cuales les agradezco infinitamente por haberme alentado y brindado su esfuerzo.

En el trabajo de campo conté con el apoyo incansable de M.A.A. Díaz Martín. Siempre recordaré los muchos momentos alegres que pasamos trabajando juntos. También me ayudaron L.I. Quan-Young, J.M. Gómez Poot, R. Herrera Pavón y varios pescadores, que a través de Raúl Herrera Solís reconozco su labor.

En los análisis de nitrógeno y fósforo del tejido de plantas me ayudó sobremanera Adriana Zavala Mendoza. Adicionalmente recibí el apoyo de Mareny Cortes Santiago.

Para los análisis de agar, Enrique Hernández Garibay fue fundamental para realizarlos, al igual que el aporte valioso de José A. Zertuche González, además del otorgado por I. Pacheco Ruíz, Alberto Gálvez Telles y J.M. Guzmán Calderón.

Para llevar a cabo los experimentos de laboratorio tuve la colaboración de Adriana Zavala Mendoza, L.I. Quan Young, Veled Espinoza Contreras y Edel Espinoza Contreras, a quien recuerdo con cariño caminando presuroso con los frascos de cultivo en las manos.

Los experimentos anteriores los pude realizar en el espacio de laboratorio concedido por Alberto de Jesús Navarrete.

El reconocimiento de las estructuras reproductoras de las dos especies de *Gracilaria* lo pude hacer con la dirección de K. Dreckmann Estay.

De Tomas Camarena Luhrs recibí el apoyo para trabajar en el Parque Marino Nacional Costa Occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc, donde se ubica el sitio de estudio.

---

La construcción del sistema de anclaje, en tres partes, que utilicé en Bajo Pepito, fue posible con la capacidad práctica de Luis M. Rivero García. Luis también construyó la cámara para cultivar en el laboratorio los fragmentos de las dos especies de *Gracilaria*.

Todas las fotografías de campo y de laboratorio fueron obtenidas por Humberto Bahena Basave.

Al personal académico y administrativo de ECOSUR le debo mucho. A lo largo de mi trabajo doctoral recibí de ellos estímulo y aliento diario.

Durante todo mi programa doctoral recibí de la UAM la ayuda y guía administrativa de Violeta Luna Caballero. El Dr. Rubén Román Ramos, de la coordinación del doctorado, me animó para llegar al final de mi programa.

Los integrantes de mi comité, los doctores en ciencia y amigos Ma. Esther Meave del Castillo, José A. Zertuche González y Margarita E. Gallegos Martínez me impulsaron a lo largo de todo mi programa doctoral para que mi trabajo de tesis fuera de la mejor calidad académica posible.

Las recomendaciones de los jurados externos, las doctoras y amigas Dení C. Rodríguez Vargas e Hilda P. León Tejera ayudaron a mejorar sustancialmente la versión final del manuscrito de tesis.

El financiamiento para llevar a cabo el estudio provino del CONACYT, a través del proyecto 0418P-T.

De nuevo, más de mil gracias a todos.

---

## ÍNDICE

---

<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	4
<b>Introducción</b> .....	7
<b>Marco Teórico</b> .....	10
• Aspectos Fenológicos / Ecológicos y Coexistencia	
A). Interespecíficos .....	10
B). Intraespecíficos .....	18
• Nutrientes Limitantes y Coexistencia .....	21
• Relación del Agar con Nutrientes Limitantes y con Aspectos fenológicos y Ecológicos .....	26
<b>Objetivos</b> .....	31
<b>Hipótesis</b> .....	32
<b>Aspectos Taxonómicos de <i>Gracilaria cornea</i> y <i>G. crassissima</i></b> .....	36
<b>Diferencias Fenológicas y Ecológicas, Interespecíficas y por Fase Reproductiva, de Dos Especies Coexistentes de <i>Gracilaria</i> (Rhodophyta) del Caribe Mexicano</b>	
Antecedentes .....	46
Material y Métodos .....	52
Resultados .....	58
Discusión .....	68
<b>Limitación de Fósforo y Nitrógeno en el Crecimiento de Dos Especies Coexistentes de <i>Gracilaria</i> (Rhodophyta) del Caribe Mexicano</b>	
Antecedentes .....	80
Material y Métodos .....	83
Resultados .....	91
Discusión .....	101
<b>Agar de Dos Especies Coexistentes de <i>Gracilaria</i> (Rhodophyta) del Caribe Mexicano</b>	
Antecedentes .....	111
Material y Métodos .....	115
Resultados .....	118
Discusión .....	123

---

---

<b>Conclusión General</b> .....	130
<b>Literatura Citada</b> .....	134
<b>Apéndice 1. Fenología de macroalgas marinas</b> .....	168
<b>Apéndice 2. Agar from Two Coexisting Species of <i>Gracilaria</i> (Gracilariaceae) from the Mexican Caribbean</b> .....	191

---

## RESUMEN

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* son dos macroalgas marinas que coexisten, en ocasiones utilizando como sustrato las mismas rocas de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Esta coexistencia ocurre a pesar de que ambas rodofitas son similares en su morfología y características reproductivas, por lo cual en el pasado se sugirió que la segunda especie era sólo un ecotipo de la primera.

La coexistencia interespecífica se ha explicado para diversos grupos de plantas vasculares, pero el tema no se ha resaltado en macroalgas congénicas. A nivel intraespecífico, la coexistencia se ha estudiado en subespecies de plantas vasculares y en ecotipos y linajes bacterianos, pero no en macroalgas.

En este estudio se propuso que: 1) las diferencias interespecíficas en eventos fenológicos y ecológicos entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* facilitarían su coexistencia, 2) las diferencias de ambas especies en sus fases reproductivas agregaría un elemento para facilitar su coexistencia, 3) el uso diferencial del nitrógeno (N) y fósforo (P) se sumaría a los eventos que facilitarían su coexistencia, y 4) las diferencias fenológicas y ecológicas se reflejarían a su vez en procesos fisiológicos de ambas especies, medidos como el contenido y las características de su agar. De esta manera, se sugiere que las diferencias del agar a nivel interespecífico y por fase reproductiva de *G. cornea* y *G. crassissima* tienen un origen biológico y ecológico, relacionado a mecanismos que favorecen su coexistencia en Bajo Pepito.

Las mediciones fenológicas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* incluyeron la tasa de crecimiento, la talla y el porcentaje de plantas en reproducción; las ecológicas, la biomasa y la densidad de plantas. En cada especie la fase reproductiva carpospórica se separó del resto de

fases y con ello se valoró si existían diferencias entre las fases reproductivas. También se midió la concentración interna de N y P en el tejido de ambas especies colectadas en el campo, además de realizar experimentos en el laboratorio sobre la limitación de su tasa de crecimiento, de acuerdo a diferentes concentraciones de N y P en el agua y en su tejido. Las características del agar que se midieron fueron la dureza de gel y el contenido de 3,6-anhidrogalactosa y sulfatos. Las mediciones en el campo se realizaron mensualmente de febrero de 1997 a enero de 1998.

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* presentaron valores máximos de biomasa desfasados con respecto al tiempo, una en marzo, la otra en junio, respectivamente. Además, presentaron diferencias interespecíficas significativas en cuanto a la tasa de crecimiento, la talla y en algunos aspectos reproductivos. Las dos especies también mostraron diferencias por fase reproductiva en cuanto a su tasa de crecimiento y biomasa.

El contenido de N y P en el tejido de plantas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* colectadas a lo largo de un año fue diferente a nivel interespecífico y por fase reproductiva. Los experimentos de limitación del crecimiento por N y P en el agua mostraron valores mayores de  $\mu_{max}$  y  $k_s$  para *G. cornea* (1.29 % día<sup>-1</sup> y 18.4  $\mu$ M) que para *G. crassissima* (0.45 % día<sup>-1</sup> y 5.1  $\mu$ M). Los mismos experimentos, pero con relación al contenido de elementos en el tejido indicaron que la concentración crítica fue mayor para la primera que para la segunda especie, tanto para N (1.47 % vs. 0.95 %) como para P (0.017 % vs. 0.004 %, respectivamente). La combinación de datos de campo y laboratorio evidenciaron estrategias diferentes en el uso de nutrientes. Por ejemplo, las plantas de *G. cornea* siempre estuvieron limitadas por N y en tres meses (mayo, agosto y noviembre de 1997) por P, mientras que las plantas de *G. crassissima*

estuvieron tres meses (octubre y noviembre de 1997 y enero de 1998) saturadas de N y nunca estuvieron limitadas por P.

La suma de diferencias fenológicas y ecológicas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, tanto interespecíficas como por fase reproductiva, pueden facilitar la coexistencia de las dos especies, a través de sus respuestas diferenciadas ante las mismas condiciones ambientales de Bajo Pepito. La cantidad y todas las características evaluadas del agar de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* fueron diferentes tanto a nivel interespecífico como por fase reproductiva. Tales diferencias en el agar probablemente son resultado de las diferencias fenológicas y ecológicas entre ambas especies, que a la vez permiten su coexistencia en Bajo Pepito.

## ABSTRACT

*Gracilaria cornea* and *G. crassissima* are two marine macroalgae that coexist, sometimes using the same rocks as substrate in Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. This coexistence occurs even though both rhodophytes are similar in morphology and reproductive characteristics. Those similarities were taken in consideration in the past to suggest that the second species was an ecad of the first species.

The interspecific coexistence has been studied for a diverse group of vascular plants, but it has not been highlighted for congeneric macroalgae. At the intraspecific level, the coexistence has been studied between subspecies of vascular plants and between bacterial ecotypes and lineages but not on macroalgae.

In this study it was proposed that: 1) the interespecific differences in phenological and ecological events between *Gracilaria cornea* and *G. crassissima* would facilitate their coexistence, 2) the differences within both species between reproductive phases would add another element that would facilitate their coexistence, 3) the differential use of nitrogen (N) and phosphorus (P) would also be added to the events that facilitate their coexistence, and 4) the phenological and ecological differences in turn could be exhibited in physiological processes of both species, measured here as the content and chemical characteristics of their agar. In this manner, it is suggested that the agar differences at the interspecific and by reproductive phases of the two species have a biological and ecological origin, related to the mechanisms that favour their coexistence in Bajo Pepito. Monthly measurements of the above factors were carried out from February 1997 through January 1998.

The phenological measurements made on *Gracilaria cornea* and *G. crassissima* included growth rate, size and the percentage of reproductive plants while the ecological ones were the biomass and the density of plants. In each species the carposporic phase was segregated from the rest of the reproductive phases in order to assess the existence of differences between reproductive phases within the two species. The tissue concentration of N and P was also quantified from plants of both species collected in the field. In addition, N and P limitation for growth were carried out using laboratory experiments at different concentrations of both nutrients, measured in the water and in the plant tissue. The evaluated agar characteristics were gel strength and 3,6-anhidrogalactose and sulphates content.

*Gracilaria cornea* and *G. crassissima* exhibited maximum values of biomass uncoupled in time, the first species in March and the other in June. The two species were different in growth rate, size and in some reproductive aspects. The reproductive phases of both species were different in their growth rate and biomass.

The N and P content in the tissue of *Gracilaria cornea* and *G. crassissima* collected during one year was different at the interspecific level and between reproductive phases within each species. The experiments of growth limited by N and P in the water showed higher values of  $\mu_{\max}$  and  $k_s$  for *G. cornea* (1.29 % day<sup>-1</sup> and 18.4  $\mu\text{M}$ ) than for *G. crassissima* (0.45 % day<sup>-1</sup> and 5.1  $\mu\text{M}$ , respectively). The same experiments but in relation with the content of those elements in the tissue indicated that the critical concentration was higher for *G. cornea* than for *G. crassissima*, both for N (1.47 % vs. 0.95 %) and for P (0.017 % vs. 0.004 %, respectively). The field and laboratory data on N and P in the tissue viewed together indicated that different strategies of nutrient usage were involved in both species. For example, the plants of the first

species were always N-limited and in three months P-limited whereas the plants of the second species were N-saturated in three months but never P-limited.

The phenological and ecological differences exhibited between *Gracilaria cornea* and *G. crassissima*, as well as the differences found in their reproductive phases can facilitate the coexistence of the two species by responding differentially to the same aquatic environment of Bajo Pepito. The content and all the agar characteristics that were evaluated of *Gracilaria cornea* and *G. crassissima* were also different interspecifically and by reproductive phases. Such agar differences are probably a result of the phenological and ecological differences between the two species which in turn allow their coexistence in Bajo Pepito.

## INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de su historia de vida, las macroalgas requieren de recursos que les permitan persistir en su hábitat, tales como un sustrato donde fijarse, la luz para efectuar la fotosíntesis y los nutrimentos para llevar a cabo sus requerimientos fisiológicos vitales. Sin embargo, el número de especies de macroalgas que requieren de esos mismos recursos en la naturaleza puede ser relativamente grande, hasta más de doscientos en un sólo sitio de ambientes tropicales.

Ante el escenario anterior, las macroalgas pueden presentar al menos dos tipos de respuestas. Una es que las macroalgas compitan entre ellas por el sustrato, la luz y los nutrimentos disponibles (Carpenter 1990, Maggs y Cheney 1990, Paine 1990, Morcom *et al.* 1997, Worm *et al.* 2001). También se ha llegado a mencionar que pueden llegar a competir en un sitio con otros organismos fotosintéticos que requieren de los mismos recursos, tales como microalgas fitoplanctónicas y pastos marinos (Fong *et al.* 1993, Moncreiff *et al.* 1992, Pedersen y Forum 1996).

La otra respuesta es que las especies coexistan, es decir, que en su interacción no se inhiba o disminuya su ocurrencia en el hábitat común, compartiendo los recursos disponibles. Para el caso de las plantas vasculares, las especies pueden desplegar mecanismos fenológicos que favorezcan su coexistencia, como presentar diferentes tiempos para su germinación, tasas de crecimiento, lo mismo que en la emergencia de sus plántulas (Huntly *et al.* 1996, Pickering *et al.* 1996, Shibata y Nakashisuka 1995). Para el caso del fitoplancton, se ha mostrado que las especies pueden coexistir por presentar diferentes estrategias en el uso de los nutrimentos (Rhee y Gotham 1980, Tilman *et al.* 1982). La heterogeneidad espacial y las fluctuaciones

temporales de las condiciones ambientales también se han considerado como elementos que favorecen la coexistencia de organismos a largo plazo (Ekschmit y Breckling 1994, Tilman 2000). En este sentido, Ekschmit y Breckling (1994) mencionaron que la persistencia de los ensambles de especies, era un resultado natural de los cambios estocásticos del ambiente.

Por otra parte, (Kelt y Brown (2001) plantearon que las especies cercanamente relacionadas coexisten menos que las especies con poca relación filogenética, ya que las primeras comparten muchas características ecológicas y morfológicas (nichos cercanos). De manera similar, las especies pertenecientes a un mismo grupo funcional (especies que usan el ambiente de manera similar) coexistirían menos que lo esperado por el azar. Sin embargo, existen especies congénicas de musgo que han podido coexistir por más de 900 años (Rydin y Barber 2001).

Forman y Godron (1986) expusieron que en comunidades estables, su estructura es resultado de la competencia, mientras que la coexistencia se puede dar en condiciones de no equilibrio, producidas, por ejemplo, por disturbios que generan una serie de parches, cada uno con una composición distinta de especies, lo cual permitiría la coexistencia multiespecífica. Por su parte, Townsend (1991) expuso que la mayoría de las comunidades están probablemente organizadas por una mezcla de fuerzas, como la competencia, la predación y los disturbios, y que su importancia relativa depende de una combinación de circunstancias particulares.

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* son dos agarofitas cercanamente relacionadas, muy similares morfológica y reproductivamente, que se encuentran habitando juntas en Bajo Pepito, un sitio tropical en el Caribe Mexicano con aguas muy transparentes. En el hábitat donde ocurren, más del 50% del sustrato disponible no está ocupado por macroalgas (Quan-

Young *et al.* 2004), por lo que se puede considerar que el sustrato no es un recurso limitante. Si se considera que la saturación de la fotosíntesis de ambas especies de *Gracilaria* ocurre a irradiancias relativamente bajas (entre 90 y 155  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , según Dawes *et al.* 1999, Hay 1981 y Orduña-Rojas *et al.* 2002), comparadas a las que se han medido en el sitio de estudio (arriba de los 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), también se puede afirmar que la luz no representa un recurso limitante (aunque pudiera ocurrir el proceso de fotoinhibición), sobre todo considerando que las dos especies en cuestión son las de talla mayor en el sitio y no existen diferentes niveles de dosel, como se presentan en otras comunidades de macroalgas (Kinlan *et al.* 2003).

Tomando en cuenta lo antes expuesto, en este estudio se propuso que *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* coexisten (sin competir) en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo, a través de diferencias fenológicas (la tasa de crecimiento, la talla y el porcentaje de plantas en reproducción) y ecológicas (la biomasa y la densidad de plantas) a nivel interespecífico e intraespecífico (por fases reproductivas dentro de cada especie). La coexistencia de *G. cornea* y *G. crassissima* también se favorecería por un uso diferencial de los nutrimentos de nitrógeno y fósforo disueltos en el agua. A su vez, se propone que las diferencias fenológicas y ecológicas de las dos especies podían reflejarse en aspectos químicos, como su producción de agar.

## MARCO TEÓRICO

La coexistencia es un tema de relevancia actual (Tilman 2000), que para el caso de organismos fotosintéticos se ha abordado con plantas vasculares (Bengtsson *et al.* 1994, Hulme 1996, Zobel 1992) y fitoplancton (Fujimoto *et al.* 1997, Sommer 1993, Titman 1976), pero muy poco con macroalgas (Dudgeon *et al.* 1999, Hay y Norris 1984). *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* son dos agarofitas con potencial económico (Freile-Pelgrín y Robledo 1997, Lahaye *et al.* 1988, Marinho-Soriano *et al.* 2001), las cuales se encontraron habitando bajo las mismas condiciones ambientales en la localidad de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Plantear un estudio sobre la coexistencia de estas dos especies era particularmente relevante, porque ambas comparten similitud de atributos morfológicos y reproductivos (Bird *et al.* 1986, Fredericq y Norris 1985), por lo que representan modelos biológicos similares y en teoría para poder coexistir deberían presentar diferencias en aspectos peculiares. A continuación se analizarán los elementos que pueden favorecer la coexistencia de ambas especies de *Gracilaria* en Bajo Pepito y su repercusión en el contenido y calidad de su agar.

### ASPECTOS FENOLÓGICOS / ECOLÓGICOS Y COEXISTENCIA

#### A) INTERESPECÍFICOS

Los procesos que intervienen para que ocurra la coexistencia de plantas son variados y ocurren a diferente escala espacial y temporal (Bengtsson *et al.* 1994): la escala de tiempo evolutivo, necesaria para la macroevolución y especiación; la escala de tiempo histórico, referida a pocos miles de años atrás (*i.e.* el tiempo desde la última glaciación), donde la dimensión espacial también es amplia, continental; y la escala de tiempo ecológico, con variantes regional y

local, relacionadas al tiempo de vida de las especies involucradas. Estos procesos pueden actuar simultáneamente. Dentro de los eventos que se presentan a escala ecológica local, la fenología de las especies ha sido considerada como uno de los aspectos que favorecen la coexistencia de plantas.

La fenología se define como el estudio de la temporalidad de los eventos biológicos recurrentes y las causas de su empate temporal con respecto a factores abióticos y bióticos. Esta definición, dada por Dougherty *et al.* (1994), y que se puede aplicar a otros organismos, es la que Espinoza-Avalos (Apéndice 1) sugiere adoptar para estudios de macroalgas. Espinoza-Avalos (Apéndice 1) consideró como eventos fenológicos aquellos que se miden en individuos o talos de macroalgas, como la tasa de crecimiento, el porcentaje de plantas en reproducción y la talla. Otras variables poblacionales y comunitarias, como la abundancia, la cobertura y la densidad de plantas, así como la riqueza y distribución de especies son consideradas en este estudio como variables de tipo ecológico.

Huntly *et al.* (1996) demostraron experimentalmente que la fenología de germinación de cuarenta especies de plantas anuales podía representar un factor significativo que permitía su coexistencia, toda vez que los cohortes que germinaban a diferentes tiempos dentro de una estación del año experimentaban posteriormente patrones diferentes de supervivencia, tasas de crecimiento y capacidad reproductiva. Por su parte, Pickering *et al.* (1996) encontraron que las diferencias en tasas de crecimiento y biomasa a lo largo del año, presentes en nueve especies de plantas vasculares del desierto de Chihuahua, también favorecieron su coexistencia. Igualmente, diferencias en abundancia (originadas por tiempos de reclutamiento y mortalidad disímiles) entre especies de copépodos de agua dulce, han sido sugeridas como otro elemento que facilita la coexistencia (Twombly 1994).

Los resultados de los estudios anteriores, y otros similares (Chidumayo 2001), son un tanto comprensibles, si se considera que las especies que coexisten pertenecen a familias y géneros diferentes, con atributos estructurales, morfológicos y fisiológicos dispares.

La coexistencia de plantas puede adquirir especial relevancia si, por el contrario a las plantas estudiadas por los anteriores autores, las especies comparten un mayor número de atributos biológicos; esto es, si se trata de diferentes especies del mismo género. Trabajando con ese nivel de cercanía taxonómica, Shibata y Nakashizuka (1995) mostraron que la coexistencia de cuatro especies de árboles del género *Carpinus* se facilitaba por las diferentes estrategias reproductivas utilizadas entre ellas; ésto con relación a bancos de semilla y emergencia de plántulas en bosques de Japón. De manera similar, Pyke (1990) encontró que la co-ocurrencia de dos especies de pasto, *Agropyron spicatum* (Pursh) Scribn. y Smith (nativa de América) y *A. desertorum* (Fisch. ex Link) Shultz. (introducida de Eurasia), podía favorecerse por sus diferencias en las estrategias de dispersión de semillas y la supervivencia de plántulas.

Por su parte, Cáceres (1997) reportó diferentes estrategias reproductivas que permitían la coexistencia de dos especies de *Daphnia* dulceacuícolas. La divergencia entre ambas especies de crustáceos consistió en el tiempo que sus huevos podían permanecer en dormancia, y su posterior reclutamiento anual (“efecto de almacenaje”). Adicionalmente, Daws *et al.* (2002) reportaron que cuatro especies de la planta vascular *Piper* podían coexistir por sus diferencias en requerimientos o respuestas a la calidad de luz para su germinación máxima.

Para que la coexistencia de especies cercanas sea posible, no necesariamente todos sus atributos biológicos deben ser diferentes; basta con que uno lo sea. Por ejemplo, Blossey (1995) encontró que los escarabajos *Galerucella californiensis* L. y *G. pusilla* Duftschmid no se diferenciaban por el nicho que ocupaban en la planta hospedera (*Lythrum salicaria* L.), tampoco

por la fenología de adultos, mortalidad en invierno, patrones de colonización, ni en el uso de recursos; sólo eran diferentes en aspectos de la ovodepositación (número de huevos depositados por hembra por día), lo cual luego producía diferencias en el número de reclutas por especie.

Debido al parecido existente en los atributos biológicos y ecológicos de los escarabajos estudiados por Blossey (1995), el autor opinó que la coexistencia de ambas especies era explicada por las habilidades competitivas similares presentes entre ellas, lo cual originaba que la competencia ocurriera entre los individuos, no entre las especies. Puesto en otras palabras, la competencia entre ellas sería más simétrica (Rydin y Barber 2001). Este resultado y conclusión fueron parte de predicciones expuestas antes en estudios teóricos, llevados a cabo por Ågren y Fagerström (1984) y Da-Yong y Xin-Hua (1993), quienes presentaron casos matemáticos en los cuales especies similares podían coexistir, sin necesidad de que hubiera diferencia en los nichos ocupados por las especies. En ese mismo sentido, Rydin y Barber (2001) analizaron la coexistencia de 8 especies del musgo *Sphagnum* a diferentes escalas de espacio y tiempo. Experimentalmente demostraron que 2 especies coexistieron por 11 años, y lo hicieron en pocos cm<sup>2</sup>; también registraron su coexistencia por 40-60 años, en áreas de 1-10 m, a través de remapeos de la vegetación. Después analizaron la coexistencia por pares de especies obtenidas en núcleos del suelo de solo 3-5 cm de diámetro: encontraron que 71 pares llegaron a coexistir 278 años en promedio, con máximo de 969 años; explicaron que pueden coexistir por más tiempo, ya que en algunos casos la longitud del núcleo no les permitió continuar reseñando esa coexistencia. Así, Rydin y Barber (2001) demostraron que la coexistencia de especies de plantas cercanamente relacionadas puede presentarse durante largos periodos de tiempo.

Los ejemplos de coexistencia de especies cercanas taxonómicamente y por ende probablemente también similares morfológicamente, que ocupan un nicho cercano, obliga a

reflexionar en el concepto de competencia y el principio de exclusión competitiva, el cual “establece que las especies no pueden coexistir mientras ocupen el mismo nicho, o, más precisamente, mientras las especies estén limitadas por el mismo recurso” (Calow 1998). El resultado esperado con tal “principio” es que una especie eliminará o excluirá a la otra. La notoria coexistencia de un abundante número de especies presentes en la naturaleza ha llegado a considerarse como una paradoja (Hutchinson 1961). Como parte de un análisis sobre este tema, Ekschmitt y Breckling (1994) reportaron las conclusiones obtenidas en una mesa redonda donde se revisó el concepto de competencia. Entre otras opiniones, los participantes consideraron que “es evidente que la competencia interespecífica probablemente no es importante en la mayoría de las situaciones reales..., aplicable a una minoría de situaciones en la naturaleza...; el concepto en ecología es en gran medida metafórico”. De manera similar, algunos ecólogos objetan el “principio” de exclusión competitiva y dicen que no es siquiera un principio, más bien una tautología (ver Hutchinson 1961, Da-Yong y Xin-Hua 1993). Una postura tal vez más radical a las dos anteriores fue asumida por Trepl (1994), quien consideró que la elaboración del concepto de competencia estuvo fuertemente influenciada por las condiciones predominantes de una sociedad que promueve el individualismo; egoísta, burguesa, donde la cooperación es remplazada por la lucha. [Los razonamientos de Trepl (1994) pueden ubicarse dentro de la Sociología de la Ciencia, movimiento filosófico atacado por Bunge (1991)].

Independientemente del valor real que la competencia tiene en teoría ecológica y en las comunidades, poner menos énfasis en su importancia ha tenido como resultado la búsqueda y estudio de mecanismos que explican la coexistencia de organismos vivos. El tema ha llegado a ser tan relevante, que Tilman (2000) lo distinguió como uno de frontera, útil para entender la

biodiversidad de nuestro planeta, lo mismo que las fuerzas y procesos que dirigen la evolución y persistencia de las especies.

Los mecanismos que permiten la coexistencia de seres vivos han sido ubicados en una serie de modelos teóricos o hipótesis (Zobel 1992), algunas veces agrupados (Hulme 1996), quizá en búsqueda del establecimiento de patrones. Por ejemplo, Tilman (2000) consideró que las especies coexisten por el balance o compensación entre las habilidades que unas poseen y las otras no (“trade-offs”), las cuales ayudan o restringen su adaptatividad y abundancia. Según este autor, los balances (o trueques) de cualidades de las especies son las que se presentan entre las siguientes habilidades: 1) competitivas y de dispersión, 2) competitivas y susceptibilidad a enfermedades, herbivoría y depredación, 3) para vivir en condiciones promedio y de usar recursos en pulsos, y 4) para competir por recursos alternos en un paisaje heterogéneo. Argumentos similares para explicar la coexistencia de plantas fueron usados por Aarssen (1989) en su hipótesis “combinante de habilidades competitivas”. Propuso que la exclusión competitiva se evita en el ámbito de poblaciones porque ninguna de ellas contiene los genotipos competitivamente superiores a los genotipos del resto de las poblaciones coexistentes; es decir, todas las especies tienen uno o varios genotipos o atributos que les ayudan a competir (y coexistir) en condiciones particulares.

Ekschmit y Breckling (1994) también resaltaron los dos últimos puntos de Tilman (2000), la heterogeneidad espacial y las fluctuaciones temporales, como algunos de los factores que favorecen la coexistencia a largo plazo. Ésta (la coexistencia) “ya no parece representar una paradoja que necesita una explicación particular. En su lugar, la persistencia de ensamblajes de especies surge como un resultado natural de la estocacidad ambiental”, dijeron Ekschmit y

Breckling (1994). Antes, Tilman *et al.* (1982) habían opinado que la paradoja del plancton (Hutchinson 1961) era un tema muerto.

De los argumentos anteriores se deduce que: 1. Las diferencias fenológicas y ecológicas de las plantas representan elementos empíricos y teóricos que explican la coexistencia de plantas (Bengtsson *et al.* 1994, Bonis 1998, Hulme 1996), 2. La coexistencia en la naturaleza es posible aún en especies cercanas taxonómicamente, *i.e.* del mismo género 3. El tema de coexistencia se ha revelado como uno muy importante en el estudio de la biodiversidad.

La coexistencia de macroalgas marinas ha sido abordada directamente en muy pocas ocasiones. Witman (1987) reportó la coexistencia de dos macroalgas (tratadas en grupo), un mejillón y un erizo de mar; es decir, de organismos pertenecientes a reinos diferentes. Morcom *et al.* (1997) explicaron cómo especies de distintos géneros de algas coralinas incrustantes pueden coexistir sobre el talo de una rodofita carnosa. Estas algas tienen morfologías y estrategias de vida diferentes, que facilitan su coexistencia. Dudgeon *et al.* (1999) estudiaron la coexistencia de dos especies pertenecientes a géneros diferentes; coexistencia que se favoreció por diferencias en su productividad. Por su parte, Airoidi (2000) encontró que varias especies de algas calcáreas incrustantes eran capaces de tolerar el sobrecrecimiento de un grupo de especies de algas formadoras de tapetes ('turfs'), tolerancia que permitía su coexistencia (de algas pertenecientes a diferentes familias taxonómicas). Como en otros casos ya citados, la coexistencia de organismos marinos pertenecientes a diferentes reinos, familias y géneros es un tanto comprensible, ya que presentan atributos estructurales, morfológicos y fisiológicos disímiles.

Como en plantas superiores, estudiar la coexistencia de macroalgas adquiere especial interés si las especies estudiadas comparten un mayor número de atributos biológicos; esto es, si se estudian diferentes especies del mismo género. Los estudios de coexistencia a este nivel deben

existir en la literatura ficológica; sin embargo, los autores no han enfatizado el tema, y no lo incluyen como palabra clave, lo que complica localizarlos. Por ejemplo, Hoyle (1978a) mencionó que *Gracilaria bursapastoris* (Gmelin) Silva y *G. coronopifolia* J. Agardh “se encuentran frecuentemente en el mismo hábitat”, y reportó las diferencias temporales que presentaron las dos especies en sus ciclos reproductivos: cuando una especie presentó su valor máximo, la otra se encontró en su mínimo de plantas reproductivas. El autor sólo discutió esta información fenológica contrastante para mencionar que tales variaciones son especie-dependientes.

Novaczek *et al.* (1986) reportaron que las Phaeophyta *Chorda filum* (L.) Stackhouse y *C. tomentosa* Lyngbye “se encuentran frecuentemente juntas”. Los autores dirigieron su estudio de diferencias fenológicas entre las dos especies de *Chorda*, con respecto a la temperatura requerida para que ocurriera la reproducción de la fase gametofítica (microscópica). Las diferencias encontradas se reflejaron posteriormente en los diferentes tiempos de aparición y desaparición de la fase esporofítica (macroscópica) de ambas especies. Por su parte, Marinho-Soriano *et al.* (1998) estudiaron estrategias reproductivas de “poblaciones mezcladas” de *Gracilaria bursapastoris* (Gmelin) Silva y *G. gracilis* (Stackhouse) Steentoft, Irvine *et* Farnham. Ellos estuvieron conscientes del “problema de supervivencia de las dos especies en condiciones similares” y señalaron patrones estacionales reproductivos diferentes entre ambas especies, sin ahondar más en el problema señalado. Sin embargo, muy probablemente las diferencias reproductivas de esas dos especies de *Gracilaria* facilitan su coexistencia.

En ninguno de los tres trabajos anteriores se discutió cómo la información fenológica contrastante observada entre las especies podía ayudar a explicar la coexistencia de las especies algales.

Los pocos estudios realizados sobre el tema ponen de manifiesto la poca importancia que se le ha dado al estudio de la coexistencia de especies del mismo género de macroalgas marinas. Sólo en dos ocasiones se ha pretendido abordar el tema de coexistencia de macroalgas congénéricas. Hay y Norris (1984) se plantearon preguntas específicas sobre la coexistencia (usaron el término simpatria) de seis especies caribeñas de *Gracilaria*, en Punta Galeta, Panamá: ¿Las especies “se reparten” el sustrato produciendo esporas en diferentes épocas del año? y ¿Existe aislamiento reproductivo entre las especies, al producir gametófitos en diferentes épocas del año? Sin embargo, sus resultados no fueron concluyentes en relación a sus cuestionamientos. Sobre el aislamiento reproductivo dejaron como hipótesis la existencia de mecanismos químicos o estructurales de reconocimiento reproductivo específico entre las especies; sobre la coexistencia (simpatria) dejaron como hipótesis que la presencia permanente de disturbios prevenía su exclusión competitiva. Por su parte, Trowbridge (2001) se planteó estudiar la coexistencia de una especie y dos subespecies del alga verde *Codium*. Sin embargo, sus resultados (principalmente sobre distribución y abundancia) aportaron poca información sobre los procesos que permitían la coexistencia de macroalgas congénéricas.

## B) INTRAESPECÍFICOS

La coexistencia también se ha estudiado a nivel intraespecífico, aunque en mucho menor medida. Sin embargo, las conclusiones han sido muy interesantes. Por ejemplo, Moore *et al.* (1998) estudiaron cuatro diferentes ecotipos (formas de crecimiento determinadas por condiciones ecológicas) de la cianobacteria marina *Prochlorococcus*. Encontraron que sus

poblaciones podían coexistir en un mismo ambiente gracias a las diferentes respuestas fisiológicas a variados regímenes de luz. De acuerdo a sus resultados, las autoras expusieron que esta microdiversidad poblacional puede ser un fenómeno general que permite sobrevivir a la especie en un mayor espectro ambiental, que si las poblaciones fueran homogéneas genéticamente.

El resultado anterior invita a preguntarse sobre qué tan pequeñas pueden ser las diferencias intraespecíficas para que ocurra la coexistencia. En cierto sentido, A. Kashiwagi y colaboradores (1998) se plantearon esa pregunta. Para contestarla, ellos modificaron un linaje de la bacteria *Escherichia coli*, para que fuera lo más semejante posible a otro de la misma especie. Modificaron el gen de la glutamino-sintetasa y obtuvieron dos linajes lo más cercanamente parecidos desde un punto de vista genético. De manera interesante, Kashiwagi *et al.* (1998) encontraron que los dos linajes, casi idénticos, podían coexistir en un quemostato, independientemente de su tamaño poblacional inicial; es decir, nunca se eliminaba uno al otro. Los autores sugirieron, entonces, que la coexistencia es posible en comunidades naturales, sin importar que tan similares puedan ser los organismos competidores involucrados. Posteriormente, Kashiwagi *et al.* (2001) mostraron que el glutamato (como fuente de N) disuelto en el medio de cultivo era el elemento que favorecía la coexistencia de los dos linajes bacterianos.

Para el caso de plantas vasculares, Soliva y Widmer (1999) reportaron dos subespecies de la orquídea *Gymnadenia conopsea* s. l., que coexisten y presentan diferencias en tiempos de floración; fenología que además representó una barrera efectiva para que no se presentara flujo genético entre ambas. Los autores asociaron ese resultado con la divergencia genética y diversificación taxonómica entre las dos subespecies.

Aparentemente no existen investigaciones ficológicas donde se estudien diferencias intraespecíficas relacionadas a la coexistencia. Esto es un tanto comprensible, ya que ni siquiera la coexistencia a nivel interespecífico se ha puntualizado en la literatura. Sin embargo, la posibilidad de que plantas de diferente fase reproductiva favorezcan la coexistencia de especies similares es de alguna manera razonable que suceda en las Rhodophyta, sobre todo si se considera que en algunos casos su ciclo de vida incluye plantas morfológicamente iguales, pero con diferente ploidía, y que existen diferencias fenológicas y ecológicas entre ellas, como se expone enseguida.

Un ciclo de vida describe la secuencia de fases o generaciones morfológicas y nucleares (haploide/diploide) de un alga (Hine 1977). Sólo en las Rhodophyta se presenta un ciclo de vida trifásico, con una fase haploide (gametofito) y dos fases diploides (carposporofito y tetrasporofito). En el caso de las Gracilariaceae, las diferentes fases son morfológicamente iguales o isomórficas, ciclo de vida conocido como tipo *Polysiphonia* (Chapman 1979).

Dentro de las Rhodophyta, se ha registrado que en algunos casos las diferentes fases reproductivas tienen asociadas divergencias en cuanto a su distribución horizontal, vertical y temporal, lo mismo que en los factores ambientales que controlan su reproducción y abundancia (*i.e.* Espinoza-Avalos 1996a, Santelices 1990). Para el caso de las Gracilariaceae, las plantas con diferente fase reproductiva han marcado diferencias en los resultados obtenidos de eventos fenológicos, como en la tasa de crecimiento (Hoyle 1978a, Jones 1959, Patwary y van der Meer 1983a, Guozhong y Meiqin 1986), y ecológicos como en el tipo de hábitat colonizado, fangoso o rocoso (Aguilar-Rosas *et al.* 1993). Por ejemplo, Jones (1959) encontró que mientras la tasa de crecimiento de las plantas carpospóricas de *Gracilaria verrucosa*

(Hudson) Papenfuss disminuyó de septiembre a noviembre, las tetraspóricas incrementaron su tasa de crecimiento. El resto del año las primeras plantas crecieron la mitad de lo que crecieron las tetraspóricas. Por su parte, Aguilar-Rosas *et al.* (1993) reportaron que las plantas carpospóricas (junto con las vegetativas) de *G. pacifica* Abbott dominaron en sustratos de guijarros y rocas, pero estuvieron ausentes en fondos fangosos, donde sí se presentaron plantas tetraspóricas. Cabe mencionar que en otros casos la fase reproductiva no se diferenció en cuanto a la tasa de crecimiento (Pinheiro-Joventino y Frota-Bezerra 1980), ni en la productividad (Littler *et al.* 1987). Sin embargo, las especies de *Gracilaria* que sí han registrado diferencias fenológicas y ecológicas según la fase reproductiva de las plantas, deja abierta la posibilidad de que ello ocurra en *G. cornea* y *G. crassissima*.

#### NUTRIENTES LIMITANTES Y COEXISTENCIA

El uso diferencial de dos o más recursos (principalmente nutrientes) limitantes por parte de especies fitoplanctónicas, ha sido considerado como otro factor que permite la coexistencia de organismos fotosintéticos. La teoría que soporta esa propuesta y el modelo resultante, denominado “proporción de recursos” (‘resource ratio’) se atribuye a Tilman (1982). Ese modelo se ha mencionado también como hipótesis (*i.e.* Makulla y Sommer 1993), mientras que en sus respectivas revisiones, Zobel (1992) y Hulme (1996) lo agruparon entre los conceptos (de diferenciación de nichos) y mecanismos teóricos (de reparto de recursos) que favorecen la coexistencia de plantas.

Aunque el concepto de coexistencia de especies fitoplanctónicas surgió a la par de estudiar la competencia entre ellas (Hutchinson 1961, Tilman 1976, Tilman *et al.* 1982), el segundo concepto ha sido más resaltado en este tipo de trabajos (*i.e.* Makulla y Sommer 1993,

Sommer 1993). Sin embargo, en algunos casos los términos se han mezclado. Por ejemplo, Fujimoto y colaboradores (1997) mencionaron, al estudiar dos algas, que “existe una diferencia en la habilidad competitiva, y tanto la coexistencia, junto con su abundancia relativa, estuvo regulada por la proporción N:P agregada en el medio de cultivo”. En otro caso, los dos conceptos se fusionaron al considerar que “aguas dulces y marinas usualmente contienen más de 30 especies de fitoplancton en coexistencia competitiva”, opinó Tilman (1976). En otras palabras, la percepción de los conceptos de competencia y coexistencia de especies fitoplanctónicas parece ser producto del problema y las condiciones específicas que se estudian.

Tilman *et al.* (1982) expusieron evidencias de que la proporción de recursos limitantes tiene un efecto dramático en la composición de especies, tanto en bioensayos como en experimentos a gran escala con enriquecimiento nutritivo de lagos. Los recursos esenciales involucrados en estudios sobre diversas proporciones de elementos nutritivos han incluido al N, P, sílice (Si) y luz. Makulla y Sommer (1993) mencionaron que la luz puede ser un recurso limitante, porque a través del sombreado de unas especies se hace inaccesible a otras. El modelo de proporción de recursos busca ser predictivo, en el sentido de establecer el valor de las proporciones por arriba y por abajo de las cuales una y la otra especie es más competitiva, y el rango de proporciones donde ambas pueden coexistir, ya que ninguna se encuentra en condiciones óptimas de competencia. Por ejemplo, en proporciones altas de Si:P, las especies más competitivas serán las que sean efectivas en usar concentraciones bajas de P; en proporciones bajas serán más competitivas las efectivas en usar concentraciones bajas de Si; en proporciones intermedias las especies podrán coexistir (Kilham y Kilham 1978).

Por otra parte, cabe señalar que la proporción de N:P disueltos en el agua también se ha utilizado en experimentos de microcosmo para explicar la coexistencia / competencia de grupos

mezclados de macroalgas flotantes, macroalgas adheridas, fitoplancton y tapetes de cianobacterias (Fong *et al.* 1993).

Un aspecto preponderante señalado por Tilman *et al.* (1982) en su modelo de proporción de recursos limitantes, es que un número ilimitado de especies fitoplanctónicas podrán coexistir con uno o dos recursos limitantes, mientras que las especies tengan respuestas no lineales y existan fluctuaciones espaciales y temporales en los recursos. Enseguida apoyan esa hipótesis mostrando que las proporciones de recursos óptimos para el fitoplancton cambian tanto en el laboratorio a diferentes temperaturas y pH, como en el campo, debido a la heterogeneidad existente en la columna de agua, a diferentes escalas en cuanto a nutrientes, luz y estructura trófica. Las algas responden a esa fluctuación de recursos, de tal manera que puede considerarse a las fluctuaciones como si fueran otro recurso o factor limitante, dicen Tilman y colaboradores (1982). La importancia de las condiciones de no-equilibrio ambiental (incluyendo la depredación) y la coexistencia de especies fitoplanctónicas, nos remiten a los mismos problemas ya previstos en el trabajo seminal de Hutchinson (1961).

Rhee y Gotham (1980) expusieron un caso que ilustra el gran abanico de posibilidades existente en cuanto a la coexistencia originada por la variabilidad en las respuestas a diferentes proporciones de recursos limitantes (N:P, por ej.). Ellos estudiaron esa proporción en células de la diatomea *Fragilaria crotonensis*, como reflejo del N:P presente en el agua. Encontraron que esa especie mostró variabilidad en la proporción N:P celular en un periodo de 24 h. Imaginaron que si ese ritmo circadiano difiere entre especies, esto sería suficiente para que coexistieran, aún si su proporción N:P óptimo de crecimiento fuera idéntico. Para apoyar esa posibilidad, Rhee y Gotham (1980) ofrecieron el ejemplo de absorción de sulfuros encontrado por van Gernerden (1974) con las bacterias *Chromatium vinosum* y *C. weissii*: en condiciones de luz continua, la

primera especie eliminó a la segunda; bajo condiciones de fotoperiodo coexistieron, debido a que las dos especies presentaron diferencias circadianas en sus tasas de absorción de sulfuros. La segunda especie almacenaba sulfuros en la oscuridad, que luego utilizaba bajo condiciones con luz, cuando la primera oxidaba una mayor cantidad de sulfuros.

En resumen, el estudio de la coexistencia / competencia de especies fitoplanctónicas se ha efectuado (Rhee y Gotham 1980, Tilman 1981, Tilman *et al.* 1982, Titman 1976) midiendo la proporción de recursos limitantes de acuerdo a su concentración en el agua o en las células de las especies; con experimentos donde las especies son colocadas por separado o mezcladas; midiendo directamente la tasa de crecimiento específico o con el cálculo y uso de las “constantes” de crecimiento  $k_s$  y  $\mu_{max}$ .

Tales constantes se obtienen de la ecuación de Monod (Titman 1976, Espinoza y Chapman 1983):

$$\mu = \mu_{max} [ S / (S+k_s) ]$$

donde  $\mu$  es la tasa de crecimiento,  $\mu_{max}$  la tasa máxima de crecimiento, S la concentración externa del nutriente limitante, y  $k_s$  la concentración externa a la cual la tasa de crecimiento es la mitad de  $\mu_{max}$  (Fig. 1).

También el estudio de la coexistencia / competencia de especies fitoplanctónicas se ha llevado a cabo usando las constantes  $q_0$  y  $\mu_m$ , generadas en la ecuación de Droop (1968), expuesta para macroalgas por Probyn y Chapman (1983), que considera la concentración de elementos en el tejido, en lugar de la concentración de nutrientes disueltos en el agua:

$$\mu = \mu_m ( Q - q_0 ) / Q$$

donde  $\mu$  es la tasa de crecimiento,  $\mu_m$  la tasa máxima de crecimiento, Q la concentración interna del nutriente limitante (% de peso seco), y  $q_0$  la cuota de subsistencia, esto es, el valor de

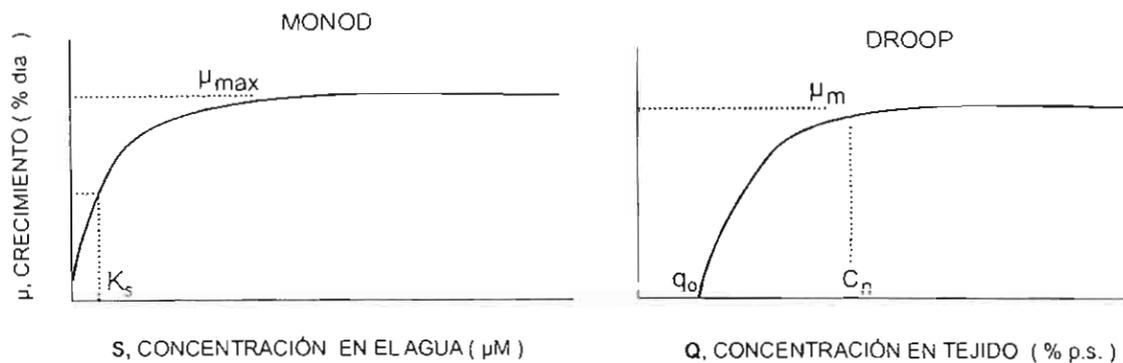


Figura 1.- Curvas de crecimiento generadas con las ecuaciones de Monod,  $\mu = \mu_{\max} [ S / (S+k_s) ]$ , y Droop,  $\mu = \mu_m ( Q - q_0 ) / Q$ , descritas en el texto.

Q cuando  $\mu$  es basal (concentración interna del nutriente a la cual no ocurre crecimiento, pero permite subsistir a las plantas). Una vez obtenida la curva de crecimiento de Droop, de ella se estima la concentración crítica ( $C_n$ ) (Fig. 1). El concepto de concentración crítica de nutrientes surgió en el estudio de plantas superiores terrestres. Se definió (Ulrich 1952) como la concentración arriba de la cual la planta está suficientemente suministrada de nutrimentos, y debajo de la cual está en deficiencia nutritiva. La concentración crítica de un nutriente específico también se puede definir gráficamente como el valor de Q en el punto de inflexión donde  $\mu$  llega a ser  $\mu_m$ , en la curva generada por la ecuación de Droop.

Resumiendo, los nutrientes limitantes son otro elemento que puede ayudar a explicar la coexistencia de organismos fotosintéticos. Las especies pueden usar de manera diferencial esos recursos, lo cual les permite coexistir; el estudio de ese uso diferencial de nutrientes limitantes puede abordarse de diferentes maneras.

En cuanto al número de estudios que incluyen información sobre concentraciones críticas y / o de subsistencia de nutrientes limitantes, cabe mencionar que para el caso de macroalgas, este es relativamente reducido para P (3) en comparación al de N (12). Así, para N se encuentran los estudios de Hanisak (1979), Gordon *et al.* (1981), Hanisak (1983), Probyn y Chapman (1983), Rosenberg y Probyn (1984), Hanisak (1987), Fujita *et al.* (1989), Mizuta *et al.* (1992), Pedersen y Borum (1996), Larned y Stimson (1996), Schaffelke y Klumpp (1998) y Campbell (2001); mientras que para P se encuentran los trabajos de Gordon *et al.* (1981), Manley y North (1984) y Schaffelke y Klumpp (1998).

## RELACIÓN DEL AGAR CON NUTRIENTES LIMITANTES Y CON ASPECTOS FENOLÓGICOS Y ECOLÓGICOS

El agar es un polisacárido que se encuentra en la matriz intercelular de algunas Rhodophyta, incluyendo las Gracilariaceae. Su estructura química le proporciona propiedades y usos en industrias diversas. Alcanza el mayor costo entre los polisacáridos algales. La variación en el contenido y calidad del agar de las Gracilariaceae puede originarse por la temperatura y salinidad del agua, la radiación solar, nutrientes disueltos en el agua, edad del tejido, tiempo y sitio de colecta, fenotipos y fases reproductivas (ver la literatura citada en el apartado de Agar).

Enseguida trataré las variaciones del agar con relación a los temas resaltados antes en este marco teórico, los eventos fenológicos y ecológicos y los nutrientes limitantes.

En estudios de laboratorio y de campo se ha encontrado que la cantidad y calidad del agar de especies Gracilariaceae está relacionada a la concentración de nutrientes nitrogenados disueltos en el agua: el contenido de agar es mayor cuando las concentraciones de N disueltos

en el agua son bajas, mientras que su calidad, medida como fuerza de gel o contenido de 3,6-anhidrogalactosa, es mayor a concentraciones altas de N (Bird 1988, Bird *et al.* 1981, Christeller y Laing 1989, Craigie *et al.* 1984, Ekman *et al.* 1991, Friedlander 1991, Hanisak 1990, Marinho-Soriano 1999, Patwary y van der Meer 1983, Rotem *et al.* 1986). Sin embargo, no siempre sucede así. Por ejemplo, Penniman y Mathieson (1987) reportaron que el contenido de agar de *Gracilaria tikvahiae* McLachlan creciendo en el campo fue mayor a concentraciones altas de N en el tejido.

Hasta mediados de los años ochenta se pensaba primordialmente que el N era el elemento limitante principal de las macroalgas marinas (ver el apartado de Limitación de Fósforo y Nitrógeno). Sin embargo, en un estudio de especies Gracilariaceae donde se relaciona directamente el agar con el P (Lewis y Hanisak 1996), se reportaron relaciones del agar con el P + N: el contenido de agar de *Gracilaria* cepa G-16S fue mayor en concentraciones bajas de N (como se estableció antes), pero también en concentraciones bajas de P + altas de N; la fuerza de gel se incrementó con concentraciones altas de N, pero fue condición que también se agregara P para que eso sucediera. Esto es, el suministro conjunto de P y N afectó el contenido y calidad del agar de la agarofita estudiada por Lewis y Hanisak (1996).

De los eventos fenológicos y ecológicos que se plantearon estudiar en este trabajo, en la literatura existen ejemplos en los cuales se reportaron variaciones del agar con relación a la reproducción, la tasa de crecimiento y biomasa de especies de Gracilariaceae. Por ejemplo, Oza (1978) y Durairatnam (1987) encontraron que la menor concentración del agar de *Gracilaria corticata* J. Agardh y *G. edulis* (Gmel.) Silva, ambas creciendo en el campo, correspondió con periodos posteriores a la liberación de tetrasporas y desprendimiento de las

ramas. Con respecto a la tasa de crecimiento, Rebello *et al.* (1996) reportaron que *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft presentó mayor contenido y fuerza de agar en periodos cuando las plantas alcanzaron su mayor tasa de crecimiento en el campo. De manera similar, Ekman y Pedersén (1990) encontraron en el laboratorio que la concentración del agar extraído con agua fría (25 °C) de *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss fue mayor cuando la planta incrementó su tasa de crecimiento. Contrario a estos resultados, dos especies de *Gracilaria* creciendo respectivamente en el campo (Bird *et al.* 1981) y en condiciones de laboratorio (Rotem *et al.* 1986), presentaron menor contenido de agar cuando su tasa de crecimiento fue mayor. Por otra parte, Ekman y Pedersén (1990) señalaron que la fuerza de gel del agar de *G. verrucosa* fue variable, aún cuando la tasa de crecimiento se mantuvo relativamente constante: lo que cambió fueron las condiciones de temperatura y luz en el cultivo. Esto es, las relaciones correspondientes al contenido y calidad del agar con la tasa de crecimiento depende de la especie de Gracilariaceae que se estudie y de las diferentes variables que interactúan en un tiempo determinado; ello probablemente ocurre de manera similar en otras agarofitas.

Con respecto a relaciones entre biomasa y cantidad de agar de especies Gracilariaceae creciendo en el campo, se ha registrado que el contenido de agar es mayor cuando las especies alcanzan su mayor biomasa (Arellano-Carbajal *et al.* 1999, Chirapart y Ohno 1993, Marinho-Soriano *et al.* 2001). También la calidad del agar se ha relacionado con la biomasa de especies Gracilariaceae. Pondevida y Hurtado-Ponce (1996) y Arellano-Carbajal *et al.* (1999) reportaron valores altos de biomasa de *Gracilariopsis lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acleto *et Foldvik* y *Gs. bailinae* Zhang *et Xia*, coincidentes con concentraciones bajas de sulfatos asociados al agar. Sin embargo, Chirapart y Ohno (1993) trabajando con *Gracilaria* sp., y Arellano-Carbajal *et al.* (1999) trabajando con *Gs. lemaneiformis*, registraron valores altos de

fuerza de gel asociados respectivamente a valores bajos y altos de biomasa. Esto es, las relaciones de biomasa con la calidad del agar son especie-específicas.

Los nutrientes limitantes y los eventos fenológicos (tasa de crecimiento) y ecológicos (biomasa) pueden relacionarse en conjunto con el contenido y calidad del agar de especies de Gracilariaceae. Por ejemplo, Bird *et al.* (1981) reportaron que a mayor concentración de N en el agua, *Gracilaria tikvahiae* presentó menor contenido de agar, mayor fuerza de gel (como ya se expuso), pero también mayor tasa de crecimiento. Ese tipo de resultados fue explicado por Friedlander (1991), en el sentido que la mayor tasa de crecimiento incrementaba la cantidad de tejido nuevo, el cual presentaba agar con mayor fuerza de gel (Craigie y Wen 1984). Resultados similares también fueron encontrados por Lignell y Pedersén (1989), aunque el contenido alto de agar se encontró solo cuando la extracción del agar se realizó con agua fría (25 °C), no con extracción en autoclave (121 °C).

Los nutrientes y la biomasa también se han relacionado en conjunto con el contenido de agar. Por ejemplo, Hoyle (1978a) encontró que los valores bajos de biomasa de dos especies de *Gracilaria* fueron coincidentes con las concentraciones altas de N y contenidos bajos de agar. En ese mismo estudio no se registró ninguna relación entre la biomasa y la fuerza de gel del agar de las dos especies estudiadas.

Los trabajos mencionados hasta ahora en esta sección, muestran relaciones al nivel de especie entre el agar, nutrientes limitantes y eventos fenológicos y ecológicos. Otros trabajos han registrado variaciones de esas variables dependiendo de la fase reproductiva de especies Gracilariaceae. Por ejemplo, Penniman y Mathieson (1987) estudiaron plantas tetraspóricas y cistocárpicas de *Gracilaria tikvahiae*; encontraron que la biomasa estuvo directamente relacionada a contenidos de N y P en el tejido y del agar: lo mismo ocurrió con los dos tipos

de plantas. En contraste, Pickering *et al.* (1990) registraron para *Gracilaria sordida* Nelson que la biomasa máxima y la fuerza de gel del agar de plantas masculinas y cistocárpicas + tetraspóricas ocurrió al mismo tiempo, pero a inicios de primavera para las primeras plantas, y a mediados de verano para las segundas. Por su parte, Whyte *et al.* (1981) encontraron para *Gracilaria* (tipo *verrucosa*) una relación inversa entre la biomasa y el contenido de agar para plantas vegetativas y tetraspóricas, pero ninguna relación en plantas masculinas ni carpospóricas. En otras palabras, el tipo de relaciones entre eventos fenológicos con el agar de plantas por fase reproductiva, si existen, es dependiente de la especie Gracilariaceae.

De acuerdo a lo anterior, dentro de las especies de Gracilariaceae se presentan relaciones entre el agar y eventos fenológicos / ecológicos y nutrientes limitantes, un tanto más universal (o en una misma dirección) entre los nutrientes nitrogenados y el agar; más dependientes de la especie en el caso de eventos fenológicos / ecológicos. Las relaciones del agar con eventos fenológicos / ecológicos y nutrientes limitantes se presentan tanto entre las especies como dependiendo de la fase reproductiva de las especies.

En resumen, *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* son agarofitas con potencial económico que coexisten cercanamente en un manto mixto de Bajo Pepito, en el Caribe Mexicano. Dos preguntas generales surgieron entonces: ¿Qué mecanismos biológicos y ecológicos permiten la coexistencia de dos especies de *Gracilaria* que son muy similares entre sí? y ¿Cómo se reflejan esos mecanismos en la producción y calidad de su agar? Entonces, se propuso que diferencias en eventos fenológicos y ecológicos, lo mismo que diferencias en el uso de nutrientes por parte de ambas especies, a nivel interespecífico y por fase reproductiva, estarían involucrados en las respuestas. Con base a esa propuesta se establecieron los objetivos indicados enseguida.

## OBJETIVOS

### GENERAL

Demostrar si existen diferencias fenológicas y ecológicas, lo mismo que en el uso de nutrientes por parte de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, a nivel interespecífico e intraespecífico (por fases reproductivas), las cuales permitan proponer elementos que expliquen la coexistencia de ambas especies en un mismo hábitat en el Caribe Mexicano, y de qué manera esas diferencias se reflejan en la cantidad y calidad de su agar.

### PARTICULARES

1. Determinar si *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* presentan diferencias en aspectos fenológicos (talla, tasa de crecimiento, porcentaje de plantas en reproducción) y ecológicos (biomasa y densidad de plantas por unidad de área), a nivel interespecífico e intraespecífico (por fases reproductivas en una misma especie), las cuales faciliten la coexistencia de ambas especies.

2. Determinar si la tasa de crecimiento de *G. cornea* y *G. crassissima* bajo condiciones limitantes de N y P presenta respuestas diferenciales entre ambas especies, que indiquen un uso diferencial de esos recursos nutricionales en el laboratorio.

3. Establecer si los resultados de limitación de N y P del laboratorio pueden ayudar a determinar si el porcentaje de N y P medido en el tejido de *G. cornea* y *G. crassissima*, indican limitación diferencial de esos elementos en el campo, y si esas diferencias pudieran favorecer la coexistencia de las dos especies en un mismo ambiente del Caribe Mexicano.

4. Definir cómo las diferencias fenológicas y ecológicas que se presenten a nivel interespecífico y por fase reproductiva de *G. cornea* y *G. crassissima* se reflejan en la cantidad

(porcentaje del peso seco de la planta) y características químicas (fuerza de gel y contenido de 3,6-anhidro-galactosa y grupos sulfatos) del agar de ambas especies.

## HIPÓTESIS

Los objetivos anteriores permitirán validar o no las siguientes hipótesis:

Hipótesis de trabajo 1. *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* presentan diferencias fenológicas y ecológicas que les ayuda a coexistir en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo.

Hipótesis de trabajo 2. Las diferencias fenológicas y ecológicas entre fases reproductivas aunadas a las diferencias interespecíficas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* facilitan su coexistencia en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo.

Hipótesis de trabajo 3. *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* usan de manera diferencial los nutrimentos de nitrógeno y fósforo, lo cual les ayuda a coexistir en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo.

Si esta hipótesis 3 se sostuviera, la diferencia en el uso de nutrimentos entre las dos especies de *Gracilaria* se sumarían a las diferencias fenológicas interespecíficas y por fase reproductiva, que en conjunto ayudarían a explicar su coexistencia.

Hipótesis de trabajo 4. Diferencias interespecíficas y por fase reproductiva de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, tanto fenológicas y ecológicas, como en el uso de los nutrientes limitantes, se reflejarán de manera general en diferencias del contenido y la calidad de su agar.

Esta hipótesis se propone con reservas: 1) Si bien en los párrafos precedentes se mostraron relaciones entre el agar y eventos fenológicos y ecológicos, de acuerdo a esos mismos

resultados, no se podría hacer una generalización al respecto. 2) Las relaciones de nutrientes limitantes y eventos fenológicos / ecológicos con el agar se revisaron de manera un tanto aislada, y no se consideró la influencia sobre el agar de otras variables fisicoquímicas y biológicas (ver segundo párrafo de esta sección). Tampoco se consideró cómo esas variables actúan en sinergia, problema que se manifiesta al realizar estudios relacionados con las variaciones del agar. 3) No se tomó en cuenta que algunos estudios referidos incluyen factores fisicoquímicos que también influyeron de maneras diversas en el contenido y calidad del agar; hacerlo hubiera desviado el propósito de enfocar las diferentes relaciones con la hipótesis. 4) Los cambios temporales del agar a corto plazo provocados por la influencia de las diversas variables (aspecto no considerado en la generalidad de este tipo de estudios) pudiera tener efectos múltiples en el agar, ya que este pudiera modificarse por efectos a muy corto plazo (1-3 días para especies Gracilariaceae; Ekman y Pedersén 1990, Ekman *et al.* 1991, Hemmingson y Furneaux 1997, Hemmingson *et al* 1996). 5) Cuando sí se presentan relaciones, coincidencias, tendencias o correlaciones significativas entre eventos fenológicos y ecológicos con el agar, éstas no necesariamente indican causa-efecto.

Tomando en cuenta esas reservas, en la hipótesis 4 se propuso que las diferencias interespecíficas y por fase reproductiva en eventos fenológicos y ecológicos se reflejarían *de manera general* en la cantidad y calidad del agar de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* en Bajo Pepito, Caribe Mexicano. Quizá no con relaciones directas estadísticamente significativas, sino con diferencias globales entre las especies y dentro de ambas especies. Aunque la hipótesis pareciera no tener suficiente fundamento, con argumentos poco sólidos y difícil de comprobar, cabe hacer tres menciones: 1) En el pasado se consideró que las dos especies incluidas en el estudio pudieran pertenecer solo a una (ver sección de Taxonomía). La suma de diferencias fenológicas, ecológicas y químicas (agar) claramente ayudaría a mantenerlas separadas. 2) Existe

controversia sobre la existencia de diferencias en el agar en plantas con diferente fase reproductiva, y cuando se han registrado no se ubican en un contexto biológico-ecológico explícito (ver capítulo al respecto); intentar hacerlo al menos nos orienta a reflexionar en procesos que busquen explicar la variación de compuestos que pueden tener otro interés (económico), además del netamente científico. Si las diferencias existieran, ubicarlas en un contexto ecológico amplio ayudaría, con sus reservas, a ver la integración o acoplamiento entre seres vivos y su ambiente. 3) Existen ejemplos concretos donde se relaciona el agar con eventos fenológicos / ecológicos y nutrientes limitantes. Por ello, se mantiene la posibilidad de que lo planteado en la hipótesis 4 sea razonable para las dos especies de *Gracilaria*.

Con el deseo de alentar la hipótesis 4, me permito agregar una nota, tomada de Ernst Mayr (1998; pp. 70, 72, 85):

“El biólogo, como el físico, aplica también la prueba de la predicción y busca excepciones, pero le preocupa menos el fallo ocasional de una predicción, porque sabe que las regularidades biológicas casi nunca tienen la universalidad de las leyes físicas. La utilidad de la predicción para poner a prueba teorías biológicas es muy variable. Algunas teorías, sobre todo en biología funcional, tienen un gran valor predictivo, mientras que otras están controladas por conjuntos de factores tan complejos que no se pueden hacer predicciones consistentes. En biología, las predicciones suelen ser probabilísticas, debido a la gran variabilidad de casi todos los fenómenos biológicos, a la probabilidad de que ocurran hechos fortuitos, y a la multiplicidad de factores interactivos que afectan al curso de los acontecimientos. Para el biólogo no es tan importante que su teoría pase la prueba de la predicción; es mucho más importante que su teoría resulte útil para resolver problemas...

Muchas veces resulta difícil, si no imposible, señalar *la* causa en una interacción de sistemas complejos, cuyo efecto final es el último paso de una larga reacción en cadena. Es posible que en estos casos tengamos que adoptar otra manera de pensar... En biología –donde el azar, el pluralismo, la historia y lo individual desempeñan papeles tan importantes-, un sistema flexible de elaboración y comprobación de teorías parece más apropiado que los principios rígidos”.

Los objetivos que permitirán validar o no las hipótesis de este estudio se desarrollarán en tres secciones, para luego finalizar con una conclusión general. Sin embargo, por los cambios nomenclaturales que han ocurrido a nivel de Orden, género y especie dentro de los dos binomios involucrados en este trabajo, antes se revisarán someramente algunos de temas taxonómicos relacionados a esos cambios.

## ASPECTOS TAXONÓMICOS DE *Gracilaria cornea* Y *G. crassissima*

Fredericq y Norris (1985) tomaron en cuenta la estructura multicavitaria de los conceptáculos espermatangiales, entre otras características anatómicas, para transferir a *Gracilaria cornea* (como *G. debilis*) y a *G. crassissima* al género *Polycavernosa*. De esa manera, se reflejaría mejor que los espermatangios de estas especies se encuentran en conceptáculos de muchas cavernas (Fig. 2). Wynne (1989) llamó la atención a que con esa propuesta se incluiría dentro de *Polycavernosa* a *P. urvillei* (Montagne) Xia & Abbott, especie tipo dentro del género *Hydropuntia* Montagne, el cual había sido validado primero, por lo que tenía prioridad. Por ello, reubicó a 16 especies de *Polycavernosa* en *Hydropuntia*, incluyendo a las dos especies que se abordan en este trabajo. Fredericq y Hommersand (1990) también consideraron la presencia de células o filamentos nutricios tubulares (Fig. 2) restringidas a la base o piso del cistocarpo, como carácter válido para segregar el género *Hydropuntia* de otras Gracilariaceae.

En contraparte a lo anterior, Abbott *et al.* (1991) describieron una nueva especie de *Gracilaria*, *G. mixta* Abbott, Zhang & Xia, la cual presentó tanto espermatangios multicavitarios como elongados, tipo *verrucosa*. También detectaron una mezcla de los dos tipos espermatangiales en otras especies de *Gracilaria*, por lo que sugirieron la transferencia de los epítetos de *Hydropuntia* (= *Polycavernosa*) a *Gracilaria*. Abbott *et al.* (1991) igualmente señalaron que algunas especies mantenían un sólo tipo de conceptáculos espermatangiales en todas las etapas de su desarrollo. También, Bird y Kain (1995) mencionaron la inconsistencia de conceptáculos multicavitarios y células nutricias en el piso del cistocarpo, para separar los géneros *Hydropuntia* y *Gracilaria*.

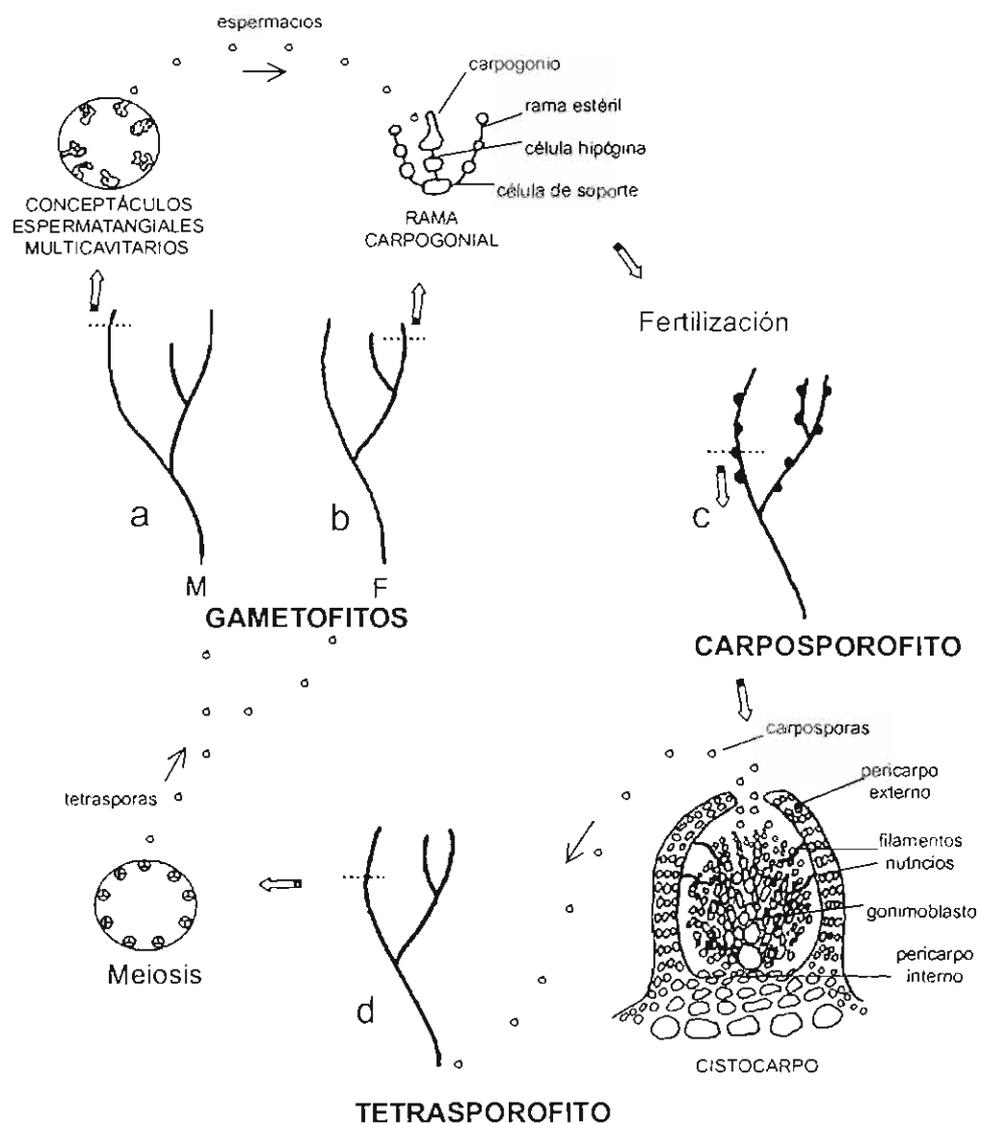


Figura 2.- Ciclo de vida tipo *Polysiphonia* de especies Gracilariaceae, mostrando el gametofito masculino (M, Fig. 2a), el gametofito femenino (F, Fig. 2b), el carposporofito (Fig. 2c) y el tetrasporofito (Fig. 2d); cada fase con diagramas de cortes transversales del talo mostrando sus estructuras reproductoras. Dibujo realizado con el apoyo de figuras y fotografías de Ortíz Sotomayor y Almodovar (1982), Fredericq y Hommersand (1989) y Dreckmann-Estay (1997).

A pesar de las inconsistencias taxonómicas anteriores, en estudios taxonómicos de años pasados recientes, el nombre predominante del género para las dos Rhodophyta incluidas en este estudio fue el de *Hydropuntia* (Dreckmann 1998, Littler y Littler 2000, Wynne 1998). Sin embargo, y posterior a esos trabajos, Bellorin *et al.* (2002) realizaron estudios filogenéticos moleculares y encontraron que las especies con conceptáculos multicavitarios (*Hydropuntia*) no se separaron de las del género *Gracilaria*, resultado que va en el mismo sentido a lo que anteriormente encontraron Bird *et al.* (1992) en estudios filogenéticos moleculares de Gracilariales. Tomando en cuenta las inconsistencias taxonómicas y los resultados filogenéticos, en este trabajo de tesis se mantiene el género *Gracilaria* para las dos especies que aquí se estudian.

Las dificultades taxonómicas dentro de las Gracilariaceae también provocaron que a finales de los ochenta ocurriera una modificación relativa a Orden. Fredericq y Hommersand (1989) revisaron el modo de división de las células vegetativas alrededor de las reproductivas femeninas, la morfología del desarrollo de espermatangios y eventos pre- y post-fertilización de plantas femeninas de *G. verrucosa*, la especie tipo de la familia, la cual había sido mantenida dentro del orden Gigartinales desde 1932 (Dreckmann-Estay 1997). Con base a su estudio, establecieron el Orden Gracilariales Fredericq & Hommersand. Uno de los argumentos en que basaron su propuesta fue que en las Gracilariales las células de ramas estériles de la rama carpogonial (Fig. 2) se fusionan con el carpogonio para formar una célula de fusión generativa (y con ello la duplicación del complemento cromosómico o diploidización), de donde se originan los inicios del gonimoblasto. En cambio, en el orden Gigartinales, la diploidización de las células auxiliares ocurre a través de una conexión externa

(por la célula conectiva, filamento conectivo o tubo corto) y conexiones lenticulares (“pit connections”).

Para reconsiderar algunas partes anatómicas ya citadas, y aspectos reproductivos que después se mencionan en la tesis, enseguida se describe el ciclo de vida de las Gracilariaceae (Bold y Wynne 1978): los gametofitos producen espermacios y carpogonios, las células sexuales masculina y femenina, que se originan en los conceptáculos espermatangiales y en la rama carpogonial, respectivamente. La rama carpogonial se encuentra rodeada de tres tipos de células (de soporte, hipógina y ramas estériles laterales; Fig. 2a). Cuando se liberan los espermacios, éstos fertilizan al carpogonio, el cual permanece fijo al gametofito femenino. Ahí mismo prosigue un desarrollo post-fertilización, por lo que al final de esta etapa se tiene una planta haploide (el gametofito) que contiene o envuelve a una fase diploide, el carposporofito. Esta fase se encuentra hospedada en el cistocarpo, el cual se forma de dos partes: el carposporofito mismo (esencialmente sinónimo de gonimoblasto) y el pericarpo, un conjunto de células haploides que rodean al primero (Bold y Wynne 1978, Carmona Jiménez y Hernández Muñoz 1993). En algunas especies Gracilariaceae se presentan filamentos nutricios o conectivos (o células tubulares nutricias) entre el pericarpo y el gonimoblasto (Fig. 2c). Las carposporas formadas por el carposporofito dan lugar a los tetrasporofitos. En esta fase nuclear ocurre la meiosis, durante la formación de las tetrasporas, en el tetrasporangio. Esto ocurre a partir de una célula cortical iniciadora (célula madre tetrasporangial o célula iniciadora tetrasporangial), la cual, a medida que madura, se expande en longitud y ancho; pasa por dos divisiones sucesivas, que produce la forma ovalada y cruzada del tetrasporangio (Fredericq y Norris 1985, Lee *et al.* 1995). El desarrollo de las tetrasporas da lugar a los gametofitos.

Retomando los cambios nomenclaturales de las plantas incluidas en este estudio, aquellos relativos a especie involucran a *Gracilaria cornea*. La incertidumbre de asignarle un binomio estable tenía décadas de presentarse. Taylor (1928, 1942) originalmente la nombró como *Gracilaria cornea*, pero luego la nombró como *G. debilis* (Taylor 1960). Sin embargo, Chapman (1963) la mantuvo como *G. cornea*, mientras que Newton (1953, en Wynne 1986) restringió la ubicación de *G. debilis* al Mar Rojo y propuso el binomio *G. wrightii* (Turner) J. Agardh como el válido para los especímenes del Caribe. Bird *et al.* (1986) pusieron en tela de juicio la autenticidad del binomio *Gracilaria debilis* (Forsskål) Børgesen, por lo que examinaron la especie tipo (del Mar Rojo) y determinaron que los caracteres reproductivos y anatómicos no correspondían a los ejemplares americanos. Por ejemplo, en el espécimen tipo existe una gradación de células medulares grandes a corticales pequeñas, mientras que en los ejemplares del Océano Atlántico hay una separación abrupta entre ambos tipos de células. Concluyeron que la denominación correcta para los ejemplares del Atlántico era *G. cornea* J. Agardh.

La segregación de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* es un tanto complicada, ya que la morfología de las estructuras reproductoras (importantes para definir la identidad de especies de macroalgas marinas) es muy similar en ambas especies (Fig. 3): cuando Fredericq y Norris (1985) describieron la morfología y desarrollo reproductivo de cuatro especies de *Gracilaria*, juntaron a las dos anteriores en un grupo con iguales características, entre ellas las siguientes: 1. el desarrollo del cistocarpo es en dirección horizontal, por lo que el cistocarpo maduro (sésil, sin constricciones en la base) es bajo y ancho, además de no presentar filamentos nutricios (Fig. 3a), 2. los conceptáculos espermatangiales tienen forma extremadamente variable, pero ocupan partes corticales, subcorticales y medulares del talo

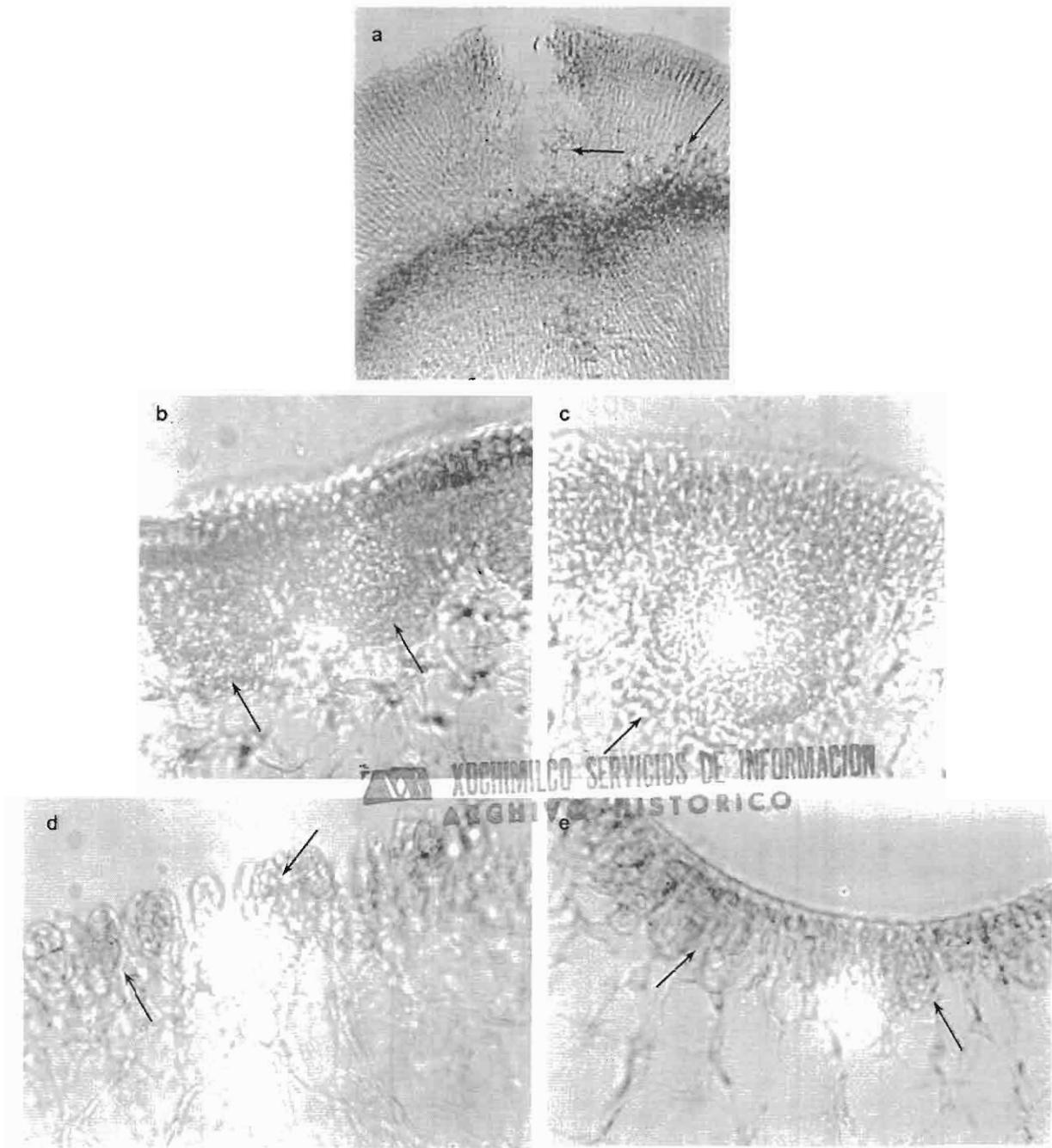


Figura 3.- Estructuras reproductoras de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* (400X). a) cistocarpo horizontal de *G. cornea* mostrando carposporas (flechas); b y c) conceptáculos espermatangiales multicavitarios (flechas) de *G. crassissima* y *G. cornea*; d y e) tetrasporangios cruzados (flechas) de *G. crassissima* (sin corteza) y *G. cornea* (corteza curvada posterior al corte). Fotos por H. Bahena Basave.

(Fig. 3b, 3c), y 3. los tetrasporangios de ambas son de forma ovalada (Fig. 3d y 3e). De acuerdo a lo expuesto, las estructuras reproductoras no pueden emplearse aisladamente para diferenciar a las dos especies.

Además de la similitud reproductiva, las dos especies de *Gracilaria* son anatómicamente muy similares, y en cultivos de laboratorio esa similitud se tornó más estrecha (Bird *et al.* 1986), lo que motivó a esos autores a sugerir que una (*G. crassissima*) podía ser una écada de la otra (*G. cornea*); esto es, una variedad ecológica adaptada a condiciones de oleaje intenso. Sin embargo, *G. crassissima* ha sido observada en condiciones de poco oleaje, en varias partes del Caribe (Díaz-Piferrer 1964, Díaz-Piferrer y Caballer de Pérez 1964). A pesar de lo anterior, conviene mencionar que en el sitio de estudio de este trabajo las dos especies coexisten bajo condiciones ambientales iguales, permaneciendo distinguibles una de la otra, de acuerdo a la Tabla 1. Por ejemplo, los talos cilíndricos de *G. cornea* (Fig. 4d-4f) son notorios aún desde individuos juveniles (Fig. 4f), mientras que los talos de *G. crassissima* tienen ramificación irregular (Fig. 4a), y su forma aplanada se muestra en ocasiones desde juveniles (Fig. 4b). En *G. crassissima* existe deformación y encogimiento del talo después de pasar por un proceso de secado (Taylor 1960, Fig. 4c), lo cual no ocurre en esa magnitud en *G. cornea*. Esto es, las diferencias morfológicas, y otras (Tabla 1) ayudan a su diferenciación en Bajo Pepito.

De acuerdo a lo expuesto, los conceptáculos espermatangiales, principalmente, pero también el desarrollo del cistocarpo, se pueden utilizar para separar a *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* de otras especies de Gracilariaceae, mientras que la morfología externa (Tabla 1) ayuda a separar a una de la otra. Las similitudes morfológicas y reproductivas, sin embargo,

Tabla 1.- Características morfológicas y de hábitat de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* registradas en la literatura y observadas en el transcurso de este estudio en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Se agregan observaciones realizadas en los experimentos de crecimiento mensual de fragmentos apicales en el campo, incluyendo la proliferación de râmulas en los fragmentos experimentales, lo mismo que observaciones durante la molienda en mortero, efectuada con propósitos diferentes a los de este trabajo.

	<i>Gracilaria cornea</i>	<i>Gracilaria crassissima</i>
Talo	Cilíndrico a todo lo largo <sup>1</sup>	Cilíndrico, comprimido <sup>1</sup> , frecuentemente aplanado <sup>2</sup> , irregularmente palmeado <sup>3,4</sup> ; formas adquiridas en cualquier parte del talo.
Hábito	Erecto, más largo que ancho <sup>5</sup>	Postrado, con las partes apicales curvas hacia arriba <sup>6</sup> o hacia abajo <sup>7</sup> . Semipostrado, creciendo más bien en sentido horizontal <sup>4,5</sup> , por lo que en ocasiones es más ancho que alto <sup>5</sup>
Talla	Hasta (25 cm <sup>4,7</sup> -) 28 cm <sup>8</sup>	Hasta (20 cm <sup>6</sup> -) 25 cm <sup>4</sup> (-30 cm <sup>7</sup> )
Ramas	Cilíndricas, sin constricciones en la base <sup>1</sup> , fastigiadas <sup>5</sup> , abundantemente ramificadas <sup>2</sup> , con ramificaciones irregularmente alternada abajo, cervicorne arriba <sup>6</sup> , irregulares, pectinadas o subdicotómicas <sup>8</sup> , a veces semejan estructuras digitiformes <sup>4</sup>	Cilíndricas a comprimidas, algo aplanadas y anchas <sup>2,7</sup> , con ramificaciones irregularmente alternas, un tanto cervicomes <sup>6</sup> , con ramificaciones marginales <sup>5</sup> cortas e irregulares <sup>5</sup>
Anastomosis	Nunca presente <sup>5,9</sup>	Presente <sup>4,7</sup> , más frecuente en plantas adultas <sup>5</sup>
Pie de fijación	Fijo a un solo punto basal <sup>5</sup> , en forma de disco <sup>9</sup>	Inconspicuo <sup>9</sup> , Fijo a un solo punto cuando son plantas juveniles, pero a uno o más puntos de fijación cuando son grandes o adultas <sup>5</sup>
Coloración	Pálida, rosada <sup>6</sup> , amarilla, rojiza, verduzco cremoso y rojo purpúreo, de acuerdo a condiciones ambientales <sup>3</sup> ; uniforme, amarillenta en el sitio de estudio y rojiza en Yucatán <sup>5</sup>	Pálidas, café rojizas hasta casi sin color <sup>6</sup> . Muy variable en el sitio de estudio: rojiza-cafesosa, rojo vino, morada, verde, rosácea; en ocasiones con puntos o zonas blancuzcas en los lados expuestos a la superficie del agua (luz) <sup>5</sup>
Hábitat	En el sitio de estudio: común en áreas cercanas a zonas arenosas <sup>5</sup>	En el sitio de estudio: muy rara en áreas cercanas a zonas arenosas <sup>5</sup>
FRAG. APICALES EN EXP. DE CREC. MENSUAL:		
Corte con la mano y molienda en mortero	Relativamente fácil <sup>5</sup>	Relativamente difícil <sup>5</sup>
Epifitismo	Común <sup>5</sup>	Escaso <sup>5</sup>
Proliferación de râmulas (Nov. 1997 – Ene. 1998)	Muchas <sup>5</sup>	Ninguna <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Norris 1985a, <sup>2</sup>Chapman 1963, <sup>3</sup>Díaz-Piferrer y Caballer de Pérez 1964, <sup>4</sup>Taylor 1960, <sup>5</sup>Observación personal, <sup>6</sup>Taylor 1960, <sup>7</sup>Littler *et al.* 1989, <sup>8</sup>Plastino 1991, <sup>9</sup>Littler y Littler 1997.

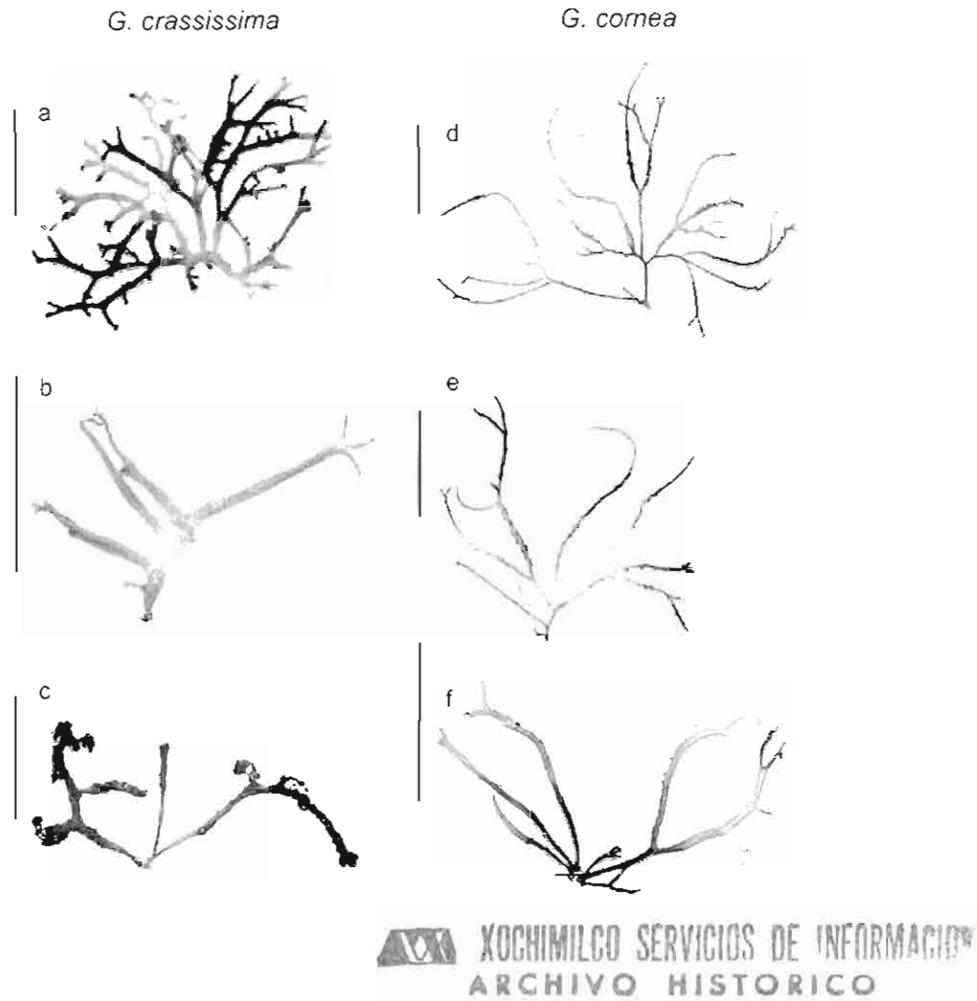


Figura 4.- *Gracilaria crassissima* y *G. cornea*. Hábito, barra = 5 cm. Planta adulta (a) y juveniles (b, c) de *G. crassissima* y adultas carpospóricas (d, e) y juvenil (f) de *G. cornea*. Fotos por H. Baena Basave.

resaltan la relación taxonómica estrecha existente entre ambas especies que coexisten en Bajo Pepito, Quintana Roo.

Estudios previos de la anatomía y la reproducción de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* muestran que ambas comparten el mismo tipo de características: talo cilíndrico, tetrasporofitos cruzados, conceptáculos espermatangiales multicavitarios y desarrollo horizontal del cistocarpo,

que indica que ambas especies presentan una relación taxonómica estrecha, que incluso conllevan a la sugerencia de que se trata de taxa conespecíficos. Sin embargo, en un reciente estudio de tipo sistemático (Bellorín *et al.* 2002), a nivel de diferenciación genérica, que incluyó análisis moleculares de *G. cornea* y de *G. crassissima*, no se hace ninguna mención sobre la posibilidad de que ambos morfotipos pudieran representar a una sola especie.

En este estudio se toma en cuenta la facilidad de segregar a *Gracilaria cornea* de *G. crassissima* en el campo, por su hábito distinto en Bajo Pepito (ver figura 1 del Apéndice 2), y como premisa de trabajo se consideran como dos especies taxonómicas. Con este enfoque se pretende generar información fenológica, ecológica y química que contribuya a tener una mejor comprensión de los taxa en cuestión.

**DIFERENCIAS FENOLÓGICAS Y ECOLÓGICAS, INTERESPECÍFICAS  
Y POR FASE REPRODUCTIVA, DE DOS ESPECIES COEXISTENTES  
DE *Gracilaria* (RHODOPHYTA) DEL CARIBE MEXICANO**

**ANTECEDENTES**

Con el fin de ubicar la importancia de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* como posibles fuentes de agar, cabe mencionar que las agarofitas que se han reportado para el estado de Quintana Roo incluyen (siguiendo la clasificación de Dreckmann 1998) 11 especies de *Laurencia*, 10 de *Gracilaria*, 4 de *Gelidiella*, 3 de *Gelidium*, 2 de *Pterocliadiella*, 2 de *Gelidiopsis*, 2 de *Bryothamnion*, 2 de *Hydropuntia* y 1 de *Gracilaropsis*; mientras que las carragenofitas incluyen 3 especies de *Chondracanthus*, 3 de *Hypnea*, 2 de *Agardhiella*, 1 de *Eucheuma*, 1 de *Meristiella* y 1 de *Solieria* (Dreckmann 1998; además, Aguilar-Rosas 1989, Aguilar-Rosas *et al.* 1997, Collado-Vides 1992, Collado-Vides *et al.* 1998, Díaz-Martín *et al.* 1998, Huerta-M. 1958, 1975, Huerta-Muzquiz *et al.* 1987, Ramírez-Roman 1971, Senties-G. *et al.* 2001, Taylor 1972, van Tussenbroek y Collado-Vides 2000).

El considerable número (48) de especies agarofitas y carragenofitas que habitan las aguas de Quintana Roo sugiere la posibilidad de utilizarlas con fines económicos. Sin embargo, de acuerdo a una prospección personal, realizada de septiembre de 1991 a noviembre de 1993, en 108 sitios de colecta a lo largo de la costa del estado (Fig. 5), se estimó que la abundancia de tales especies sólo era relativamente importante (mantos mayores de aproximadamente 500 m<sup>2</sup>) en pocos lugares (Fig. 6). Como resultado de esa prospección, se concluyó que ningún manto algal de Quintana Roo podía soportar cosechas continuas, y que el cultivo de macroalgas, probablemente en la zona de laguna arrecifal, era la única alternativa para su uso futuro en el

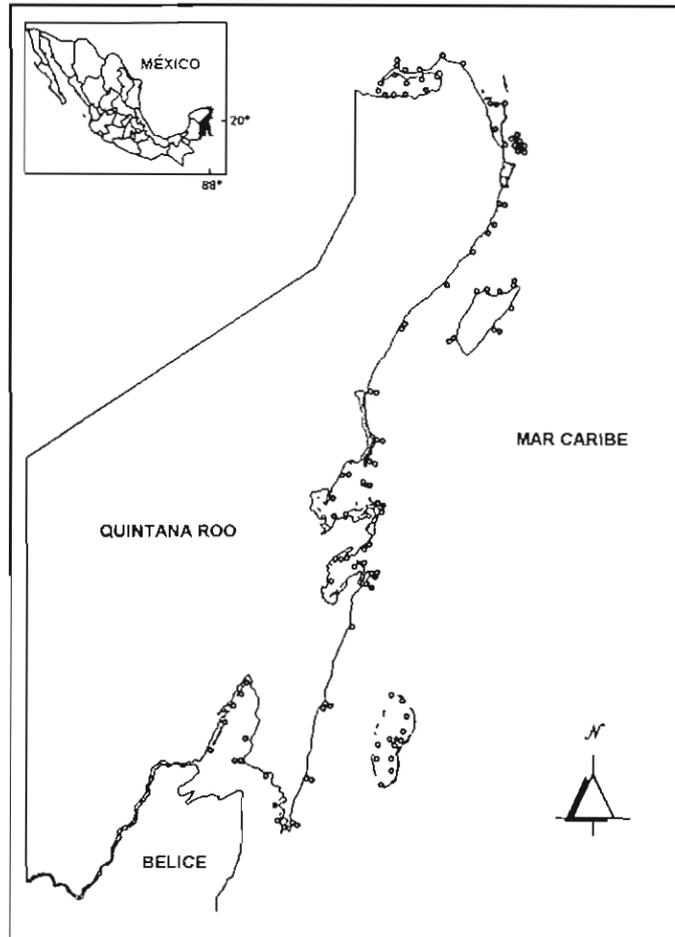


Figura 5.- Sitios de una prospección en la costa de Quintana Roo, México, para coleccionar algas rojas de interés comercial (J. Espinoza-Avalos, no publicado).

ambiente natural. Antes había que conocer aspectos básicos sobre fisiología, biología, fenología, ecología y química de las especies que se desearan cultivar (Espinoza-Avalos 1997). En la misma prospección se encontró que a lo largo de la costa de Quintana Roo existía consumo humano directo de al menos 7 de las 48 especies de agarofitas y carragenofitas ya mencionadas. De éstas se aprovechaban sus propiedades gelificantes; el consumo se había

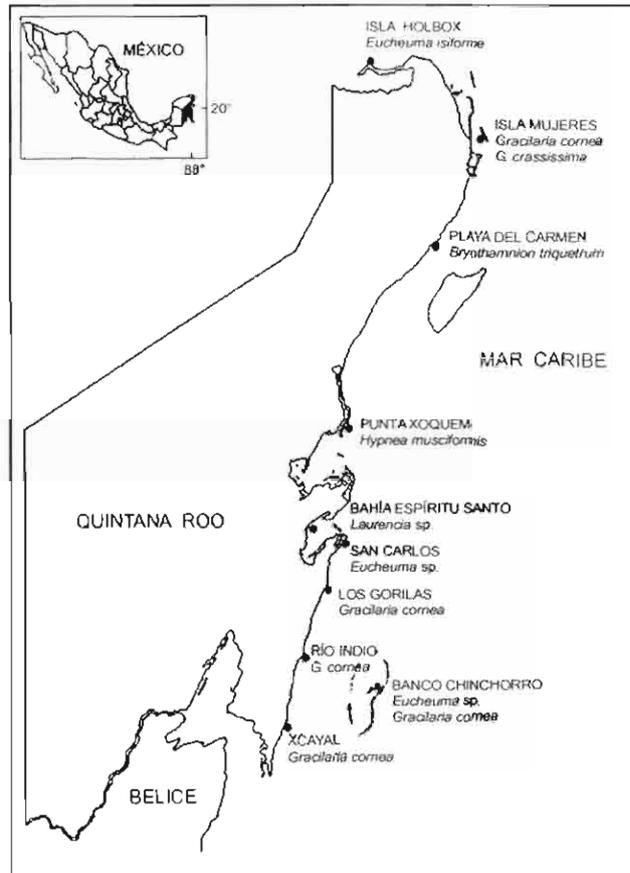


Figura 6.- Sitios y especies de algas rojas de interés comercial de la costa de Quintana Roo, México (J. Espinoza-Avalos, no publicado).

realizado por al menos un siglo, y estaba restringido a algunas personas dentro de grupos pesqueros y familias con arraigo en la costa (Espinoza-Avalos 1995a, 1995b).

El manto de macroalgas rojas con interés comercial más extenso encontrado en la prospección fue frente a Isla Mujeres, a 3-4 m de profundidad, en Bajo Pepito (Fig. 7). En el sitio las aguas son muy claras, el fondo del mar es irregular, con 3-4 m de profundidad, de arena gruesa y rocas calcáreas usualmente menores a 50 cm de diámetro, y está localizado en el Canal de Yucatán, donde existen corrientes fuertes ( $4 \text{ nudos} \approx 2 \text{ m s}^{-1}$ ), con dirección norte (Merino-

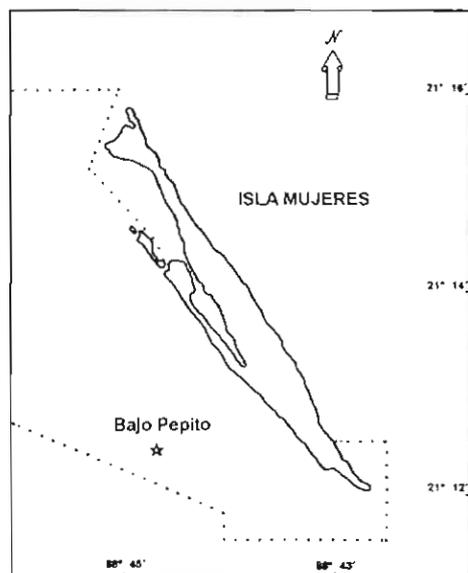


Figura 7.- Sitio de estudio (Bajo Pepito), ubicado al suroeste de Isla Mujeres, Quintana Roo, México. Los puntos indican parte del parque marino “Costa occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc”.

Ibarra, 1992). El manto algal estaba constituido las agarofitas *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. Ambas especies se han considerado con potencial para uso comercial, con base al rendimiento y calidad de su agar; la primera para las costas de Yucatán, México (Garza-Barrientos y González-Alanís 1981, Freile-Pelegín y Robledo 1997); las dos para otras zonas de la región caribeña (Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez 1964, Durairatnam 1980, Marinho-Soriano *et al.* 2001, Norris 1985a). El agar extraído de *G. crassissima* de isla Santa Lucía fue comparable o mejor que el agar comercial y la agarosa, el último de alta calidad (Lahaye *et al.* 1988). En esa misma isla, y otras de las Antillas Menores, ambas especies se han cultivado para consumo humano directo, en forma de bebida (Smith 1990, 1992, Smith *et al.* 1984). *Gracilaria cornea* también se ha cultivado experimentalmente en Venezuela, para extraer su agar (Rincones-León 1990).

Cabe mencionar que en las publicaciones anteriores, *Gracilaria cornea* se reportó también como *G. debilis*, *Hydropuntia cornea* y *Polycavernosa debilis*, mientras que *G. crassissima* se reportó como *H. crassissima* y *P. crassissima*, ésto debido a los cambios nomenclaturales relacionados a género y especie ocurridos con las dos agarofitas, y que se revisaron en el apartado Aspectos Taxonómicos de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*.

En el Marco Teórico y en de aspectos taxonómicos de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* se expuso que las diferencias interespecíficas en eventos fenológicos y ecológicos explican la coexistencia de plantas en un ecosistema. Esas diferencias adquieren mayor relevancia en el caso de especies que son morfológicamente muy similares o taxonómicamente cercanas.

Las diferencias intraespecíficas en eventos fenológicos son otro elemento que puede facilitar la coexistencia de organismos fotosintéticos (Moore *et al.* 1998). Si entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* existiera diferenciación fenológica y ecológica de acuerdo a la fase reproductiva de las plantas, ésta se sumaría a las diferencias interespecíficas, lo cual incrementaría la facilitación en la coexistencia de las dos especies en Bajo Pepito. En este trabajo, la diferencia entre fases reproductivas se evaluó separando la carpospórica del resto de plantas, las cuales contienen una mezcla de plantas femeninas no fertilizadas, masculinas, tetraspóricas y plantas vegetativas. Dentro de las Rhodophyta es común encontrar un alto porcentaje de plantas tetraspóricas (Espinoza-Avalos 1996a, Santelices 1990), por lo que probablemente la mezcla de fases reproductivas que en este estudio excluyó a la carpospórica, estaría representada principalmente por plantas tetraspóricas.

Los eventos fenológicos y ecológicos que se incluyeron en este estudio, para medir en plantas carpospóricas y las restantes para de cada especie de *Gracilaria*, fueron la crecimiento y el porcentaje de plantas en reproducción, y la biomasa, respectivamente.

La ecología reproductiva de las algas rojas no se conoce de manera suficiente (Kain y Norton 1990). Sin embargo, se conoce en general que la reproducción de macroalgas marinas (rojas, pardas y verdes) de aguas templadas y frías muestra una mayor estacionalidad, que aquellas que habitan zonas tropicales (Kain y Norton 1990). Por ejemplo, algunas especies Gracilariaceae de zonas cálidas llegan a presentar anualmente de dos a cuatro valores máximos de plantas reproductivas y en su biomasa, pero los factores que originan esos patrones de algas tropicales no son claros (DeCastro *et al.* 1991, Fredericq y Norris 1985, Hay y Norris 1984, Hoyle 1978a, Silva *et al.* 1987, Quan-Young 2004).

Tradicionalmente se ha considerado que la zona tropical presenta temperaturas estables (Doty 1979, McLachlan y Bird 1984). Sin embargo, la temperatura del agua en el Caribe Mexicano puede presentar variaciones anuales de 11 °C en lagunas costeras (Castellanos *et al.* 1994). Similarmente, en aguas costeras no lagunares se han registrado variaciones de 8 °C en dos días, a 1.5 m; y de 4.5 °C en tres días, a 3.5 m de profundidad (Salgado Peña 1995). La luz atmosférica y acuática del Caribe Mexicano también puede variar drásticamente, en horas. El cambio de un cielo despejado a otro nublado (con lluvia) reduce repentinamente la luz a la mitad (ver Resultados). Es posible que esas variaciones de las condiciones ambientales influyan en la fenología de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*.

En investigaciones de campo y de laboratorio se ha encontrado que los factores que pueden influir en aspectos fenológicos y ecológicos de las Gracilariaceae son la temperatura, salinidad, irradiación solar y nutrientes (DeCastro *et al.* 1991, Dawes 1987, Friedlander *et al.*

1991, Friedlander y Lipkin 1982, Friedlander y Zelikovitch 1984, Fujita y Goldman 1985, Lapointe 1981, Lapointe *et al.* 1984, McLachlan y Bird 1986, Oliveira y Alveal 1990, Penniman *et al.* 1986, Santelices y Doty 1989). Por ello, en este estudio se midieron esas variables, para ayudar a explicar los patrones fenológicos y ecológicos de *G. cornea* y *G. crassissima* de Bajo Pepito.

El propósito de esta parte del estudio es establecer si las diferencias fenológicas y ecológicas interespecíficas y por fase reproductiva ayudan a explicar la coexistencia estrecha de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, dos especies muy similares que se desarrollan bajo las mismas condiciones bióticas y abióticas de Bajo Pepito, Quintana Roo. Los resultados del estudio también se podrían utilizar eventualmente para realizar un cultivo racional de ambas especies, ya que tienen importancia económica potencial debido a su contenido de agar.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **BIOMASA**

Antes de llevar a cabo las colectas periódicas, se determinó el tamaño de muestra que se utilizaría para medir la biomasa en cada fecha de colecta. Sin embargo, primero se establecieron los límites espaciales, considerando las mediciones que se realizaron durante todo el estudio (30 m x 90 m). Para ello, con la ayuda de boyas a media agua el espacio se delimitó en las zonas A, B, C y D (Fig. 8), de acuerdo al tipo de colecta a realizar.

La biomasa de las plantas se obtuvo de la zona A. Para ello se fijaron 30 varillas enterradas en el fondo marino, separadas cada metro y ubicadas perpendicularmente a la dirección dominante de la corriente marina, NW. Las varillas fueron numeradas y cada fecha de colecta se seleccionaba al azar una con número par; ello para evitar cosechar algas en los mismos

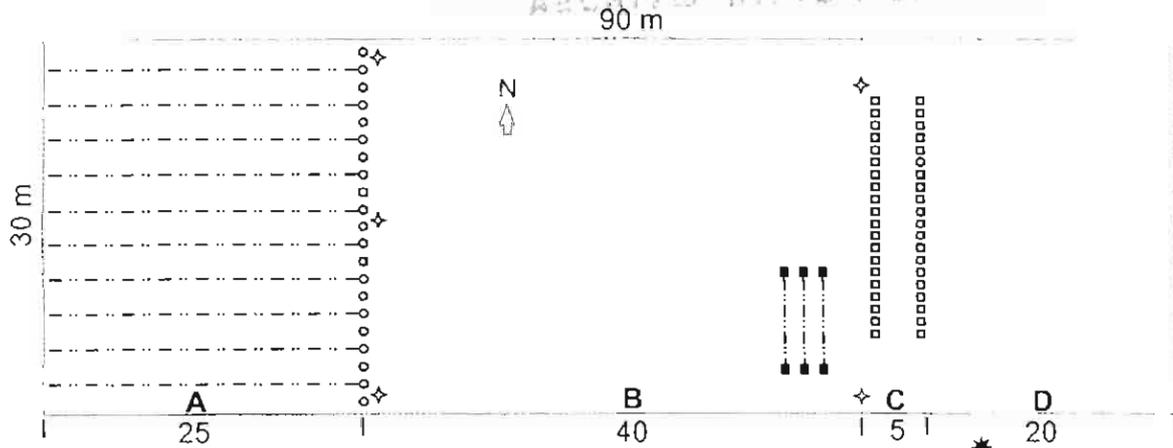


Figura 8.- Zonas de colecta en el sitio de estudio. A. Muestreo destructivo, para medir biomasa, C. Muestreo no destructivo, para medir densidad y tamaño de plantas, D. Muestreo semidestructivo, para coleccionar fragmentos y determinar fases reproductivas. Las estrellas de cuatro puntas indican boyas a media agua; la externa, una estructura de anclaje que se colocó para fijar la lancha en cada fecha de colecta.

transectos contiguos en fechas posteriores. Las fechas de colecta fueron en febrero 7, marzo 10, abril 14, mayo 16, junio 20, agosto 29, octubre 7 y noviembre 25 de 1997, y enero 14 de 1998. A partir de la varilla seleccionada, se orientó (NW, con una brújula marina) y se fijó sobre el fondo una cadena plástica de 25 m de largo. A lo largo de ese transecto se cosechó a todos los individuos de *Gracilaria* que se encontraron dentro de un cuadrante de aluminio de 1 m<sup>2</sup>, sumando un total de 25 m<sup>2</sup>. Las plantas fueron separadas bajo el agua, por especie, en *G. cornea* y *G. crassissima*, y por fase reproductiva, en plantas carpospóricas y el resto. Las primeras se reconocieron por el cistocarpo, estructura en forma de promontorio en la superficie algal y visible al ojo humano (Fig. 5c). Las restantes pudieron contener plantas tetraspóricas, masculinas, femeninas no fertilizadas (Fig. 5) e infértiles. Sin embargo, la mayor parte de esas

plantas fueron tetraspóricas, ya que para las Gracilariaceae esa fase llega a ser predominante (Hay y Norris 1984, ver Resultados de reproducción).

Después de cosechar las plantas, en una habitación de trabajo se les eliminó el agua externa con un pedazo de tela de algodón; luego se deshidrataron por un día a temperatura ambiente. Posteriormente, las plantas se secaron en el laboratorio a 60 °C por tres días, en una estufa Craft®, Modelo H-1400. Con los valores de peso seco, obtenidos por m<sup>2</sup> y por fase reproductiva de plantas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, se utilizó la fórmula:

$$n = s^2 / D^2 X^2$$

donde:

*n* es el tamaño de muestra, *s* la desviación estándar, *X* la media aritmética y *D* el error aceptable. Como guía general, 20% es una exactitud aceptable para muestras del bentos (Elliot 1978, en DeWreede 1985).

De acuerdo a los resultados (Tabla 2), el tamaño de muestra para estimaciones de biomasa varió entre 10 y 34 cuadrantes, de acuerdo a si se consideró a la biomasa total o a las fases reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima*. La decisión que se tomó sobre el tamaño de muestra para la colecta de biomasa mensual fue utilizar el gran promedio (25 cuadrantes) de los cinco valores obtenidos.

## DENSIDAD

La misma fórmula utilizada para las mediciones de biomasa se empleó para definir el tamaño mínimo de muestra para cuantificar la densidad de plantas. Para ello se marcaron 20 cuadrantes fijos de 1 m<sup>2</sup>, con varillas metálicas, a lo largo de una franja perpendicular a la corriente dominante (NW) del agua (zona C, Fig. 8). Esta franja se ubicó a 50 m al Sur de la

Tabla 2.- Biomasa (g peso seco) por cuadrante (1 m<sup>2</sup>), para obtener el tamaño de muestra (número de cuadrantes = **n**) necesario para un muestreo representativo de *Gracilaria crassissima* y *G. cornea*. Determinación de biomasa con base a la fase reproductiva (carpospórica = CARPOS y las restantes plantas = RESTO) y por biomasa total de cada especie.

CUADRANTE	BIOMASA				TOTAL
	<i>G. crassissima</i>		<i>G. cornea</i>		
	CARPOS	RESTO	CARPOS	RESTO	
1	16.8	3.4	11.0	4.4	35.6
2	7.5	2.0	7.2	0.0	16.7
3	3.1	2.4	0.4	5.3	11.2
4	1.4	18.2	1.0	1.3	21.9
5	0.0	23.5	6.7	9.6	39.8
6	5.7	12.0	8.4	21.1	47.2
7	0.1	13.9	0.0	0.0	14.0
8	2.0	6.2	3.5	40.8	52.5
9	0.0	1.5	2.0	10.9	14.4
10	0.0	0.0	11.5	11.9	23.4
11	1.7	2.4	0.0	5.7	9.8
12	3.4	1.7	4.2	0.6	9.9
13	0.9	28.6	9.7	12.2	51.4
14	8.3	11.6	0.0	37.6	57.5
15	4.0	23.3	4.2	10.1	41.6
16	0.4	1.0	0.0	16.4	17.8
17	0.2	4.2	3.2	7.0	14.6
18	1.9	12.0	0.0	0.8	14.7
19	3.3	6.2	4.1	0.0	13.6
20	3.3	8.1	5.1	52.7	69.2
21	1.6	32.8	7.6	0.0	42.0
22	1.0	4.5	0.4	11.5	17.4
23	2.8	10.7	1.2	11.6	26.3
24	0.6	9.0	0.0	15.7	25.3
25	5.7	39.0	0.8	28.3	73.8
Promedio	3.0	11.1	3.7	12.6	30.5
Desv. estándar	3.7	10.7	3.8	13.9	19.2
<b>n</b>	34	23	29	30	10
<b>n</b>					
<b>Promedio</b>					<b>25</b>

zona de colecta de biomasa. En cada cuadrante se contaron todas las plantas visibles a simple vista.

El número de plantas encontrado en cada uno de los 20 cuadrantes fijos fue de:

0, 0, 0, 2, 2, 2, 14, 4, 8, 3, 7, 0, 3, 1, 1, 7, 0, 8, 1 y 1.

Con esos datos se obtuvo:

$$X = 3.2, s = 3.8, n = 35$$

Dado el resultado anterior, se decidió aumentar el número de cuadrantes fijos a 40, ya que para este análisis no se diferenció entre especies y fases reproductivas, lo que probablemente hubiera incrementado el tamaño de muestra, según los resultados que se obtuvieron en el muestreo prospectivo de biomasa. Por ello, se establecieron otros 20 cuadrantes permanentes, ubicados en una franja paralela y separada 3 m de los primeros 20 cuadrantes (Fig. 8). Los muestreos mensuales subsiguientes se efectuaron en los 40 cuadrantes permanentes.

## TALLA

Se midió la talla de todas las plantas de *G. cornea* y *G. crassissima* encontradas en los cuarenta cuadrantes permanentes establecidos para medir la densidad de plantas. Se utilizó una regla de aluminio graduada en milímetros para medir desde la base de la planta hasta la parte apical de la ramificación más grande. Para el caso de *G. crassissima*, en ocasiones se midió el ancho del talo, ya que frecuentemente presentó una forma postrada, en vez de erecta.

## REPRODUCCIÓN

En cada fecha de muestreo se utilizó buceo autónomo para coleccionar entre 32 y 50 (promedio = 47) fragmentos apicales por especie, de 5-7 cm de longitud, los cuales se preservaron en formol al 4 % con agua de mar. Estos fragmentos fueron cortados de plantas creciendo en la zona D, previamente delimitada en el campo (Fig. 8). Las fechas de colecta fueron el 7 de febrero, 9 de marzo, 11 de abril, 17 de mayo, 18 de junio, 1 de agosto, 9 de octubre, 27 de noviembre de 1997 y 17 de enero de 1998. Las plantas usadas para la colecta fueron aquellas encontradas a lo largo de un trayecto de buceo al azar. En el laboratorio se realizaron manualmente más de 10 cortes transversales de cada fragmento de planta, de los cuales se seleccionaron al menos 10 de los mejores, con la ayuda de un microscopio estereoscópico. En la mayoría de las ocasiones los fragmentos seleccionados se colocaron en preparaciones permanentes, con gelatina glicerinada-fenol, y después se observaron con la ayuda de un microscopio compuesto. En otros casos, la observación fue en preparaciones con agua, las cuales se eliminaron después de ser observadas. Las fases reproductivas identificadas incluyeron la tetraspórica, carpospórica (femenina fertilizada), masculina (Fig. 5) y estéril o vegetativa.

## VARIABLES AMBIENTALES

La temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto del agua de mar se midió cada dos horas, por medio de una sonda submarina (DataSonde 3), la cual almacena los datos en una memoria, y que se colocó en el fondo marino con la ayuda de una estructura cuadrada de concreto, construida previamente. La estructura de tres piezas armables pesaba aproximadamente 300 kg; en cada lado tenía incrustados tubos metálicos de 4 cm de diámetro. La misma estructura

se utilizó como sistema de anclaje para lancha, y se ubicó en la parte externa de la zona D del espacio de estudio (Fig. 8).

La radiación fotosintéticamente activa, tanto atmosférica como en el fondo marino se midió con un radiómetro LI-COR 1000, el cual tiene capacidad de almacenar los datos. La concentración de fosfatos, nitratos y nitritos disueltos en el agua se midió en cada muestreo, por triplicado, siguiendo las técnicas colorimétricas indicadas por Strickland y Parsons (1972). Las muestras fueron colectadas en tres recipientes de plástico, entre las 15:00 y 17:00 h, transportadas en hielo y analizadas dentro de las 2-3 h siguientes. La velocidad de la corriente se midió utilizando un transportador construido de acrílico, con un nivel adherido en la base y una pelota flotante de ping-pong sujeta al centro del transportador por medio de una cuerda. Para determinar la velocidad de la corriente se empleó la fórmula  $s = 0.85 (\tan \theta)^{1/2}$ , donde  $s$  es la velocidad de la corriente en  $m s^{-1}$  y  $\theta$  es el ángulo de inclinación de la cuerda movida por la corriente (Foster *et al.* 1985).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para llevar a cabo las pruebas estadísticas y las gráficas correspondientes a cada medición biológica considerada en este trabajo, así como de los factores ambientales, las diferencias en las características químicas del agar y en el ensayo de limitación de nutrientes, se utilizó el programa STATISTICA®.

## RESULTADOS

### BIOMASA

Los valores promedio obtenidos mensualmente durante el periodo de estudio indican que la biomasa de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* variaron desde casi cero a 28 gramos de peso seco por m<sup>2</sup>, encontrándose diferencias notables en sus patrones (Fig. 9a, 9b). Los valores

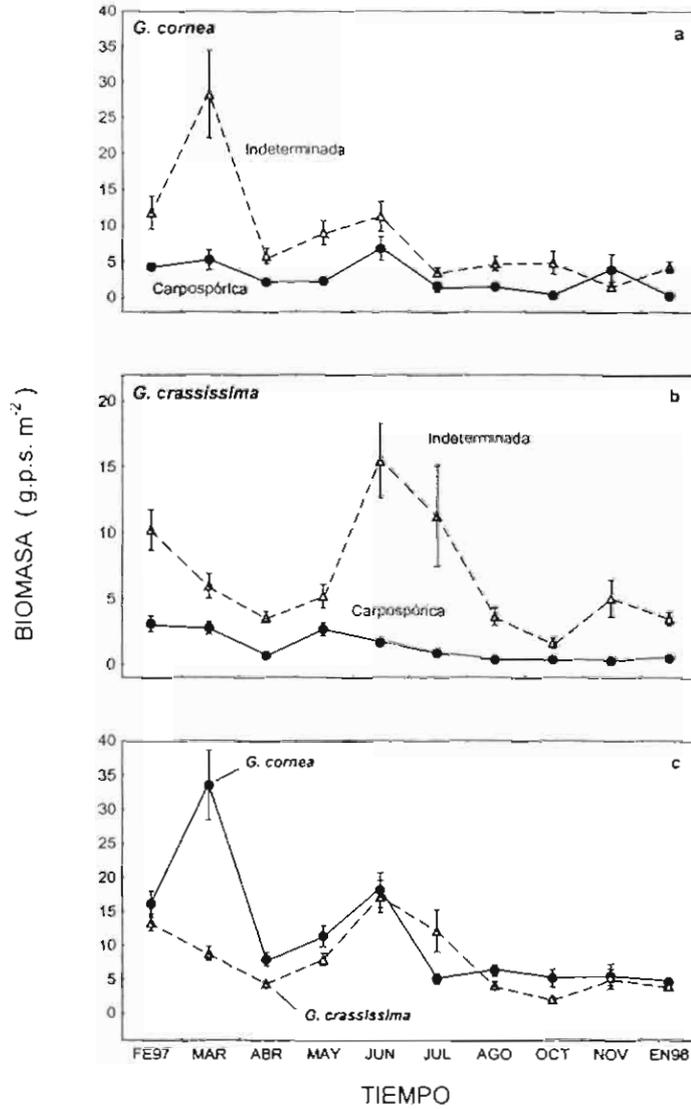


Figura 9.- Biomasa promedio mensual por fase reproductiva de *Gracilaria cornea* (a), *G. crassissima* (b), y el conjunto de ambas categorías por especie (c), en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. En cada especie se muestra la biomasa de plantas carpospóricas (●) y las del resto de fases reproductivas, indeterminada (△). Las barras indican el error estándar. Notar diferencia en las escalas.

máximos de ambas especies ocurrieron desfasados en el tiempo: en marzo para la primera especie y en junio para la segunda (Fig. 9c). *G. cornea* presentó otro valor máximo de biomasa en junio, pero la mitad del presentado en marzo (Fig. 9c). La fase reproductiva carpospórica fue menos abundante que las del resto dentro de cada especie ( $p < 0.005$ ; Fig. 9a, 9b), lo mismo que cuando se sumaron las categorías de ambas especies ( $p < 0.001$ , no se muestra la figura). También, las plantas carpospóricas mostraron menores variaciones en el tiempo que las del resto de plantas (Fig. 9a, 9b).

## TALLA

La talla promedio de *Gracilaria cornea* fue significativamente mayor que la talla de *G. crassissima* a lo largo del periodo de estudio ( $p < 0.007$ ): para la primera especie todos los valores promedio fueron mayores a 8.0 cm, mientras que para la segunda, todos los valores fueron menores a ese valor (Fig. 10a). Visto de otra manera, *G. cornea* presentó una mayor frecuencia de plantas mayores de 15 cm que *G. crassissima*, mientras que la segunda especie mostró mayor número de plantas iguales o menores a 10 cm (Fig. 10b). El mayor número de plantas en las clases de tamaño grande de *G. cornea*, y el mayor número de plantas en las clases de tamaño chico de *G. crassissima*, originó que la talla promedio del total ( $n = 797$ ) de plantas medidas de la primera especie fuera dos veces mayor que la talla del total ( $n = 1669$ ) de plantas medidas de la segunda: 11.3 cm vs. 5.6 cm. Ninguna de las dos especies mostró valores máximos de talla pronunciados a lo largo del periodo de estudio, y siguieron un patrón similar a lo largo del tiempo (Fig. 10a).

## DENSIDAD

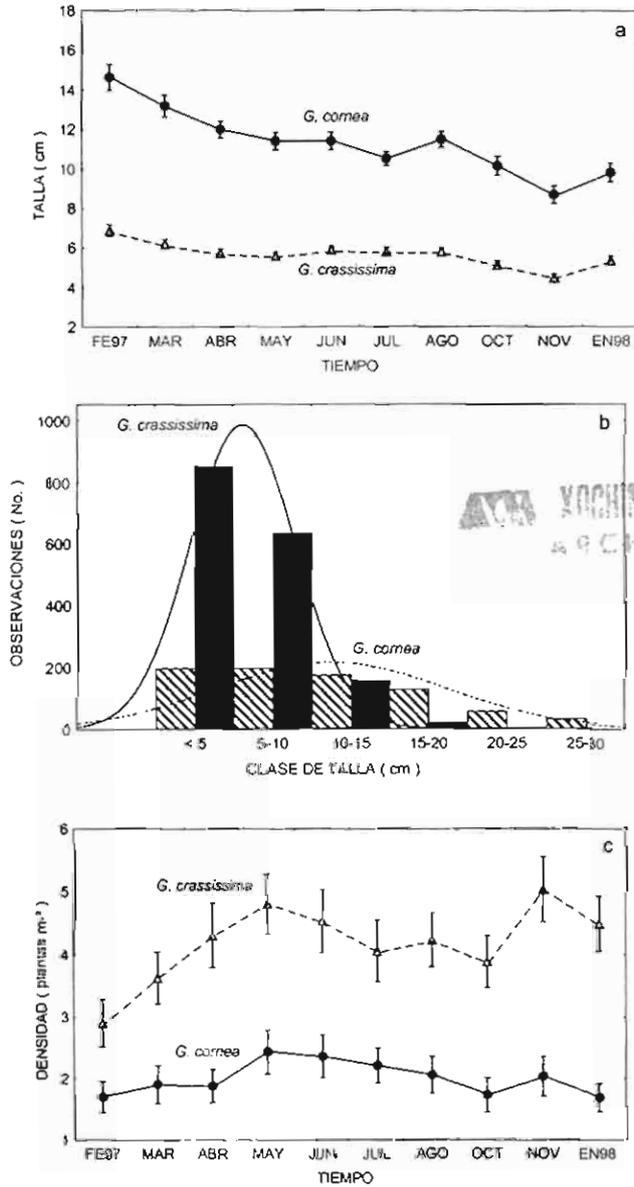


Figura 10.- Talla (a), distribución de clases de talla (b; n = 797 y n =1669) y densidad (c) de *Gracilaria cornea* (●) y *G. crassissima* (△), respectivamente. Las barras indican el error estándar.

La densidad de plantas de *Gracilaria crassissima* fue el doble que el de *G. cornea*, aunque esa diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ , Fig. 10c). Las dos especies

siguieron a lo largo del tiempo un patrón similar. El intervalo de densidad promedio de plantas de *G. crassissima* fue de 2.9 a 5.0 plantas m<sup>-2</sup>, mientras que para *G. cornea* fue de 1.7 a 2.4 plantas m<sup>-2</sup>. *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* no mostraron valores máximos de talla a lo largo del periodo de estudio (Fig. 10a); pero aparentemente, *G. crassissima* presentó dos valores máximos de densidad, en mayo y noviembre, (Fig. 10c). Sin embargo, ningún valor promedio de densidad de ambas especies de *Gracilaria* fue significativamente diferente ( $p < 0.90$ ) entre sí.

## REPRODUCCIÓN

La gran mayoría de plantas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* se presentaron en reproducción a lo largo del periodo de estudio; pocas fueron las que se encontraron estériles o vegetativas (Fig. 11). La fase reproductiva dominante fue la tetraspórica: en la mitad de los meses la reproducción por esta fase fue mayor o alrededor de 80%, y en una ocasión del 100% (julio de 1997, en *G. crassissima*). Cabe hacer notar que la mayoría de los tetrasporangios se encontraron inmaduros; esto es, no estaban divididos. El resto de fases reproductivas se presentó en general con un bajo porcentaje (Fig. 11). Fases mezcladas (masculina con tetrasporangios), en una misma planta, se encontraron en dos meses, tanto para *G. cornea*, como para *G. crassissima* (Fig. 11 y 12).

Los patrones reproductivos de *G. cornea* y *G. crassissima* no difirieron de manera dramática, ni presentaron valores máximos notables de reproducción (Fig. 11). Sin embargo, entre los patrones reproductivos de ambas especies se notaron algunas diferencias: la dominancia de plantas tetraspóricas fue más clara en *G. crassissima* que en *G. cornea*; las plantas tetraspóricas de *G. cornea* mostraron una tendencia de mayor reproducción para el mes de julio, y un menor porcentaje antes y después de ese mes. Sin embargo, en *G. crassissima* esta fase

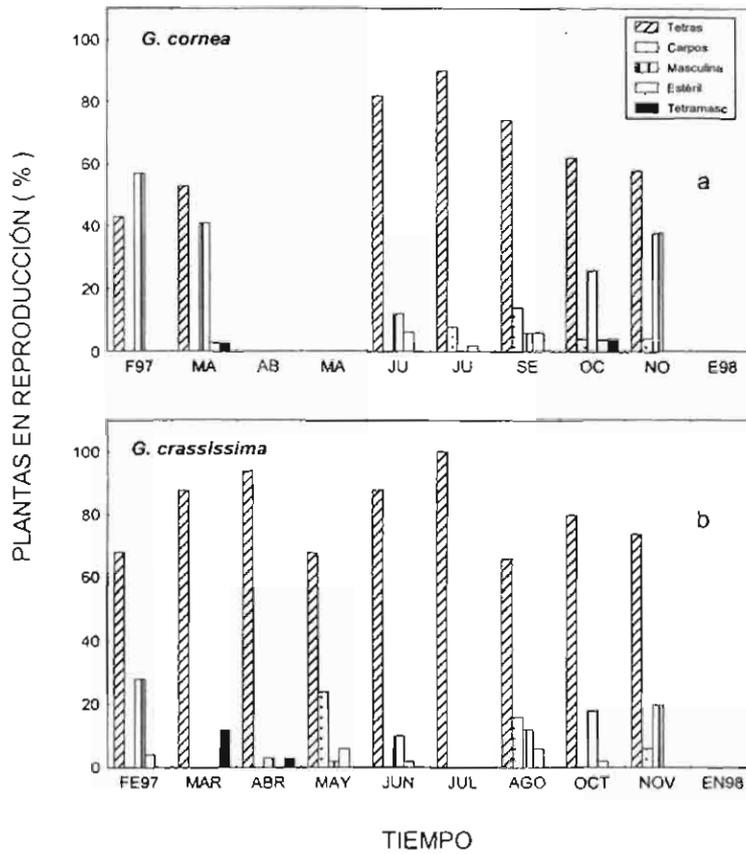


Figura 11.- Reproducción de plantas de *Gracilaria cornea* (arriba) y *G. crassissima* (abajo) de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Se incluyen plantas tetraspóricas (“tetras”), carpospóricas (“carpos”), masculinas, estériles y aquellas con mezcla de fases reproductivas tetraspórica y masculina (“tetramasc”).

reproductiva mostró un patrón irregular (Fig. 11). Adicionalmente, las plantas masculinas se presentaron en mayor proporción en *G. cornea* que en *G. crassissima*, llegando a tener en la primera especie mayor porcentaje que las tetrasporofitas en febrero de 1997 (57% vs. 43%). Por otra parte, en *G. cornea* se observó una correlación negativa, altamente significativa, entre plantas tetraspóricas y masculinas ( $r^2 = 0.92$ ,  $p < 0.001$ ). Por ejemplo, cuando las plantas tetraspóricas fueron más numerosas (en julio), no se presentaron plantas masculinas. En contraparte, cuando

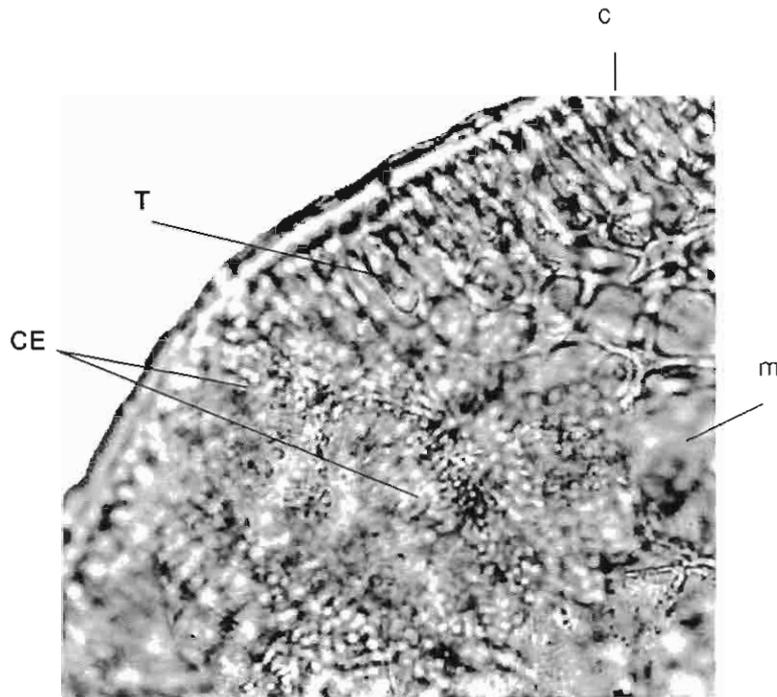


Figura 12.- Corte transversal de una planta de *Gracilaria crassissima* mostrando un tetrasporangio (T) y un conceptáculo espermatangial (CE), además de células corticales (c, fuera de foco) y medulares (m). Foto por H. Baena Basave.

las plantas tetraspóricas fueron mínimas (febrero de 1997), la abundancia de las masculinas fue máxima (Fig. 11). Para el caso de *G. crassissima* la correlación entre plantas tetraspóricas y masculinas fue muy baja ( $r^2 = 0.25$ ) y no significativa ( $p < 0.10$ ). Cabe hacer notar que en la Fig. 11 no se muestran los datos de abril y mayo, para *G. cornea*, y de enero de 1998, para ambas especies, ya que las muestras de esos meses se extraviaron. Por ello, las correlaciones y tendencias anteriores son un tanto tentativas.

#### VARIABLES AMBIENTALES

Los datos de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el agua se muestran en la Fig.

13. La gráfica no muestra datos a lo largo de todo el estudio, debido a problemas que se tuvieron con la sonda submarina. Sin embargo, puede observarse que en el Caribe Mexicano ocurren cambios irregulares notables en las variables ambientales. Por ejemplo, en el caso de la temperatura (Fig. 13a) ocurrieron cambios de 3.0 °C en tres días (24-27 de abril), de 4.8 °C en 12 h (16 de mayo) y de 3.0 °C en 4 días (7-11 de junio). Para la salinidad (Fig. 13b), se registraron

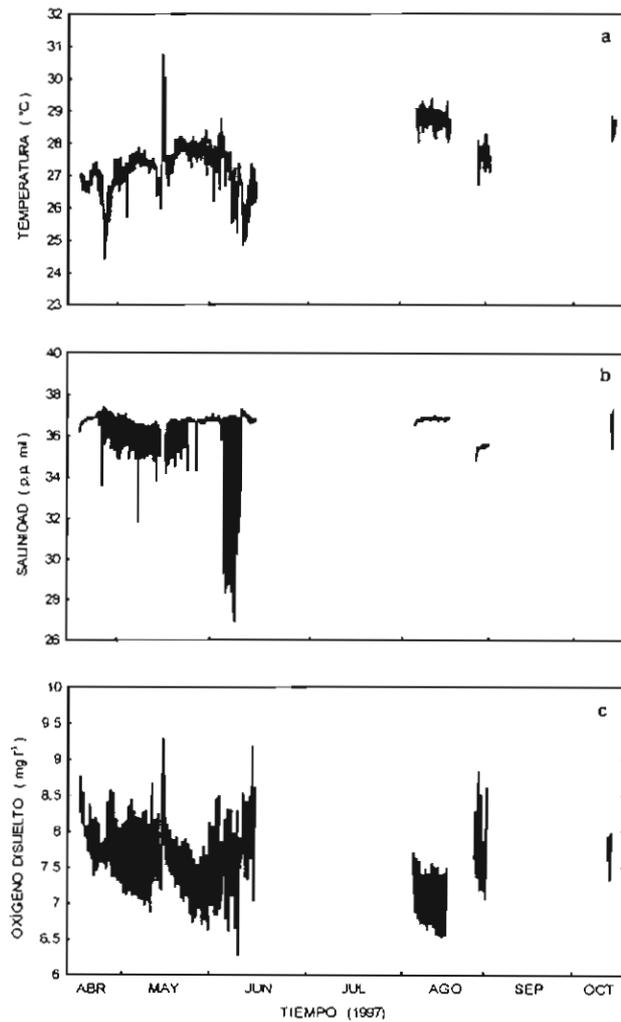


Figura 13.- Temperatura (a), salinidad (b) y oxígeno disuelto (c) en el agua de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Los espacios sin datos fueron causados por problemas con la sonda utilizada para la obtención de mediciones.

cambios de 3.6 ‰ en 10 h (26 de abril), de 4.8 ‰ en 4 h (8 de mayo) y hasta de 10 ‰ entre los días del 6 al 9 de junio; esto cuando en la zona de estudio ocurre la época de lluvias. Los cambios de oxígeno disuelto (Fig. 13c) también fueron notorios, generalmente inversos a los valores de temperatura.

En cuanto a la luz, también se registraron cambios drásticos, con descensos o incrementos de los valores en un orden de magnitud durante los días del 13 al 16 de octubre (Fig. 14). Estos cambios de luz fueron originados por la presencia o ausencia de nubes, relativamente muy bajas y oscuras, las cuales se desplazan rápidamente en el cielo del área de estudio (obs. per.). Los resultados dejan claro que durante lapsos en los periodos de lluvia existe una disminución considerable de la luz en el agua de mar.

Las mediciones de luz (no continuas) que se midieron de junio de 1997 a enero de 1998 muestran por lo general que los valores de luz atmosférica estuvieron por arriba de los 1500  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y los del agua (a 4 m de profundidad) mayores de 1000  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 15a). Al llegar la luz atmosférica al fondo marino de Bajo Pepito se perdió aproximadamente 36 %; esto es, son aguas claras. Cabe mencionar que para facilitar el trabajo de campo relacionado a las variables biológicas, los días de las mediciones de luz generalmente coincidieron con días sin lluvia, por lo que las mediciones de la figura 15a no reflejan las variaciones drásticas de luz que se llegan a presentar en el sitio de estudio (Fig. 14).

La concentración promedio, tanto de nitratos (+ nitritos) como de fosfatos disueltos en el agua, fue muy baja (menor de 0.6  $\mu\text{M}$  a lo largo del estudio), lo que pone de manifiesto la condición oligotrófica de Bajo Pepito (Fig. 15b). La concentración de los dos compuestos fue un tanto similar a lo largo del año, y fue posible identificar dos valores máximos, tanto para

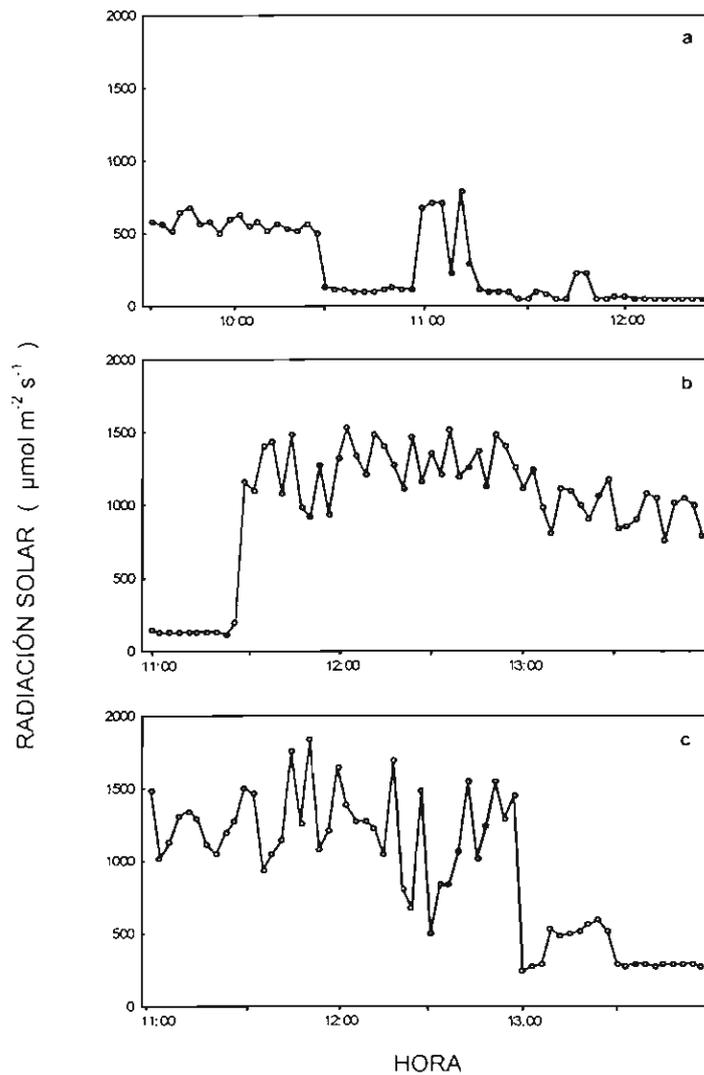


Figura 14.- Variaciones de radiación solar acuática durante los días 13 (a), 15 (b) y 16 (c) de octubre de 1997, en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo.

nitratos (en mayo y agosto), como para fosfatos (en febrero y octubre de 1997).

La velocidad de la corriente siempre fue mensurable: nunca hubo calma (Fig. 15c). En términos prácticos, velocidades de  $0.4 \text{ m s}^{-1}$  o mayores siempre dificultaron las horas de trabajo de los varios días que se ocupaban para realizar todas las actividades que se programaron en este estudio.

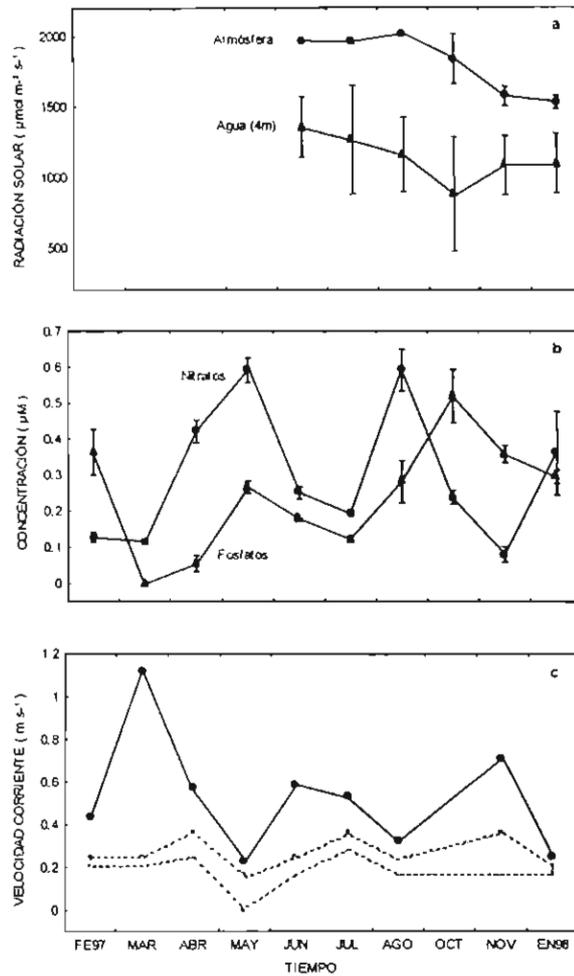


Figura 15.- Irradiación solar atmosférica y acuática (a), concentración de nitratos (+ nitritos) y fosfatos disueltos (b) y velocidad de la corriente del agua de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. La velocidad de la corriente se muestra como el rango predominante a la hora del muestreo (sombreado), lo mismo que el valor máximo. En su caso, las barras indican el error estándar.

## DISCUSIÓN

Las diferencias de biomasa entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* a lo largo del tiempo (Fig. 9c) representa un aspecto ecológicamente importante que puede ayudar a explicar su coexistencia en Bajo Pepito. Así, las dos especies tienen el valor máximo de biomasa en tiempos

desfasados: primero *G. cornea* (marzo) y luego *G. crassissima* (junio). Durante esa co-ocurrencia, sin embargo, *G. cornea* alcanzó mayor biomasa que *G. crassissima* (Fig. 9c). Es posible que el desfase en la biomasa de las dos especies indique que ambas usan los recursos disponibles de manera diferencial. La contribución de las diferencias de biomasa en la coexistencia de las dos especies de *Gracilaria* en Bajo Pepito, Quintana Roo, es similar a la coexistencia originada por variaciones en la biomasa de plantas vasculares del desierto de Chihuahua, reportada por Pickering *et al.* (1996). Sin embargo, a diferencia del trabajo realizado por esos autores, en este estudio las dos especies de *Gracilaria* comparten un mayor número de atributos morfológicos y reproductivos (Bird *et al.* 1986, Fredericq y Norris 1985), por lo que el estudio de su coexistencia puede ser relativamente más relevante.

Después de Whyte *et al.* (1981), este trabajo ficológico representaría el segundo donde se registran diferencias de biomasa a lo largo de un año, de acuerdo a la fase reproductiva de las plantas (Fig. 9a, 9b). De esta manera, la suma de diferencias interespecíficas y por fase reproductiva en la biomasa de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* probablemente facilita la coexistencia de ambas especies en Bajo Pepito, Quintana Roo. Así, la facilitación de la coexistencia por diferencias por fase reproductiva se asemejaría a la sugerida para cianobacterias (Moore *et al.* 1998), bacterias (Kashiwagi *et al.* 1998) y en modelos teóricos (Ekschmitt y Breckling 1994).

La información de biomasa apoya las hipótesis 1 y 2, en el sentido que diferencias ecológicas entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* y entre sus fases reproductivas les ayudaría a coexistir.

Los valores promedio tan bajos de biomasa por unidad de área que se registraron en este estudio ponen en claro que *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* no soportarían una cosecha con

propósitos comerciales. Los valores registrados, sin embargo, son similares a los datos reportados para *G. heteroclada* Zhang *et* Xia, de aguas cálidas (Filipinas; Luhan 1996), pero hasta un orden de magnitud menor que *G. bursa-pastoris* (Gmelin) Silva del Mar Mediterráneo (Marinho-Soriano 1999) y de otra especie no identificada de Filipinas (DeCastro *et al.* 1991).

Cabe destacar que durante el periodo en que las dos especies de *Gracilaria* alcanzaron sus valores máximos de biomasa (de febrero a junio, (Fig. 9c), la cobertura del resto de la comunidad algal fue relativamente baja (entre 19.7 y 31.5 %, Quan Young 1999). De manera complementaria, cuando la biomasa de ambas especies disminuyó visiblemente (de julio a enero, Fig. 9c), la cobertura del resto de macroalgas fue relativamente mayor (entre 38.4 y 47.8 %). En otras palabras, *G. cornea* y *G. crassissima* pudieron tener un mejor desarrollo cuando existieron menores interacciones biológicas con el resto de la comunidad algal. En contraparte, cuando las interacciones disminuyeron, las dos especies alcanzaron su máxima biomasa; sin embargo, primero una (*G. cornea*) y luego la otra (*G. crassissima*), aparentemente repartiéndose los recursos disponibles en el agua.

La talla de *Gracilaria cornea* fue claramente mayor que la de *G. crassissima*, resultado que no fue evidente en las descripciones morfológicas registradas en otros estudios (Littler y Littler 1997, Taylor 1960, Tabla 1). Por otra parte, no es claro como estas diferencias en el tamaño pudieran ayudar a la coexistencia de las dos especies, a menos que una (*G. cornea*, la más grande) tuviera mayores requerimientos de luz que la segunda (*G. crassissima*, más chica). De hecho, en ocasiones la segunda especie se encuentra debajo de la primera, donde existiría menos luz, y frecuentemente se encontró pigmentación (¿de protección?) blanquecina en el talo de *G. crassissima*, sobre todo en las partes orientadas hacia los rayos solares. Es decir, existe la posibilidad de que la saturación de luz de *G. crassissima* ocurra a irradiancias menores que para

*G. cornea*. Entonces, se sugiere que el recurso luz es utilizado diferencialmente por estas especies. Ese eventual uso diferencial de la luz por ambas especies de *Gracilaria* ayudaría a su coexistencia, ya que una podría usar preferencialmente las irradiancias altas; la otra las bajas. Los requerimientos diferenciales de luz como elemento que facilita la coexistencia ya fue propuesta por Moore *et al.* (1998) para microorganismos fotosintéticos. Sin embargo, la comprobación de esta hipótesis para el caso de las dos especies de *Gracilaria* se encuentra fuera de los objetivos de este trabajo.

La talla y la biomasa registradas en este estudio para *Gracilaria cornea* del Caribe Mexicano fueron contrastantes en comparación a las encontradas para esa especie en el golfo de México (Yucatán) por Orduña-Rojas y Robledo (2002). En el golfo las plantas fueron mayores (hasta 21.0 cm vs. 14.6 cm) y alcanzaron mayor biomasa (hasta 57.4 g m<sup>-2</sup> vs. 16.8 g m<sup>-2</sup>). Una mucho mayor concentración de nitratos (hasta 9.1 µM; Orduña-Rojas *et al.* 2002) en el golfo que en el caribe (hasta 0.59 µM), seguramente pudieron causar las diferencias en el tamaño y en la biomasa de *G. cornea* a ambos lados de la península de Yucatán. Otra diferencia contrastante entre las dos zonas fue que mientras en el Caribe Mexicano las plantas de *G. cornea* alcanzaron su máxima biomasa (de febrero a junio), en el golfo fue mínima, y cuando los valores fueron máximos en el golfo (julio a septiembre), en el caribe se registraron los valores menores.

Los valores promedio de densidad registrados para *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, entre 1.7 y 5.0 plantas m<sup>-2</sup> (Fig. 10), se encuentran en el mismo orden de magnitud que la densidad de especies de Gracilariaceae de ambientes tropicales, pero un orden de magnitud menor a la densidad de algunas especies de aguas templadas (con la excepción *Gracilaria* sp.1 de Hay 1981, Tabla 3). Una probable explicación a esta diferencia de densidad de plantas es la presencia casi monoespecífica que frecuentemente ocurre para especies de Gracilariaceae de ambientes

templados (Dellarosa *et al.* 1980) y multiespecífica en aguas tropicales. Por ejemplo, en Bajo Pepito se registraron 166 taxa de macroalgas durante el periodo de muestreo (Quan Young *et al.* 2004), número muy alejado de mantos templados casi monoespecíficos.

Tabla 3.- Densidad (plantas m<sup>-2</sup>) de especies de Gracilariaceae de ambientes templados (Te) y tropicales (Tr). Para la nomenclatura de las especies se siguió a Bird y Kain (1995).

ESPECIE	AMBIENTE	DENSIDAD (plantas m <sup>-2</sup> )	REFERENCIA
<i>G. chilensis</i> Bird, McLachlan & Oliveira <sup>1</sup>	Te (Chile)	6-36	Dellarosa <i>et al.</i> 1980
<i>Gracilaria</i> sp.	Te (Chile)	2-40	Pizarro 1986, en McLachlan y Bird 1986
<i>G. tikvahiae</i> McLachlan	Te (Canadá)	3-7	Bird 1976, en McLachlan y Bird 1986
<i>G. blodgettii</i> Harvey <sup>2</sup>	Tr (Panamá)	0.3-1.9 <sup>3</sup>	Hay y Norris 1984
<i>G. blodgettii</i> Harvey <sup>2</sup>	Tr (Panamá)	0.2 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>G. cuneata</i> Areschoug	Tr (Panamá)	0.4-1.1	Hay y Norris 1984
<i>G. cuneata</i> Areschoug	Tr (Panamá)	1.2 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>G. domingensis</i> (Sonder)	Tr (Panamá)	0.5-1.3	Hay y Norris 1984
<i>G. domingensis</i> (Sonder)	Tr (Panamá)	2.9 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>Gracilaria</i> sp. 1	Tr (Panamá)	3.5-8.3	Hay y Norris 1984
<i>Gracilaria</i> sp. 2	Tr (Panamá)	1.1-1.7	Hay y Norris 1984
<i>Gracilaria</i> sp. 3	Tr (Panamá)	0.3-1.9	Hay y Norris 1984
<i>Gracilaria</i> sp. 1	Tr (Panamá)	17.4 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>Gracilaria</i> sp. 2	Tr (Panamá)	3.6 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>Gracilaria</i> sp. 3	Tr (Panamá)	2.5 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>Gracilaria</i> sp. 4	Tr (Panamá)	0.5 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>Gracilaria</i> sp. 5	Tr (Panamá)	1.7 <sup>4</sup>	Hay 1981
<i>Gracilaria</i> sp.	Tr (Tobago)	1.0-6.1	Cheong 1990
<i>G. cornea</i> J. Agardh	Tr (México)	1.7-2.4	Este estudio
<i>G. crassissima</i> P. Crouan <i>et H.</i> Crouan in Schramm <i>et Mazé</i>	Tr (México)	2.9-5.0	Este estudio

<sup>1</sup>Como *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss, <sup>2</sup>como *G. cylindrica* Børgesen, <sup>3</sup>datos de la Fig. 5, <sup>4</sup>calculada de su Tabla 1.

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* no mostraron una estacionalidad reproductiva marcada con respecto al número de plantas en reproducción; más bien hubo plantas reproductivas a lo largo de todo el periodo de muestreo (Fig. 11). Tal vez este resultado no refleja la actividad reproductiva de las dos especies de *Gracilaria*: plantas reproductivas a lo largo del año también se encontraron para el alga roja *Gelidium robustum* (Gardner) Hollenberg y Abbott, tanto en California (EE.UU.) como en Baja California (México), en el Océano Pacífico, lo cual originó que Santelices (1988) y Espinoza-Avalos (1996a) opinaran que esa alga roja no presentaba estacionalidad reproductiva. Sin embargo, en otro estudio realizado con *G. robustum* de California, Melo y Neushul (1993) sí notaron una marcada estacionalidad reproductiva cuando cuantificaron el porcentaje de tejido reproductivo por planta, y el número de soros esporangiales por ramas esporangiales. De manera similar, Phang *et al.* (1996) reportaron que (como en este estudio) todo el año se encontraron plantas carpospóricas de *G. changii* (Xia *et* Abbott) Abbott, Zhang *et* Xia; sin embargo la liberación de carposporas ocurrió en dos periodos de tiempo definidos. Por su parte, Umamaheswara-Rao (1976) también reportó dos épocas de máxima liberación de terasporas y carposporas de *G. corticata* a lo largo de un año. Esto es, la sola presencia de plantas con estructuras reproductoras no necesariamente corresponde a eventos de liberación de propágulos (Kain y Destombe 1995). De acuerdo a lo anterior, la falta de estacionalidad en la ocurrencia de plantas reproductivas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, no niega la posibilidad de que se presenten valores máximos de actividad reproductiva.

Es relevante mencionar que el método seguido en este trabajo para registrar valores máximos reproductivos, en función del porcentaje de plantas con estructuras reproductoras, no es necesariamente incorrecto. Por ejemplo, Quan Young (1999) siguió el mismo método para otras

macroalgas de Bajo Pepito, al mismo tiempo que se estudiaron las dos especies de *Gracilaria*, y encontró que seis de nueve especies presentaron más de un valor máximo de reproducción. De manera similar, Hay y Norris (1984) encontraron que seis especies de *Gracilaria* también presentaron dos valores máximos de plantas reproductivas. Tales especies se encuentran en la península de Yucatán (en Belice), relativamente cerca de nuestra zona de estudio. Es decir, aunque el método seguido para aspectos reproductivos en este estudio no permitió detectar estacionalidad reproductiva, es claro que en otras especies sí ha sido posible detectarla siguiendo el mismo método al que se utilizó en este estudio.

Con relación a la fenología reproductiva de *G. cornea* y *G. crassissima*, se notaron algunas diferencias entre ambas especies: 1. una tendencia de presentar un valor máximo de porcentaje de plantas con presencia de estructuras reproductivas en *G. cornea*, pero no en *G. crassissima*, 2. mayor número de plantas masculinas en *G. cornea* que en la segunda especie (Fig. 11) y 3. una alta correlación negativa entre plantas masculinas y tetraspóricas para *G. cornea* pero no para *G. crassissima*. Aunque estas diferencias no son espectaculares, seguramente favorecen la coexistencia de ambas especies de *Gracilaria*, ya que eventualmente pueden originar diferencias en el reclutamiento de plantas con fases reproductivas diferentes.

Un porcentaje mayor que 50% de plantas reproductivas tetraspóricas es un evento común en especies de Gracilariaceae de aguas cálidas, incluyendo *G. cornea* del golfo de México (Orduña y Robledo 2002); sin embargo, no es una regla (Kain y Destombe 1995): de un total de 36 casos que estos autores analizaron, en 16 dominaron o sólo se presentaron tetraspóricas; en otros 10 casos las tetraspóricas fueron más abundantes o sólo se presentaron las carpospóricas; mientras que en 12 casos no hubo dominancia de una u otra fase reproductiva. Por otra parte, en este estudio se presenta el segundo caso, después de Hoyle (1978a), donde en un mes se reporta

una mayor presencia de plantas masculinas (febrero de 1997, para *G. cornea*). Sin embargo, no conozco otro estudio donde se haya encontrado una correlación negativa tan fuerte ( $r^2 = 0.92$ ) entre la presencia de plantas masculinas y tetraspóricas, como la registrada para *G. cornea* a lo largo del periodo de este estudio.

El alto porcentaje de plantas con fase reproductiva tetraspórica a lo largo del tiempo (80% en promedio), indica que cuando en este estudio se separaron las plantas como carpospóricas y el resto, las últimas pertenecían principalmente a la fase tetraspórica.

Por otra parte, la presencia de plantas reproductivas a lo largo del año, principalmente la fase tetraspórica inmadura, probablemente favorece que tanto *G. cornea* como *G. crassissima* tengan la posibilidad de reproducirse y reclutarse durante todo el año, lo cual permitiría su persistencia en Bajo Pepito.

Una proporción 1:1 entre plantas masculinas y femeninas es esperada en macroalgas marinas que presentan estas fases reproductivas. Sin embargo, de 25 casos que revisaron Kain y Destombe (1995), solo en 3 casos esa proporción fue como la esperada. Tampoco *Gracilaria cornea* ni *G. crassissima* mantuvieron la proporción “esperada”. Por ejemplo, hubo meses en los cuales la fase masculina fue la única de las dos fases reproductivas que se presentó, con ninguna planta femenina (fertilizada = carposporofitos). Esto ocurrió en febrero y junio para ambas especies, y en marzo para *G. cornea* y en abril y octubre para *G. crassissima* (Fig. 11). En contraste a estos resultados, existe el caso en la literatura donde en 14 meses se detectaron plantas femeninas de *G. tikvahiae*, pero nunca masculinas (Kain y Destombe 1995). Una pregunta que resalta en relación a la desproporción entre gametofitos masculinos y femeninos, frecuentemente sin la presencia de los femeninos, es sobre ¿cómo las dos especies de *Gracilaria* completan su ciclo de vida en Bajo Pepito?. Una posibilidad es que las relativamente pocas carposporas que se

estuvieran liberando durante el año tengan una alta viabilidad y longevidad, y que actuaran como “banco de propágulos” (Hoffmann y Santelices 1991), las cuales en su momento germinarían para dar lugar a los tetrasporofitos dominantes. Por otra parte, los gametofitos femeninos pudieran estar jugando un papel estratégico en la reproducción sexual de las especies y en la fuente de variación genética, ya que los gametofitos masculinos al estar presentes en la mayor parte del año, e incluso junto con los talos femeninos, la fertilización está asegurada. Por lo tanto, la respuesta fenológica diferencial entre ambas especies podría recaer en los gametofitos femeninos. Sin embargo la comprobación de esas hipótesis está fuera de los objetivos de este estudio.

La mezcla de fases reproductivas en una misma planta de *G. cornea* y *G. crassissima*, tetraspórica y masculina, no es un evento raro en especies Gracilareaceae. En la literatura se ha registrado la existencia de talos que en diferentes o en las mismas ramas presentan mezclas de dos -tetraspórica con masculina, tetraspórica con carpospórica, carpospórica con masculina-, y hasta tres fases reproductivas -tetraspórica, masculina y carpospórica- (Kain y Destombe 1995, Kim 1970, Oliveira y Plastino 1994, Prieto *et al.* 1991). Dentro de las posibles explicaciones de la existencia de esas mezclas, se encuentran la germinación *in situ* (sobre talos diferentes) de tetrasporas, coalescencia de esporas, recombinación mitótica, mutación, poliploidía y migración nuclear (Kain y Destombe 1995, Poore y Fagerström 2001).

Las desviaciones de un ciclo de vida ideal para especies Gracilariaceae, con predominancia de plantas tetraspóricas, la falta de una proporción 1:1 entre plantas masculinas y femeninas, lo mismo que la presencia de fases reproductivas mezcladas en una misma rama de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, pone de manifiesto la necesidad de profundizar en la reproducción de estas dos especies para entender su ciclo de vida en condiciones ambientales.

Una posibilidad de hacer estos estudios futuros es inocular sustratos con propágulos de diferente fase reproductiva, y una vez identificadas seguir su desarrollo individual por 3-5 años. Esto con el fin de conocer diferencias de mortalidad de plantas con diferente fase reproductiva, y para conocer si las plantas conservan su identidad de origen, es decir, si en el transcurso de su desarrollo ocurriera una mezcla de fases reproductivas. También sería fundamental evaluar en el laboratorio la viabilidad y longevidad de las carposporas bajo diferentes condiciones de luz, temperatura y nutrientes disueltos en el agua, lo cual a su vez ayudaría a conocer mejor el papel crucial que los gametofitos femeninos pudieran tener en la diferenciación fenológica entre ambas especies. Además, valorar la posibilidad de que las carposporas pudieran estar actuando como “banco de propágulos”, lo cual ayudara a explicar la dominancia de plantas tetraspóricas en Bajo Pepito.

Las variables ambientales en ningún caso tuvieron correlación estadísticamente significativa con la serie de eventos biológicos que se midieron en este estudio. Únicamente en el caso de los nutrientes se notó una cierta relación, no estadística, con la biomasa. Por ejemplo, valores altos de biomasa de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* ocurridos en junio de 1997 (Fig. 9c) se presentaron un mes posterior de registrarse valores relativamente altos de nitratos y fosfatos disueltos en el agua (Fig. 15b). De manera similar, el valor máximo de biomasa de *G. cornea*, en marzo (Fig. 9c), estuvo precedido de concentraciones relativamente altas de fosfatos disueltos en el agua (Fig. 15b). Sin embargo, valores máximos de nitratos y fosfatos ocurridos en la segunda parte de este estudio (Fig. 15c) no se reflejaron en valores máximos de biomasa; más bien, en este tiempo ocurrieron los valores mínimos de biomasa de ambas especies (Fig. 15b). De manera similar, *G. cornea* del golfo de México presentó su menor biomasa (Orduña-Rojas y

Robledo 2002) en meses en los cuales se registraron los valores máximos de nitratos y fosfatos disueltos en el agua de mar (Orduña-Rojas *et al.* 2002).

Otros eventos, como la interferencia con otros miembros algales de la comunidad, pudieran explicar la disminución de la biomasa de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* en la segunda parte del estudio, como se mencionó antes. Es importante señalar que la disminución de biomasa para ambas especies, a partir de junio (Fig. 9c), se presentó después de que se presentaron cambios repentinos en la temperatura y salinidad del agua (Fig. 13a, 13b), lo cual pudo haber afectado el desarrollo posterior de ambas especies. En esta parte del año también se presenta la época de lluvias en la zona de estudio (López-Ornat 1983); lluvias (nubes) que pueden originar reducciones en la radiación disponible a las plantas hasta por un orden de magnitud (Fig. 14). Cabe mencionar que esas variaciones en la radiación solar no se registraron en las mediciones puntuales realizadas mensualmente (Fig. 15a), debido a que siempre se buscó trabajar bajo condiciones un tanto ideales en las condiciones ambientales, soleadas.

En resumen, las diferencias de biomasa entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, al nivel interespecífico y de acuerdo a la fase reproductiva, probablemente facilitan su coexistencia en Bajo Pepito, Quintana Roo, tal como similares diferencias de biomasa entre especies se ha sugerido en estudios sobre plantas vasculares. En este contexto, los resultados de este estudio pueden ser más relevantes, ya que, a diferencia de las plantas incluidas en esos estudios, las dos especies de *Gracilaria* comparten un mayor número de atributos morfológicos y reproductivos. Aunque no tan evidentes, las diferencias reproductivas señaladas también facilitarían la coexistencia de ambas especies. Posiblemente esas diferencias reproductivas pudieran originar diferencias en el reclutamiento, sobrevivencia de plántulas y competencia por espacio, lo cual no fue medido en este estudio. En otras palabras, los atributos biológicos diferenciales entre las dos

especies de *Gracilaria* registradas en este estudio, son un elemento importante que facilitaría su coexistencia en Bajo Pepito, Quintana Roo.

**LIMITACIÓN DE FÓSFORO Y NITRÓGENO EN EL CRECIMIENTO  
DE DOS ESPECIES COEXISTENTES DE *Gracilaria* (RHODOPHYTA)  
DEL CARIBE MEXICANO**

**ANTECEDENTES**

Un aspecto importante sobre la ecología de las macroalgas tropicales en general, y de las Rhodophyta en particular, es conocer la limitación de nitrógeno (N) y / o fósforo (P) que puede existir en ambientes oligotróficos, como es el caso del Caribe Mexicano. Para las macroalgas marinas en su conjunto existe controversia sobre cual macroelemento, el N o el P, limita su crecimiento o desarrollo. De acuerdo a resultados obtenidos principalmente en zonas templadas, se pensaba que los compuestos nitrogenados eran los limitantes más importantes para el crecimiento de macroalgas (Chapman y Craigie 1977, Hanisak 1979, Nixon 1981). Sin embargo, para zonas tropicales se ha sugerido que el P es el limitante preponderante (Lapointe 1985, 1987, Lapointe y O'Connell 1989), tal como lo plantearon Atkinson y Smith en su revisión mundial de 1983, de acuerdo con análisis del contenido en el tejido y las tasas de C : N : P de plantas marinas bentónicas.

Lapointe *et al.* (1992) estudiaron 35 especies de algas provenientes de aguas templadas y tropicales, y concluyeron que el N limitaba la productividad de algas templadas, mientras que el P lo hacía para algas tropicales. Sin embargo, existen ejemplos que contradicen las generalizaciones anteriores, ya que para algunas macroalgas tropicales el N puede ser el limitante principal (Lamed 1998). La tasa media y mediana de 92 plantas bentónicas marinas incluidas en la revisión de Atkinson y Smith (1983) fueron de 35 : 1 y 30 : 1, respectivamente. Por ello,

Lapointe *et al.* (1992) consideraron que si la proporción N : P en el tejido de macroalgas marinas era mayor de 35 : 1, las plantas estarían limitadas por P, más que por N.

Para el caso del Caribe Mexicano es razonable pensar que el P es el principal elemento limitante del crecimiento de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, debido a que ese elemento puede llegar a ser inaccesible, por la composición carbonatada de toda la península de Yucatán y su plataforma continental (Espejel-Montes 1983, López-Ornat 1983): tales condiciones carbonatadas precipitan los iones fosfatos (Dawes 1987, Kitano *et al.* 1978, Koch *et al.* 2001), haciéndolos poco solubles (Armstrong 1965) e inaccesibles para las macroalgas. Sin embargo, McGlathery *et al.* (1992) reportaron que la fotosíntesis del alga verde *Penicillus capitatus*, habitante de fondos carbonatados, estuvo limitada por N y no por P.

Debido a la complejidad de analizar la limitación de nutrientes en macroalgas marinas, en este estudio se planteó abordarla bajo dos perspectivas complementarias. En la primera se analizó gráficamente si el crecimiento tenía limitación o relación con la concentración de nitratos y fosfatos disueltos en el agua, principalmente para detectar si mediciones mínimas de crecimiento se asociaban a concentraciones mínimas de N y P disueltos en el agua. En la segunda, inicialmente se midió la concentración de N y P en el tejido, lo cual se esperaba que reflejara la condición nutritiva de la planta desde su interior. Enseguida se llevaron a cabo en el laboratorio experimentos de limitación de N y P para el crecimiento de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* a diferentes concentraciones de esos elementos. Con los experimentos se obtuvieron las “constantes” de crecimiento  $k_s$  y  $\mu_{max}$ , lo mismo que  $q_0$  y  $C_n$  de ambos elementos nutritivos. Tales constantes se obtuvieron de acuerdo a las ecuaciones de Monod (Titman 1976, Espinoza y Chapman 1983) y Droop (Droop 1973, Probyn y Chapman 1983), graficando los valores de crecimiento específico con relación a la concentración de N y P, en el agua o en el tejido,

respectivamente. La concentración crítica de esos elementos ( $C_n$ ), obtenida del modelo de Droop (1973) se usó, a su vez, para estimar la limitación de N y P a lo largo del año, comparándola con las concentraciones que se midieron en el tejido de plantas colectadas en Bajo Pepito, Quintana Roo.

Las mediciones de N y P en el tejido de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* colectadas en el campo se obtuvieron de plantas que se distinguieron como carpospóricas y el resto; esto como una forma de valorar las diferencias que pudieran presentarse a nivel de fase reproductiva de las plantas. Sin embargo, los experimentos en el laboratorio se realizaron únicamente con plantas que excluyeron a las carpospóricas. El resto de plantas estuvo representado principalmente por la fase tetraspórica, según los resultados fenológicos de la sección precedente.

El objetivo principal de esta parte del estudio fue establecer si las dos especies de *Gracilaria* usaban de manera diferente los nutrimentos de N y P, cuando las plantas de ambas especies se desarrollaban bajo las mismas condiciones ambientales de Bajo Pepito. Si existieran diferencias por fase reproductiva (en el campo) e interespecíficas (en el laboratorio), en cuanto al uso de nutrientes por parte de cada especie, esta diferencia ecológica se sumaría a las diferencias fenológicas y ecológicas mencionadas en la sección precedente, las que en conjunto facilitarían la coexistencia de *G. cornea* y *G. crassissima*, dos agarofitas muy cercanas entre sí desde el punto de vista anatómico y reproductivo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### TASA DE CRECIMIENTO

La tasa de crecimiento se midió utilizando porciones de ramas de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, tomando en cuenta su crecimiento de tipo apical (Bold y Wynne 1978, Goldstein 1973). Las plantas a las que se les cortó la porción apical no presentaban epífitas o heridas visibles, y se encontraban en la sección B del espacio de estudio (Fig. 8). La medición de tasa de crecimiento se efectuó de la manera siguiente: en el mes “1” se utilizó buceo autónomo para cortar 120 fragmentos apicales, de aproximadamente 7 cm de largo; 60 por especie. La tasa de crecimiento se evaluó por separado para plantas carpospóricas y del resto de fases reproductivas (30 y 30). Las partes cortadas se transportaron a tierra (en bolsas de plástico, con agua, y éstas en una hielera), donde se pesaron individualmente con una balanza digital Sartorius®, modelo PT-1200, con precisión de 0.1 g. Para obtener el peso ( $w_1$ ), los fragmentos algales se colocaron dentro de un vaso de precipitados con agua; esto es, los fragmentos siempre se mantuvieron en agua o húmedos. Después de pesarlas se amarraron a un extremo de aproximadamente 25 cm de rafia y fueron transportadas de regreso al fondo marino, de la misma manera en que fueron transportadas a tierra. En Bajo Pepito se amarraron individualmente por el otro extremo de la rafia a dos cabos sintéticos marinos, de 15 m de largo. Estos cabos se fijaron en sus puntas a dos bloques de concreto de 4.5 Kg de peso, colocados previamente en el fondo marino, en la parte inferior derecha de la sección B del espacio de estudio (Fig. 8). Al siguiente mes (mes “2”) los fragmentos apicales del mes “1” se recolectaron, se pesaron de nuevo ( $w_2$ ) y se eliminaron. Para medir la tasa de crecimiento del siguiente periodo se volvieron a pesar otros 120 fragmentos apicales (etiquetados de nuevo como mes “1”), y se repitió consecutivamente lo ya descrito.

Para cuantificar la tasa de crecimiento se utilizó la fórmula descrita por DeBoer *et al.*

(1978):

$$\mu = [100 (\text{Ln } (w_2 / w_1))] / t$$

donde,

$\mu$  = crecimiento específico, expresado como % de incremento de peso fresco por día (% día<sup>-1</sup>),

$w_2$  = peso del mes “2” o peso final,  $w_1$  = peso del mes “1” o peso inicial,  $t$  = días transcurridos en el experimento.

Las plantas de *Gracilaria* utilizadas para medir la tasa de crecimiento se separaron bajo el agua en carpospóricas y plantas con el resto de fases reproductivas (predominantemente tetraspóricas, según los resultados ya señalados). Las plantas carpospóricas se reconocieron por el cistocarpo, estructura en forma de promontorio en la superficie algal y visible al ojo humano (Fig. 5c).

Considerando que en la medición de la tasa de crecimiento se utilizaron fragmentos apicales de partes altas y medias de las plantas, *a posteriori* (17 de diciembre de 1997 – 17 de enero de 1998) se llevó a cabo un ensayo para determinar si diferentes partes (alta, media y baja) de *G. cornea* y *G. crassissima* crecían diferencialmente. Con tal finalidad, por medio de buceo autónomo se cortaron 20 fragmentos apicales de cada una de esas tres partes de las plantas, carpospóricas y del resto de fases reproductivas, para cada especie (240 fragmentos en total). Cada fragmento se mantuvo separado bajo el agua, en bolsas de plástico individuales y marcadas. Así se transportaron a tierra para pesarlos. Después de pesar cada fragmento y de amarrarlos a un extremo de rafia, se regresaron individualmente a las bolsas de plástico. Los fragmentos se llevaron al sitio de estudio, se amarraron a mecates marinos previamente colocados en el fondo marino, y se identificó su ubicación individualmente.

## RELACIÓN PESO SECO : PESO HÚMEDO

En cada fecha que se midió la tasa de crecimiento, también se obtuvo el peso húmedo de otros veinte fragmentos apicales, de la manera descrita antes. Posteriormente, en el laboratorio se secaron individualmente los mismos fragmentos a 60 °C por tres días, en una estufa Craft®, Modelo H-1400. Con ambos pesos se obtuvo la proporción de peso seco : peso húmedo.

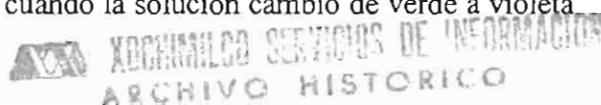
Tanto para la tasa de crecimiento como para otras variables biológicas y ambientales, los valores máximos se definieron después de llevar a cabo análisis de varianza, con la prueba *a posteriori* HSD (“Honest Significant Difference”) de Tukey. Se consideraron como valores máximos mensuales aquellos que fueron estadísticamente mayores a uno o más valores inmediatamente antes y después de ellos, y cuando el último valor registrado fue mayor que el primero, o viceversa.

## NITRÓGENO Y FÓSFORO EN EL TEJIDO

Las plantas utilizadas para las extracciones de N y P en el tejido se colectaron de la sección A del espacio de estudio (Fig. 8), por medio de buceo autónomo, los días 7 de febrero, 10 de marzo, 14 de abril, 20 de mayo, 20 de junio, 1 de agosto, 7 de octubre, 25 de noviembre de 1997 y 14 de enero de 1998. Las muestras fueron las mismas que se utilizaron para determinar la biomasa. Estas fueron separadas visualmente, bajo el agua, en plantas carpospóricas y las del resto de fases reproductivas; posteriormente se dejaron un día bajo el sol, para un secado preliminar. En el laboratorio se secaron con una estufa Craft® Modelo H-1400, a 60 °C, por tres

días; luego almacenadas hasta su posterior análisis. Antes de determinar el contenido de N y P de las muestras, se volvieron a secar en un liofilizador LABCONCO® 4.5.

Las determinaciones de N se llevaron a cabo siguiendo el método semimicro-Kjeldahl (Anónimo 1990), de acuerdo al siguiente procedimiento: se pesó aproximadamente 0.1 g de muestra, liofilizada y molida, y se colocó en un matraz Kjeldahl de 100 ml. Se adicionó 0.5 g de catalizador (mezcla de sulfato de sodio y sulfato de cobre) y 3 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se colocaron los matraces en el digestor respectivo, a temperatura baja, hasta que la solución se tornó color miel; entonces se digirió la muestra durante 40 min a temperatura de ebullición. Enseguida se dejó enfriar y se adicionaron 20 ml de agua destilada, luego se agitó ligeramente. La muestra se transfirió al aparato destilador Kjeldahl, con 10 ml de hidróxido de sodio al 50%. El destilado se recibió en 10 ml de ácido bórico al 3%, conteniendo dos gotas del indicador (mezcla de azul de metileno y rojo de metilo); se retiró cuando se tuvo 80 ml de solución. La titulación se realizó con ácido clorhídrico 0.01 N y se concluyó cuando la solución cambió de verde a violeta fuerte.



El contenido de N en el tejido, en porcentaje de peso seco, se calculó con la fórmula:

$$\% N = V_{(ml)} \cdot N_{HCl} \cdot 14 / P_{(g)} \cdot 10$$

donde:

V = volumen de ácido clorhídrico usado en la titulación,  $N_{HCl}$  = normalidad valorada del HCl (0.01), 14 = peso equivalente del N,  $P_{(g)}$  = peso de la muestra y 10 = factor de conversión.

Las determinaciones de P se efectuaron de acuerdo a Aguilar *et al.* (1987), siguiendo el siguiente procedimiento: Se pesó aproximadamente 0.1 g de muestra, liofilizada y molida, y se colocó en un matraz Kjeldahl de 100 ml. Se adicionó 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado y 2.5 ml de ácido nítrico concentrado. La muestra se digirió a temperatura media, hasta que la solución

se aclaró y se redujo a 1 ml. Se dejó enfriar y se adicionó 10 ml de agua destilada. Enseguida se agregó una gota de indicador de fenoftaleína. Se neutralizó la solución con hidróxido de sodio 1 N, hasta que la solución obtuvo un color rosa tenue, y se aforó a 50 ml, con agua destilada. Se adicionó y mezcló 5 ml de mezcla recién preparada de reactivos para P (50 ml de ácido sulfúrico 5N, 5 ml de tartrato de antimonil potásico –1.3715 g en 500 ml de agua destilada-, 15 ml de molibdato de amonio –20 g en 500 ml de agua-, y 30 ml de ácido ascórbico –1.76 g en 100 ml de agua-). Se esperó de 10 a 15 min., para el desarrollo del color. Por separado se preparó una serie de estándares de concentración conocida de P, a partir de una solución estándar de fosfato de sodio. La absorbancia de la muestra se leyó en un espectrofotómetro UV a 880 nm de longitud de onda; primero los estándares, para la curva de calibración, luego las muestras.

El contenido de P en el tejido, en porcentaje de peso seco, se calculó como sigue:

Con la curva de calibración se obtuvo 'a', la intersección a la abscisa, y 'b', la pendiente.

Concentración (en  $\mu\text{g/l}$ ) = (absorbancia – b) / a. Concentración (en  $\mu\text{g}$ ) = el valor anterior se multiplicó por 55, el factor de dilución (50 ml de solución + 5 ml de mezcla de reactivos), % de P en el tejido = por regla de tres, considerando los  $\mu\text{g}$  obtenidos y el peso inicial de la muestra como el 100%.

## LIMITACIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO PARA EL CRECIMIENTO

Para diseñar los experimentos se tomaron en cuenta los resultados de otras investigaciones similares (Björnsäter y Wheeler 1990, Fujita *et al.* 1989, Hanisak 1979, Larned y Stimson 1996, Schaffelke y Klumpp, 1997, 1998). Los experimentos se llevaron a cabo dentro de una caja de madera de 0.5 x 0.5 x 2.5 m, con las seis paredes pintadas de blanco, y la cara frontal utilizándose como puerta. La caja incubadora se colocó en un

laboratorio con temperatura relativamente controlada (24-27 °C); la luz se proporcionó con cuatro lámparas de luz blanca, fijas a una estructura que permitía subirlas y bajarlas a la altura deseada, y con un ciclo de luz : oscuridad de 16 : 8 h. Los frascos que contuvieron el tejido algal (fragmentos apicales), se ubicaron alejados 20-25 cm de las paredes; en el área experimental la luz fue entre  $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y  $190 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Esta cantidad de luz satura la fotosíntesis de *Gracilaria cornea* de Florida ( $90\text{-}127 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Dawes *et al.* 1999) y de Yucatán ( $72\text{-}155 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Orduña-Rojas *et al.* 2002), lo mismo que la de otras cuatro especies de *Gracilaria* del Caribe ( $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Hay 1981).

Los experimentos de crecimiento se realizaron por duplicado. El primer experimento se llevó a cabo en dos etapas. En la primera, del 16 de octubre al 3 de noviembre, a los fragmentos se les agregó N y P en forma de  $\text{NaNO}_3$  y  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , utilizando 250 ml de solución, previamente preparada. Cabe mencionar que para el caso de *Gracilaria cornea*, Navarro-Angulo y Robledo (1999) encontraron que la tasa de crecimiento fue similar cuando se le proporcionó nitratos, amonio o urea como fuentes de N. Los compuestos de N y P se proporcionaron en diez diferentes concentraciones, con las que se esperaba que el crecimiento específico se saturara. Para el caso de N se utilizaron concentraciones de 0, 5, 10, 25, 40, 60, 100, 150, 300 y 500  $\mu\text{M}$ , mientras que para el P fueron de 0, 2, 4, 8, 14, 20, 30, 40, 60 y 90  $\mu\text{M}$ . En la segunda etapa, del 3 al 29 de noviembre, aquellos fragmentos a los que se les agregaron diferentes concentraciones de N, también se les agregó 8  $\mu\text{M}$  de P; mientras que a los que se encontraban en diferentes concentraciones de P, además se les agregó 100  $\mu\text{M}$  de N.

El segundo experimento se efectuó del 6 de enero al 21 de febrero de 2000. Las concentraciones de nutrimentos en el agua de cultivo fueron un tanto diferentes al primer experimento: para N fueron de 0, 5, 10, 25, 50, 100, 150, 300, 500, y 750  $\mu\text{M}$ . La

modificación se hizo con el propósito de asegurar la saturación del crecimiento específico de ambas especies de *Gracilaria*. Para el caso del P las concentraciones fueron de 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 2, 3, 5 y 12  $\mu\text{M}$ . El propósito de esta modificación fue para representar mejor la parte inicial de la curva de crecimiento. Así, las modificaciones de nutrimentos usadas en el segundo experimento fueron hechas con base a los resultados del primero.

Los nutrimentos se proporcionaron a fragmentos apicales de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* que se colocaron en frascos de vidrio de 500 ml, por duplicado, haciendo un total de 80 frascos en cada experimento. En cada frasco se colocaron siete fragmentos apicales, de 3 a 4 cm de largo, que se colectaron en Isla Mujeres el mismo día de iniciar los experimentos. Se tuvo especial cuidado de cortar partes apicales de plantas aparentemente saludables, que no presentaran epífitas visibles, ni ningún signo de deterioro. Al momento de la colecta, ninguna planta que se usó para cortar partes apicales se encontraba en reproducción cistocárpica. Los fragmentos fueron transportados a la ciudad de Chetumal en una hielera de 80x40x45cm, la cual contenía agua colectada en el sitio de estudio

El agua con diferentes concentraciones de N y P fue reemplazada cada 48h, después de ser filtrada a través de un filtro de membrana Gelman® de 0.45  $\mu\text{m}$  de abertura. En cada reemplazo de agua también se cambiaron los frascos, los cuales se lavaron y secaron por una hora en una estufa a 100-110 °C. Los fragmentos algales y el agua se movieron manualmente tres veces al día. Al inicio del experimento se obtuvo el peso fresco de cada uno de los 560 fragmentos utilizados en el experimento, con una balanza digital A&D® modelo ER-120A. En ese momento se inició el secado de 20 y 20 fragmentos apicales de *G. cornea* y *G. crassissima*, por tres días a 60 °C, para obtener la proporción inicial de peso seco: húmedo. Al final de los

experimentos se volvieron a pesar todos los fragmentos algales y con ello se obtuvo el crecimiento específico ( $\mu$ ), como se explicó en la sección de Crecimiento.

Los valores de tasa de crecimiento específico se expresaron en relación con la concentración de N y P en el agua o en el tejido, de acuerdo a las ecuaciones de Monod y Droop, respectivamente, y descritas en el Marco Teórico. Para las curvas de N generada con las dos ecuaciones, los resultados obtenidos en los dos experimentos de crecimiento en el laboratorio se graficaron en conjunto, ya que análisis de varianza indicaron que no existieron diferencias significativas entre ambos. Lo mismo se efectuó para los experimentos con P, sólo que aquí no se incluyeron los valores de tasa de crecimiento a concentraciones mayores de 12  $\mu\text{M}$  del primer experimento. Cuando la concentración de P en el agua fue mayor de 12  $\mu\text{M}$ , plantas de ambas especies de *Gracilaria* perdieron pigmento, ocurrió decremento en su peso, y algunas murieron.

Para la ecuación de Monod, los valores de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{max}}$ ) y  $k_s$  (concentración a la cual  $\mu_{\text{max}}=1/2$ ) (ver Marco Teórico) se obtuvieron de las transformaciones lineales  $S\mu$  vs.  $S$ , y  $S/\mu$  vs.  $S$ , respectivamente; el primero representado por la pendiente de la recta, y el segundo por la intersección en la abscisa (Parsons *et al.* 1977, Chapman *et al.* 1978, Kautsky 1982). El dibujo de la curva  $\mu$  vs.  $S$  se realizó introduciendo la ecuación de Monod ( $\mu = \mu_{\text{max}} \cdot S / (k_s + S)$ ) al programa Excel (Rivers y Peckol 1995), con los valores de  $\mu_{\text{max}}$  y  $k_s$ , calculados como ya se señaló.

Para la ecuación de Droop, la cuota de subsistencia ( $q_0$ ) se estimó con la transformación lineal de tal ecuación, graficando  $\mu Q$  vs.  $Q$ . De esta manera, la intersección al eje de la abscisa representa el valor de  $q_0$ , mientras que la pendiente el valor de  $\mu_m$  (Droop

1973, Probyn y Chapman 1983). La concentración crítica ( $C_n$ ) se obtuvo de los valores reales de Q correspondientes a  $\mu = \mu_m$  (ver Marco Teórico).

Una vez que se registró la concentración crítica ( $C_n$ ) de N y P para *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, el valor se agregó (como una línea horizontal) a las gráficas de N y P obtenidas de mediciones del campo para ambas especies. Lo anterior, para valorar a lo largo del año la limitación de esos elementos para el crecimiento ambas especies en Bajo Pepito.

## RESULTADOS

### TASA DE CRECIMIENTO

La tasa de crecimiento entre las partes alta, media y baja de fases carpospórica y del resto de fases de *Gracilaria crassissima* (Fig. 16a, 16b), y carpospórica de *G. cornea* (Fig. 16c) no fue significativamente diferente ( $p > 0.05$ ). Para el caso de las plantas del resto de fases de *G. cornea* sí hubo diferencia entre las partes baja y alta ( $p < 0.04$ ), pero no entre partes alta y posteriormente sólo se utilizaron fragmentos de las partes altas y medias de las plantas de *G. cornea* y *G. crassissima*, por lo que el método utilizado para esas mediciones se validó con los resultados anteriores. Es decir, a lo largo de los meses se utilizaron fragmentos apicales de plantas de ambas especies de *Gracilaria* que tenían tasa de crecimiento comparable.

Los valores promedio de tasa de crecimiento de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* durante el periodo de estudio variaron desde casi cero a  $2.3 \% \text{ día}^{-1}$ , y la tasa de crecimiento entre plantas carpospóricas y del resto de fases para las dos especies fue diferente ( $p < 0.001$ , Fig. 17a, 17b). Las fases reproductivas de ambas especies mostraron un valor máximo de tasa de crecimiento en el periodo de mayo-junio, mientras que las plantas carpospóricas y del resto de fases de *G. cornea* presentaron otro en agosto-octubre y noviembre-enero, respectivamente.

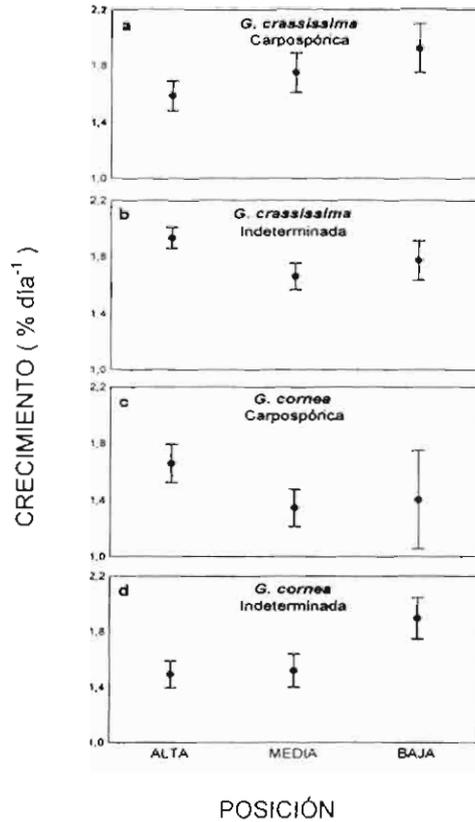


Figura 16.- Tasa de crecimiento promedio diario (de diciembre de 1997 a enero de 1998) de fragmentos apicales de las partes alta, media y baja de plantas carpospóricas y del resto de fases reproductivas (indeterminada) de *Gracilaria crassissima* (a, b) y *G. cornea* (c, d) de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo.

Para el caso de *G. crassissima*, esos máximos ocurrieron en noviembre-enero y octubre-noviembre (Fig. 17).

Al combinar los valores de tasa de crecimiento de las fases reproductivas dentro de cada especie, lo mismo que al considerar por separado las fases reproductivas de ambas especies, los resultados indicaron que existió diferencia estadística en la tasa de crecimiento de las dos especies, al igual que entre sus fases reproductivas. En general, *G. cornea* creció más

que *G. crassissima* ( $p < 0.001$ , Fig. 17c), y la fase carpospórica creció más que el resto de fases reproductivas ( $p < 0.01$ , no se muestra la figura).

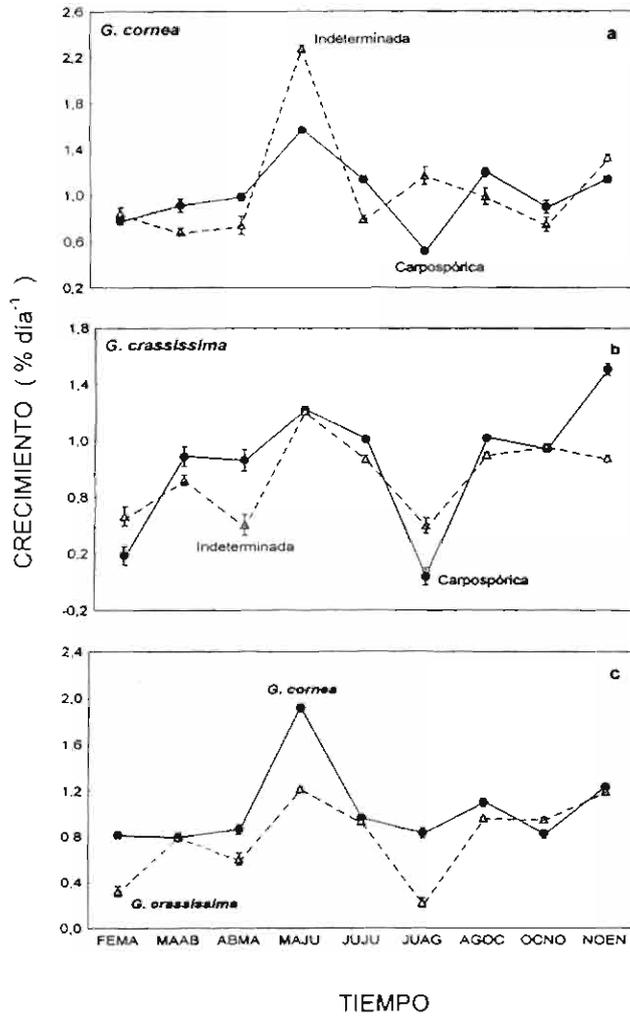


Figura 17.- Tasa de crecimiento promedio mensual por fase reproductiva de *Gracilaria cornea* (a), *G. crassissima* (b) y la combinación de fases reproductivas por especie (c), en Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. En cada especie se muestra la tasa de crecimiento de plantas carpospóricas (●) y las del resto de fases, indeterminadas (△). Las barras indican el error estándar.

## RELACIÓN DE PESO SECO:HÚMEDO

La proporción de peso seco : húmedo fue significativamente diferente entre especies (Fig 18); mayor para *G. crassissima* que para *G. cornea* ( $p < 0.001$ ). Esto es, la primera especie contiene menos agua y / o más material fibroso. *Gracilaria cornea* presentó tres valores máximos (en febrero, mayo y agosto), mientras que *G. crassissima* solo mostró uno (en marzo, Fig 18).

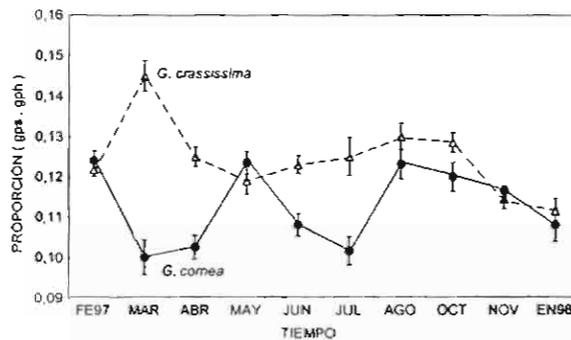


Figura 18.- Proporción de peso seco : húmedo de *Gracilaria crassissima* ( $\Delta$ ) y *G. cornea* ( $\bullet$ ) de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Las barras indican el error estándar.

## NITRÓGENO Y FÓSFORO EN EL TEJIDO

El contenido promedio de N en el tejido de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* varió entre 0.2% y 1.4 % del peso seco (Fig. 19a, 19d). El contenido de N entre plantas carpospóricas y del resto de fases reproductivas no fue significativamente diferente en *G. cornea* ( $p > 0.05$ ), pero sí ( $p < 0.001$ ) para *G. crassissima* (Fig. 19a, 19d). Al comparar el contenido de N de ambas especies (juntando los valores de las plantas de todas las fases), se notó que difieren entre ellas ( $p < 0.001$ , Fig. 20a), con una tendencia general en su contenido de N, de incrementarse de febrero de 1997 a enero de 1998.

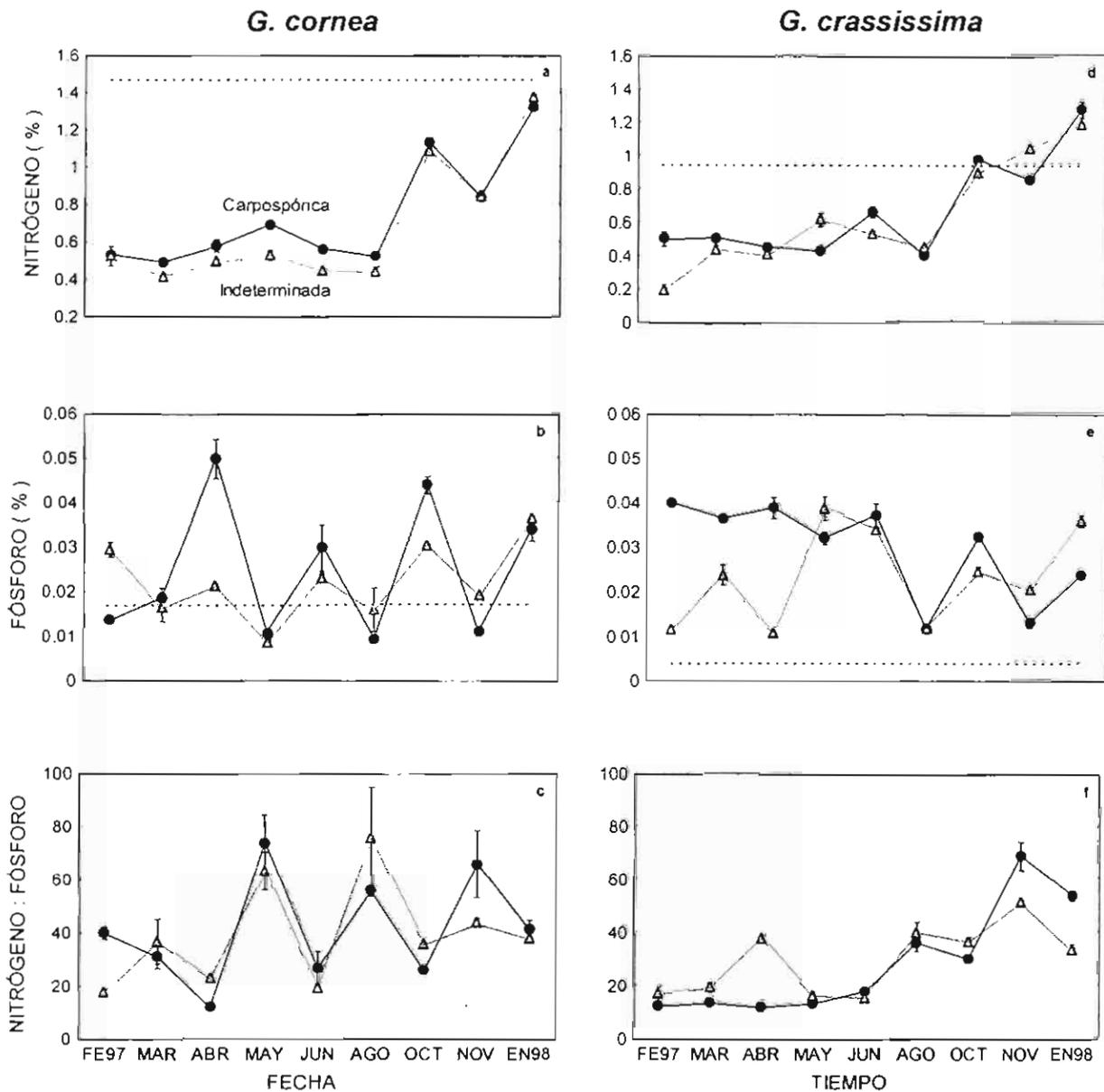


Figura 19.- Contenido promedio mensual de nitrógeno (N), fósforo (P) y proporción N : P, de plantas carpospóricas (●) y del resto de fases (indeterminadas) (△) de *Gracilaria cornea* (a, b, c) y de *G. crassissima* (d, e, f, respectivamente), de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Se agregan los valores de concentración crítica (línea punteada) y de cuota de subsistencia (línea continua) de N y P para cada especie, obtenida en los experimentos de laboratorio (ver Material y Métodos).

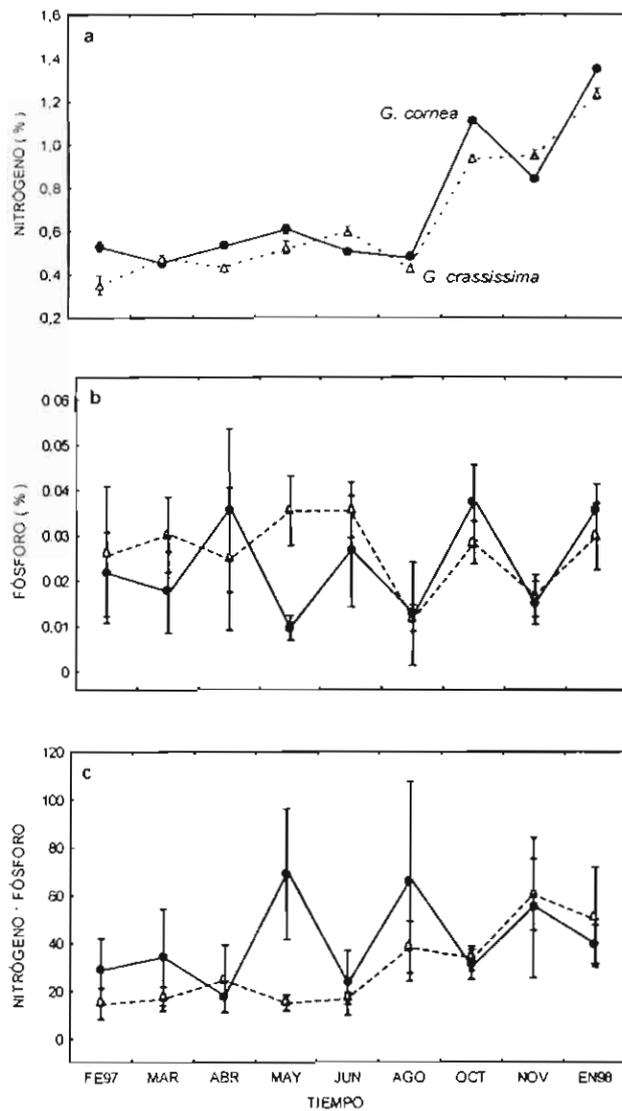


Figura 20.- Diferencia global de nitrógeno (N), fósforo (P) y proporción N : P, entre *Gracilaria cornea* (●) y *G. crassissima* (Δ) de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Cada especie contiene juntos los datos de plantas carpospóricas y del resto de fases. Las barras indican desviación estándar.

Las plantas carpospóricas y del resto de fases de *G. cornea* y *G. crassissima* presentaron más de un valor máximo de N y P, como sigue: 1) *G. cornea*.- N de carpospóricas en mayo, octubre de 1997 y enero de 1998; N del resto de fases en octubre de 1997 y enero de 1998; P de

carpospóricas en abril, junio, octubre de 1998 y enero de 1999, 2) *G. crassissima*.- N de carpospórica en junio de 1997 y enero de 1998; N del resto de fases en mayo de 1997 y enero de 1998; P de carpospóricas de febrero a junio, y octubre de 1997; P del resto de fases en marzo, mayo de 1997 y enero de 1998 (Fig. 19a, 19b, 19d, 19e).

El porcentaje promedio de P en el tejido de *G. cornea* y *G. crassissima* varió entre 0.01% y 0.05% (Fig. 19b, 19e), diferente entre fases reproductivas ( $p < 0.01$ ) para las dos especies. En algunos meses el contenido de fósforo en el tejido de las plantas carpospóricas fue significativamente mayor que el del resto de fases para ambas especies. Sin embargo, su contenido bajó o subió al mismo tiempo para ambas plantas de *G. cornea* (Fig. 19b); este patrón sólo ocurrió la mitad del tiempo para las reproductivas de *G. crassissima* (Fig. 19e). Cuando se compararon en conjunto las plantas de todas las fases para ambas especies, se observó que su contenido de P fue significativamente diferente de acuerdo a la especie ( $p < 0.01$ , Fig. 20b).

La proporción N : P de *G. cornea* y *G. crassissima* varió entre 15 y 75 (Fig. 19c, 19f). La proporción fue significativamente diferente ( $p < 0.01$ ) entre plantas carpospóricas y del resto de fases de *G. crassissima* (Fig. 19f), pero no entre esas plantas de *G. cornea* ( $p > 0.05$ , Fig. 19c). Al juntar los valores de N:P de plantas de todas las fases reproductivas, se observó que, en general, la proporción de esos elementos fue mayor para *G. cornea* que para *G. crassissima* ( $p < 0.01$ , Fig. 20c); con un promedio general de 40.5 y 30.2, respectivamente. Por su parte, *G. crassissima* mostró una tendencia general en la tasa N:P, de incrementarse de febrero 1997 a enero 1998 (Fig. 20c); tendencia que no fue clara para *G. cornea*.

## LIMITACIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO PARA EL CRECIMIENTO

Los resultados de crecimiento en condiciones limitantes de N en el agua obtenidos en este estudio indicaron claramente la existencia de respuestas diferenciadas a los nutrientes por parte de las dos especies de *Gracilaria*. Los valores de  $\mu_{\max}$  fueron mayores para *G. cornea* que para *G. crassissima* (1.29 vs. 0.45 % día<sup>-1</sup>), lo mismo que los valores de  $k_s$  (18.4 vs. 5.1  $\mu\text{M}$ ). Esto originó que las gráficas que se obtuvieron para ambas especies fueran notoriamente diferentes entre sí (Fig. 21a).

Con respecto al P, los valores de  $\mu_{\max}$  que se obtuvieron fueron casi idénticos a los obtenidos en los experimentos de N; 1.26 % día<sup>-1</sup> para *G. cornea* y 0.44 % día<sup>-1</sup> para *G. crassissima*. Los valores de  $k_s$  fueron diferentes a los obtenidos con N; 0.24  $\mu\text{M}$  para la primera especie, y 0.10 para la segunda. Sin embargo, para ambos elementos fueron similares, en el sentido de que fueron mayores para la primera que para la segunda especie. Por lo tanto, las gráficas obtenidas para P (Fig. 21b) fueron muy similares a las de N (Fig. 21a). A pesar de la similitud entre las gráficas de N y P, la diferencia entre ambas es evidente al comparar los valores en las concentraciones proporcionadas de uno y otro elemento.

Los resultados de crecimiento específico en condiciones limitantes de N en el tejido se muestran en la Fig. 22. Se observa que la tasa de crecimiento fue claramente diferente entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* (Fig. 22a). Por ejemplo, la concentración crítica de N fue mayor para la primera (1.47%) que para la segunda especie (0.95%). De manera similar, la cuota de subsistencia fue mayor para *G. cornea* (0.71%) que para *G. crassissima* (0.29%). Esto es, la segunda especie puede subsistir y saturar su crecimiento a concentraciones internas de N menores que la primera especie.

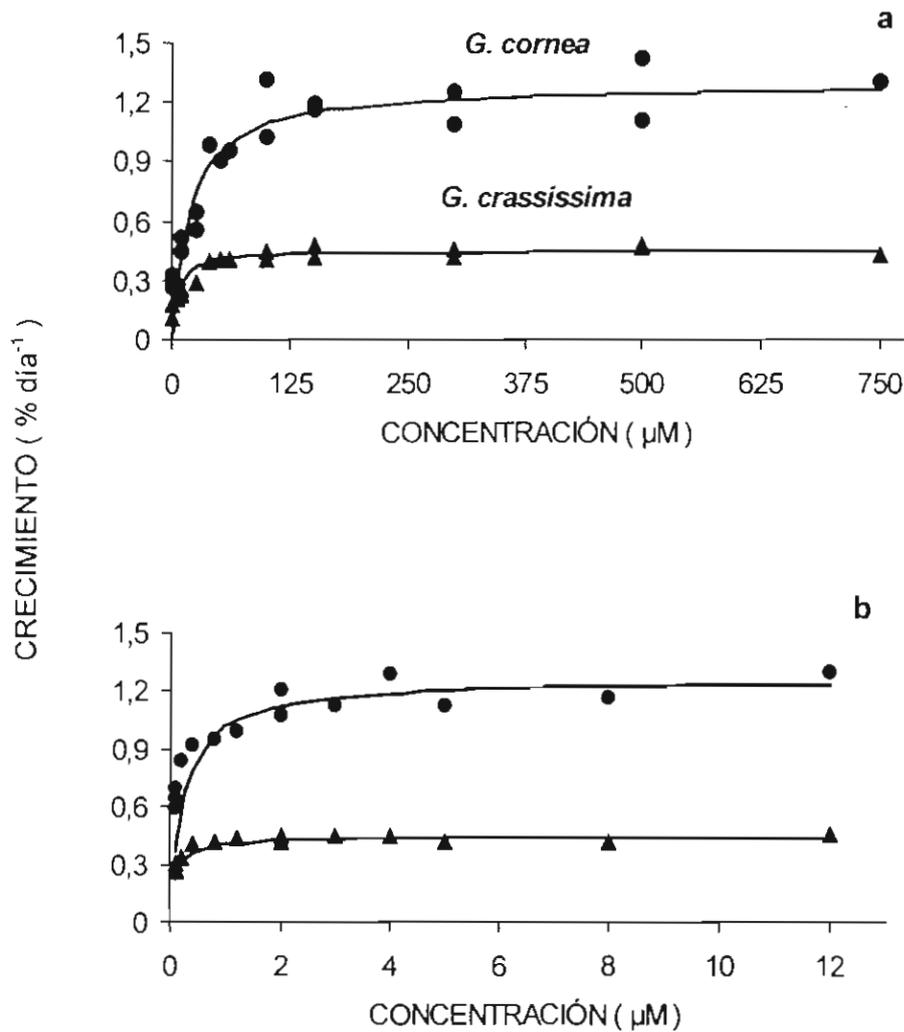


Figura 21. Tasa de crecimiento (% día<sup>-1</sup>) en relación a la concentración (μM) de nitrógeno (a) y fósforo disuelto en el agua de cultivo de *Gracilaria cornea* (●) y *G. crassissima* (△), de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Notar la diferencia de escala en las abscisas. Las curvas son producto de dos experimentos (ver Material y Métodos).

Para el caso del P, la concentración crítica también fue mayor para *Gracilaria cornea* (0.017%) que para *G. crassissima* (0.004%), lo que indica mayores requerimientos nutricionales

de la primera especie, tanto de P como de N. Los valores de cuota de subsistencia de P calculados para las dos especies fueron similares y muy bajos (0.002% y 0.003%, respectivamente).

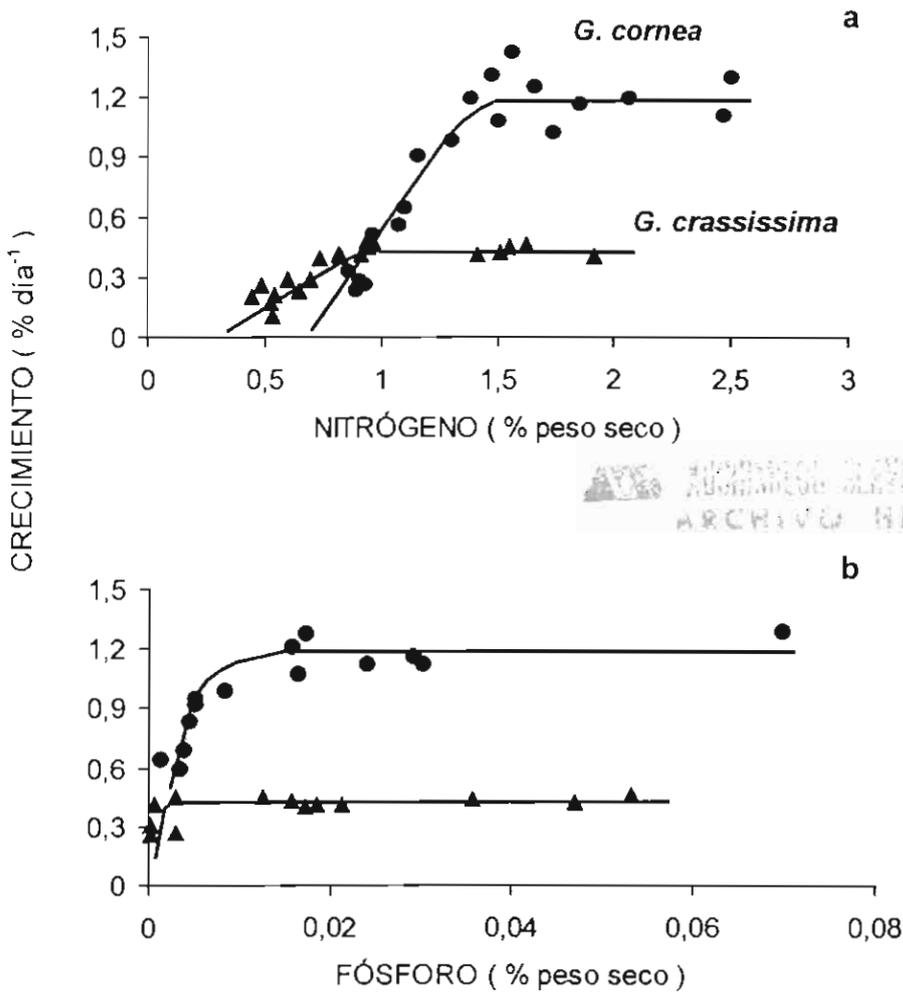


Figura 22. Tasa de crecimiento (% día<sup>-1</sup>) en relación al contenido de nitrógeno (a) y fósforo (b) en el tejido (% de peso seco) de *Gracilaria cornea* (●) y *G. crassissima* (△), de Bajo Pepito, Isla Mujeres, Quintana Roo. Notar la diferencia de escala en las abscisas. Las curvas son producto de dos experimentos (ver Material y Métodos).

Una vez obtenidos los valores de concentración crítica ( $C_n$ ) de N y P para *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, éstos se agregaron a las gráficas de N y P en el tejido de ambas especies colectadas a lo largo del año en Bajo Pepito (línea punteada en Fig. 19). En ese caso, los meses cuando se registraron valores menores de la  $C_n$  en el tejido de las dos especies representan tiempos con limitación de uno u otro elemento. Así, dos respuestas o estrategias de uso de nutrientes limitantes se presentaron entre las dos especies; estrategias que se pueden identificar como opuestas: plantas de *G. cornea* siempre estuvieron limitadas por N (Fig. 19a) y tres meses por P (Fig. 19b), mientras que plantas de *G. crassissima* nunca estuvieron limitadas por P (Fig. 19e), y almacenó N al menos en dos meses del año (Fig. 19d).

Al comparar los datos de limitación de N y P para la tasa de crecimiento de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* con los datos de esos elementos en el tejido de plantas colectadas en el campo, se observa que el N limitó más la tasa de crecimiento que el P: la primera especie siempre estuvo limitada por N (Fig. 19a) y muy pocos meses por P (Fig. 19b); la segunda especie estuvo la mayor parte del tiempo limitada por N (Fig. 19d) y nunca por P (Fig. 19e).

## DISCUSIÓN

La tasa de crecimiento similar de fragmentos apicales de tres diferentes partes de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* (Fig. 16) contrasta con los resultados obtenidos por Craigie y Wen (1984), para *Gracilaria tikvahiae* McLachlan, y por Hurtado-Ponce y Umezaki (1987), para *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss. Estos autores encontraron una tasa de crecimiento desigual para segmentos de diferentes partes de las plantas. Sin embargo, ellos utilizaron secciones de *Gracilaria* las cuales pueden tener diferente actividad fisiológica (de la parte apical, eje principal y porción basal), lo que tal vez contribuyó a la tasa de crecimiento

diferencial que midieron. Santelices y Varela (1995) también utilizaron diferentes segmentos (apical y basal) de *G. chilensis* Bird, McLachlan *et* Oliveira; sin embargo, en su caso encontraron tasa de crecimiento igual. Ellos explicaron esa similitud por la importancia del crecimiento intercalar de su especie. La similitud de tasa de crecimiento entre las tres partes de las plantas encontradas en este estudio es un resultado que se podría esperar, ya que las partes seleccionadas, a diferencia de los otros tres estudios, fueron fragmentos de partes apicales, todas con tejido nuevo y similar. Por otra parte, la diferencia de tasa de crecimiento que se encontró entre las partes altas y bajas de plantas no pertenecientes a las carpospóricas de *G. cornea*, probablemente fue ocasionada por la diferencia en el mayor número de proliferaciones en los fragmentos de la parte alta producido durante las fechas del experimento de campo, lo cual no se observó en otras fechas de este estudio en las que se midió la tasa de crecimiento de las dos especies de *Gracilaria*.

La tasa de crecimiento de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* fue diferente entre sus fases reproductivas (Fig. 17a, 17b) y entre las dos especies (Fig. 17c). Esto corrobora en parte la hipótesis de que ambas especies presentarían patrones fenológicos diferentes (en cuanto a tasa de crecimiento), lo cual podría ayudar de alguna manera a su coexistencia, y probablemente indicaría que las dos especies usan los recursos disponibles de manera diferencial. Los resultados son similares a los reportados por Pickering *et al.* (1996) para el crecimiento de nueve plantas vasculares del desierto de Chihuahua. Por otra parte, los resultados de este trabajo se suman a otros donde se reportan diferencias de tasa de crecimiento diferencial, de acuerdo a la fase reproductiva de especies Gracilariaceae (Hoyle 1978a, Jones 1959, Patwary y Van der Meer 1983a, Guozhong y Meiqin 1986, Destombe *et al.* 1993), y de otros grupos de Rhodophyta (Hannach y Santelices 1985, Luxoro y Santelices

1989, Zuccarello *et al.* 2001) y de Phaeophyta (Allender 1977). Esta diferencia entre fases reproductivas en el crecimiento de *G. cornea* y *G. crassissima* igualmente facilitaría que coexistieran en Bajo Pepito.

Tomando en cuenta la baja tasa de crecimiento registrada, tanto para *Gracilaria cornea* como para *G. crassissima*, entre casi cero y  $2.3\% \text{ día}^{-1}$  (Fig. 17), y considerando que una macroalga debe tener al menos una tasa de crecimiento de  $4\% \text{ día}^{-1}$  para ser considerada como aceptable para uso comercial (Câmara-Neto 1987), es claro que ninguna de las dos especies cumple satisfactoriamente con ese requisito en el Caribe Mexicano. Sin embargo, para uso comercial se podría intentar un programa de selección genética (Espinoza-Avalos 1996b), de cepas con tasa de crecimiento alta, como se lleva a cabo rudimentariamente en Santa Lucía, Antillas Menores (Smith 1992). Por otra parte, valores bajos de tasa de crecimiento, y similares a los encontrados en este estudio, han sido reportados para especies de Gracilariaceae de ambientes tropicales (Hoyle 1978a). En contraste a esos valores bajos de tasa de crecimiento, Orduña-Rojas y Robledo (1999) registraron valores de crecimiento de *G. cornea* entre  $2.3$  y  $5.2\% \text{ día}^{-1}$ . Sin embargo, para llevar a cabo sus mediciones de laboratorio ellos utilizaron plántulas, las cuales por sus características fisiológicas presentan una tasa de crecimiento específico mayor al de las plantas adultas (Probyn y Chapman 1983), como las utilizadas en este estudio.

El contenido de N en el tejido de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* fue entre  $0.2\%$  y  $1.4\%$  (Fig. 19). Los valores reportados para otras especies de Gracilariaceae, principalmente tropicales, varían entre  $0.64\%$  y  $5.19\%$  (Tabla 4), rango en que también han reportado otros autores (Bird *et al.* 1982, Friedlander y Dawes 1985, Jones *et al.* 1996, Lapointe 1981, Lapointe *et al.* 1984, Smit *et al.* 1997). Los valores extremos de N en el tejido, de  $0.39\%$  y  $5.8\%$ , los

reportaron Kappanna y Visweswara-Rao (1963), para *Gracilaria lichenoides* (L.) Harv., y García-Sánchez *et al.* (1996), para *G. tenuistipitata* Zhang *et* Xia, respectivamente. Con base a la

Tabla 4.- Contenido en el tejido (% peso seco) de nitrógeno (N), fósforo (P) y proporción N:P de especies de Gracilariaceae. Se menciona si las plantas provenían del ambiente (A) o de cultivo (C), y si de aguas tropicales (Tr) o templadas (Te). El espacio vacío indica que no se registraron datos. Para la nomenclatura de las especies se siguió a Bird y Kain (1995) y Silva *et al.* (1996).

ESPECIE	ORIGEN	N	P	N:P	REFERENCIA
<i>Gracilaria cervicornis</i> (Turner) J. Agardh <sup>1</sup>	A Tr	1.52	0.07	45.7	Lapointe <i>et al.</i> 1992
<i>G. salicornia</i> (C. Agardh) Dawson	A Tr	0.93	0.07	29.5	Lamed 1998
<i>G. tikvahiae</i> McLachlan	A Te	2.00- 4.00	0.20-0.40		Penniman y Mathieson 1987
<i>G. tikvahiae</i> McLachlan	C Tr	1.80- 2.97	0.026- 0.076	73.0- 250.0	Lapointe 1987
<i>G. tikvahiae</i>	A Tr	1.80- 2.65	0.040	100.0- 147.0	Lapointe 1989
<i>G. tikvahiae</i>	A Tr	0.64- 2.23	0.04-0.12	11.8- 124.0	Lapointe <i>et al.</i> 1992
<i>G. cepa</i> G-16S	C Tr	1.32- 3.29	0.040- 0.236	14.0- 123.0	Lewis y Hanisak 1996
<i>G. sp.</i>	A Tr	5.19	0.127	40.8	Gutierrez <i>et al.</i> 1990
<i>G. sp.</i>	A Tr	1.2-3.6	0.1-0.5	18.8-22.7	Horrocks <i>et al.</i> 1995
<i>Gracilariopsis lemaneiformis</i> (Bory) Dawson, Acleto <i>et</i> Foldvik <sup>2</sup>	A Tr	0.74- 3.56	0.06-0.50	6.1-36.8	Fontaine y Bonilla-Ruiz 1978
<i>G. cornea</i> J. Agardh	A Tr	0.40- 1.39	0.008- 0.050	15.0-75.0	Este estudio
<i>G. crassissima</i> P. <i>et</i> H. Crouan in Schramm <i>et</i> Mazé	A Tr	0.19- 1.27	0.010- 0.039	15.0-67.0	Este estudio

<sup>1</sup>como *Gracilaria ferox*, <sup>2</sup>como *G. sjoestedtii*

información registrada en la literatura (Tabla 4), se observa que *G. crassissima* y *G. cornea* son especies ubicadas en el extremo de valores mínimos de N en el tejido. Su bajocontenido de N es resultado de las aguas oligotróficas de Bajo Pepito, con concentraciones de nitratos + nitritos disueltos en el agua, de 0.6  $\mu\text{M}$  o menores (Fig. 15b).

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* mostraron una tendencia en el contenido de N, de aumentar de febrero de 1997 a enero de 1998 (Fig. 19a, 19d). Una tendencia similar la mostró el contenido de agar de ambas especies (Fig. 23a de sección correspondiente); esto es, un mayor contenido de N, correspondió con valores altos de agar. Esta tendencia se contrapone a resultados obtenidos de plantas en cultivo (Bird *et al.* 1981, Ekman *et al.* 1991) y colectadas en el ambiente (Hoyle 1978b), donde a mayor contenido de N en el tejido, correspondió menor cantidad de agar (ver Marco Teórico). Sin embargo, y de manera similar a los resultados de mi estudio, una correspondencia entre N en el tejido y agar de poblaciones naturales de *G. tikvahiae* fue reportada por Penniman y Mathieson (1987).

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* mostraron una tendencia inversa (aunque más marcada para la primera especie) entre el contenido de N en el tejido y la biomasa: el N aumentó de febrero de 1997 a enero de 1998 (Fig. 19), mientras que la biomasa disminuyó (Fig. 9). Coincidencia de valores bajos de biomasa con valores altos de N fueron también reportados por Hoyle (1978b). Tales resultados son un tanto contradictorios, ya que cuando las plantas se encontraron en mejores condiciones nutricionales (valores altos de N en el tejido), su biomasa fue menor. Una posible explicación a estos resultados podría ser que el crecimiento de las plantas se encontraba limitado por otro factor, y entonces se acumuló el N que no estaban utilizando para crecer (Fig. 19). Para el caso de las dos especies de *Gracilaria*, el resto de la comunidad algal de Bajo Pepito pudo estar ejerciendo una limitante que impidió su desarrollo, ya que la cobertura del

resto de macroalgas mostró una tendencia inversa al de la biomasa de *G. cornea* y *G. crassissima*: aumentó de febrero-marzo a octubre-noviembre de 1997 (Quan-Young 1999). Esto es, la mayor cobertura del resto de la comunidad algal tal vez impidió el desarrollo de las dos especies de *Gracilaria* de Bajo Pepito, a pesar de que, probablemente, se encontraban en sus mejores condiciones nutricionales.

El contenido de N de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* (Fig. 19) tuvo poca relación con los datos de su tasa de crecimiento (Fig. 17), aunque esto también se ha observado en condiciones de cultivos, para *Gracilaria tikvahiae* (Hwang *et al.* 1987). La disminución relativamente brusca de temperatura y salinidad ocurrida en junio (Fig. 13a, 13b), provocó cambios importantes en *G. cornea* y *G. crassissima*: después de ese evento su biomasa fue menor (Fig. 9), y posteriormente aumentó el contenido de N de su tejido (Fig. 19).

El rango de P registrado en el tejido de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, entre 0.008% y 0.05%, fue menor que el reportado para otras especies de Gracilariaceae, entre 0.026% y 0.5% (Tabla 4). Para el caso de *G. cornea* y *G. crassissima* los valores son los mínimos reportados en la literatura (Tabla 4). Estos bajos valores también reflejan la poca concentración de fosfatos disueltos en el agua de Bajo Pepito a lo largo del año, de 0.5  $\mu\text{M}$  o menor (Fig. 15b).

El contenido de P en el tejido de plantas carpospóricas y del resto de fases reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima* fue significativamente diferente, lo mismo que el N de *G. crassissima* (Fig. 19). Tales resultados son una contraparte de los reportados por Penniman y Mathieson (1987), quienes no encontraron diferencias significativas en el contenido de N y P del tejido de diferentes fases reproductivas de *G. tikvahiae*.

El rango registrado en la proporción N : P de *G. cornea* y *G. crassissima* en este estudio fue entre 15 y 75 (Fig. 19), valores que quedan incluidos dentro de los reportados en la literatura,

de 6.1 a 250.0, para otras especies Gracilariaceae, principalmente de origen tropical (Tabla 4, Johnston 1983, Sfriso *et al.* 1995). Si uno considera como límite la proporción N : P de 35 : 1 para definir la limitación de P o N (Lapointe *et al.* 1992), sería difícil concluir qué elemento limita el crecimiento de las dos especies de *Gracilaria* de Bajo Pepito: ambas presentaron valores menores y mayores de 35 : 1, lo que pudiera interpretarse como que la limitación de N o P se alterna en el tiempo. Sin embargo, esto no es así, ya que la primera especie siempre estuvo limitada por N (Fig. 19a), y la segunda nunca lo estuvo por P (Fig. 19e).

Para propósitos comparativos, y dado que el promedio de N : P de *Gracilaria cornea* fue mayor (40.5) que el de *G. crassissima* (30.2), se podría argumentar que la primera especie estaría más limitada por P que la segunda. Sin embargo, como se indicó antes, esto tampoco es real. Lo expuesto en este y el párrafo anterior ponen de manifiesto que los valores aislados de N, P y N : P del tejido algal no son útiles para definir limitación de nutrientes, y que solo con información experimental es posible obtener conclusiones al respecto (Fong *et al.* 1993), como se mostrará adelante.

Las macroalgas del Caribe mostraron amplias variaciones en los valores de N : P, de 2.3 a 88.3 (Gutierrez *et al.* 1990, Fontaine y Bonilla-Ruiz 1978), con un promedio de 22.6, para 30 especies (calculado de sus Tablas). Tal resultado inclinaría, inclusive, hacia una mayor limitación de N que P, en contradicción a los resultados de Lapointe *et al.* (1992), quienes opinaron que el P sería el principal elemento limitante en los trópicos. Esa limitación potencial de N coincide con los resultados experimentales mostrados en la Fig. 19. Una mayor limitación de N contradice la hipótesis planteada en los Antecedentes, donde se suponía que las características carbonatadas de la península y su plataforma continental (Espejel-Montes 1983, López-Ornat 1983) atraparían al

P disuelto en el agua y lo harían inaccesible a las especies de *Gracilaria* (Armstrong 1965, Dawes 1987, Kitano *et al.* 1978).

Los valores de  $\mu_{\max}$  y  $k_s$  de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* en condiciones limitantes de N y P en el agua, mayores para la primera que para la segunda especie, para los dos elementos nutritivos (Fig. 21), enfatiza las respuestas fisiológicas claramente diferenciadas a los mismos nutrimentos, bajo las mismas condiciones de cultivo en el laboratorio. Por otra parte, estos resultados resaltan las respuestas diferentes de crecimiento que ambas especies presentan ante el mismo ambiente de Bajo Pepito. Así, las diferencias encontradas en el laboratorio se reflejan en las obtenidas del campo, en general con mayor tasa de crecimiento para *G. cornea* que para *G. crassissima* (Fig. 17c). Las diferencias interespecíficas de N y P en parámetros de crecimiento del modelo de Monod son en cierto sentido similares a la encontrada por Rosenberg *et al.* (1984), y a la registrada en los experimentos de Duke *et al.* (1989) sobre absorción de amonio. Sin embargo, esos autores compararon parámetros de crecimiento y absorción de nutrientes de especies muy contrastantes en su morfología, en comparación a las dos especies similares de *Gracilaria* incluidas aquí.

Por otra parte, de los 560 fragmentos utilizados en los experimentos de limitación de crecimiento, en sólo dos de ellos se desarrollaron cistocarpos. Aunque esta observación no es determinante, es posible que la mayor parte de los fragmentos apicales utilizados fueron de plantas tetraspóricas, como se esperaba, y como lo indicarían los datos obtenidos de plantas en reproducción (Fig. 11).

Las concentraciones críticas de N (1.47%, 0.95%) para *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* quedaron comprendidas dentro del rango reportado para una serie de macroalgas marinas (0.9% - 3.1%; Björnsäter y Wheeler 1990, Campbell 2001, Fujita *et al.* 1989, Gordon *et*

al. 1981, Hanisak 1979, 1987, Larned y Stimson 1996, Mizuta *et al.* 1992, Pedersen y Borum 1996, Probyn y Chapman 1983, Schaffelke y Klumpp 1998). Sin embargo, la concentración crítica de P para *G. cornea* (0.017%) resultó estar por debajo de los tres reportes de macroalgas que se tienen al respecto (0.09% - 0.3%; Gordon *et al.* 1981, Manley y North 1984, Schaffelke y Klumpp 1998), pero más aún el valor para *G. cornea* (0.008%). Esto probablemente es resultado de la poca disponibilidad de fosfatos disueltos en el agua de Bajo Pepito, desde prácticamente cero a sólo 0.5  $\mu\text{M}$ .

El análisis conjunto de los resultados obtenidos en los experimentos de limitación de N y P en el tejido (Fig. 22), con los de N y P en el tejido de plantas colectadas en el campo (Fig. 19), demostraron que *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* presentan estrategias contrastantes en el uso de nutrimentos. Por ejemplo, la concentración crítica de los dos elementos nutritivos fue mayor para la primera que para la segunda especie (Fig. 22a, 22b), lo que originó que en el campo la limitación de N y P fuera diferente a lo largo del tiempo para una y otra especie (Fig. 19). Sin duda, esta respuesta diferencial ayuda a las dos especies de *Gracilaria* a coexistir cercanamente bajo las mismas condiciones nutritivas presentes en el agua de Bajo Pepito, de manera similar a como lo reportaron Fujimoto *et al.* (1997) en su estudio sobre especies fitoplanctónicas lacustres, con mediciones de N y P celular. Por ejemplo, *G. cornea* puede utilizar mejor los pulsos de agua con concentraciones altas de N y P, mientras que *G. crassissima* es más eficiente en utilizar los pulsos de agua con concentraciones bajas de nutrimentos disueltos en el agua.

Las diferencias entre *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* en el uso de nutrimentos, de acuerdo al modelo de Droop, son similares a los resultados de macroalgas marinas reportados por Campbell (2001), Fujita *et al.* (1989) y Rosenberg *et al.* (1984). Sin embargo, esos autores

no relacionaron las diferencias observadas al tema de coexistencia, y su comparación comprendió a especies en ocasiones muy diferentes morfológica y taxonómicamente, a diferencia de las dos especies de *Gracilaria*, que comparten una serie de atributos biológicos.

En resumen, *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* presentaron diferencias interespecíficas y entre fases reproductivas en plantas colectadas en el campo, con respecto a su tasa de crecimiento y contenido de N y P en el tejido. Las diferencias interespecíficas se evidenciaron igualmente en experimentos de crecimiento limitante en el laboratorio. A su vez, las diferencias de crecimiento en el laboratorio permitieron notar con claridad la existencia de estrategias diferentes en el uso que las dos especies hicieron del N y P en el campo, por lo cual se acepta la hipótesis 3. Seguramente, el conjunto de diferencias en el uso de nutrimentos favorece la coexistencia de *G. cornea* y *G. crassissima* bajo las mismas condiciones nutritivas del agua de Bajo Pepito, Caribe Mexicano. Esta facilitación para la coexistencia de las dos especies de *Gracilaria* se suma a la existente en su reproducción, biomasa y densidad de plantas, y relacionadas a la aceptación de las hipótesis 1 y 2. Es decir, *G. cornea* y *G. crassissima* presentan diferencias fenológicas y ecológicas que seguramente favorecen su coexistencia en un mismo ambiente marino.

**AGAR DE DOS ESPECIES COEXISTENTES DE *Gracilaria***  
**(RHODOPHYTA) DEL CARIBE MEXICANO**

**ANTECEDENTES**

Las algas marinas rojas (Rhodophyta) producen agar (agarofitas) y carragenanos (carragenofitas), polisacáridos importantes económicamente debido a su uso en la industria alimenticia, textil, cosmética y en laboratorios de investigación y clínicos (Armisen y Galatas 1987, Chapman y Chapman 1980, Lim 1982, Marine Colloids 1988, McLachlan 1985, Stanley 1987, 1990). Una diferencia importante entre el agar y los carragenanos es la menor concentración de grupos sulfatos en el agar (Armisen y Galatas 1987, Craigie y Leigh 1978).

El agar consiste de dos fracciones, la agarosa y la agarpectina, aunque ésta división se considera una simplificación de su estructura compleja (Armisen y Galatas 1987, Armisen-Abos 1992): La agarosa es un polímero de cadena larga formada por unidades o residuos repetidos de  $\beta$ -D-galactopiranososa, conectada a través de los carbonos 1-3 a residuos de 3,6-anhidro-L-galactosa, conectada a través de los carbonos 1-4. La agarpectina está formada por unidades alternantes de D-galactosa y L-galactosa. Una diferencia de esta fracción con la agarosa es su mayor concentración de residuos polares (sulfatos, metilos y ácido pirúvico), los cuales le confieren un muy bajo poder gelificante en agua.

Las Gracilariaceae son las principales productoras de agar en el mundo (Durairatnam y Nascimento 1985), aunque el agar de las Gelidiales es de mejor calidad (Armisen y Galatas 1987, Santelices y Doty 1989). Para incrementar la calidad del agar de las Gracilariaceae, en particular la dureza, las plantas se han pre-tratado en una solución alcalina (NaOH). Otros parámetros que

caracterizan el agar de una planta son su rendimiento y el contenido de 3,6-anhidrogalactosa (AG) y los sulfatos (S); por lo general, a mayor concentración de AG y menor de S, mayor fuerza de gel (Armisen y Galatas 1987, DeCastro *et al.* 1996, Craigie y Wen 1984, Craigie *et al.* 1984, Hansen 1983).

Entre los factores que influyen en el rendimiento o concentración de agar en las especies Gracilariaceae se encuentran la temperatura (Christiaen *et al.* 1987), la salinidad (Bird 1988), los nutrientes disueltos en el agua (Ekman *et al.* 1991, Bird *et al.* 1981), la radiación solar (Ekman y Pedersén 1990) y la interacción de esas variables (Christeller y Laing 1989, Friedlander 1991, Lewis y Hanisak 1996). La variación en el rendimiento del agar de especies Gracilariaceae también depende de la época del año en que se cosecha (Pondevida y Hurtado-Ponce 1996, John y Asare 1975), los sitios de colecta (Pondevida y Hurtado-Ponce 1996), diferentes fenotipos de la misma especie creciendo en ambientes distintos (Oyieke 1994), de acuerdo a fases reproductivas (Kim y Henríquez 1979, Whyte *et al.* 1981) y de la edad del tejido (Craigie y Wen 1984).

Es evidente que los factores que influyen en el rendimiento de agar son múltiples y actúan en conjunto. Una conclusión similar se obtendría si se analizaran aspectos de la calidad del agar. Esto es, cada estudio de variación de la cantidad y la calidad del agar de una especie Gracilariaceae debe asumirse como un caso particular, ya que difícilmente se encuentra información repetida; más bien, deben buscarse explicaciones particulares para la variabilidad de agar de las especies incluidas en cada estudio.

Las propiedades del agar de *G. cornea* y *G. crassissima* (*G. cornea* también como *G. debilis*) han sido estudiadas por Humm y Williams (1948), Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964), Hong *et al.* (1969), Durairatnam (1980), Rincones-León (1990) y Marinho-Soriano *et*

al. (2001); y por Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964) y Lahaye *et al.* (1988), respectivamente. En esos estudios, ambas especies de *Gracilaria* fueron colectadas por separado. En contraste, nosotros investigamos dos especies coexistentes colectadas del mismo sitio, al mismo tiempo. Freile-Pelegrín y Robledo (1997a, 1997b) también han estudiado las características del agar de *G. cornea* del lado del Golfo de México de la península de Yucatán. Las agarofitas muestran diferencias de agar, dependiendo del lugar de origen de las plantas (Armisen y Galatas 1987). Así, en nuestra población esperábamos encontrar diferencias de agar, puesto que nuestro sitio de estudio se encuentra en el lado del Mar Caribe de la península, donde existen condiciones oceanográficas y bióticas contrastantes (Díaz-Martín y Espinoza-Avalos 2000).

En los estudios de *G. cornea* y *G. crassissima* llevados a cabo a la fecha, no se han descrito características del agar de plantas con diferentes fases reproductivas. Ha existido controversia con respecto a si plantas Gracilariaceae en diferente fase reproductiva tienen diferencias en características de su agar. Hoyle (1978b) no encontró diferencias en el rendimiento ni en la fuerza de gel entre el agar de plantas masculina, femenina y tetraspórica de *Gracilaria bursapastoris* (Gmelin) Silva y de *G. coronopifolia* J. Agardh (nombres como en la publicación original). Yao *et al.* (1984) y Minghou *et al.* (1985) reportaron resultados similares para plantas tetraspóricas vs. cistocárpicas de *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss, lo mismo que Durairatnam y Nascimento (1985) para *Gelidiopsis sjoestedtii* Kylin. Tampoco Yao *et al.* (1984) ni Minghou *et al.* (1985) registraron diferencias mayores en el contenido de 3,6-anhidrogalactosa y sulfatos del agar extraído de fases reproductivas de especies de *Gracilaria*. Sin embargo, Kim y Henríquez (1979) reportaron diferencias en el rendimiento de agar de plantas cistocárpicas y tetraspóricas de *G. verrucosa*, mientras que Whyte *et al.* (1981)

encontraron falta de sincronía en fluctuaciones estacionales en la composición química del agar de *G. tipo-verrucosa*, dependiendo del estadio reproductivo de las plantas. Durairatnam y Nascimento (1985) registraron que plantas carpospóricas y tetraspóricas de *G. cylindrica* Børgesen produjeron cantidades comparables de agar, pero con fuerza de gel diferente.

Quizá la incertidumbre causada por los resultados anteriores condujo a McLachlan y Bird (1986) a opinar que la evidencia de diferencias en la composición de agar entre fases nucleares dentro las Gracilariaceae era dudosa. En estudios más recientes, Pickering *et al.* (1990), Gerung *et al.* (1997) y Marinho-Soriano *et al.* (1999) reportaron diferencias en rendimiento y/o fuerza de gel del agar de fases reproductivas de tres especies de *Gracilaria*. Por su parte, Penniman y Mathieson (1987) y Brito-L. y Lemus-C. (1996) mostraron que los estadios reproductivos de dos especies de *Gracilaria* no fueron diferentes en su rendimiento de agar y fuerza de gel.

El objetivo de esta parte del estudio fue determinar si las diferencias en las características del agar de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*, lo mismo que las diferencias de su agar entre fases reproductivas de cada especie reflejaban de alguna manera las diferencias fenológicas y ecológicas de ambas especies. También, comparar las propiedades del agar de *G. cornea* de ambos lados (Golfo de México y Caribe) de la península de Yucatán. Tomando en cuenta que un tratamiento alcalino incrementa la fuerza de gel del agar, y su importancia económica (Armisen y Galatas 1987), se comparan los datos de agar nativo y alcalino de ambas especies de *Gracilaria*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Colecta de material algal.** El sitio de estudio se visitó en febrero 7, marzo 10, abril 14, mayo 16, junio 20, agosto 29, octubre 7, noviembre 25 de 1997, y enero 14 de 1998. En cada visita se colectaron todas las plantas de *Gracilaria* spp. que se encontraron a lo largo de un transecto de 25 m, utilizando un cuadrante de aluminio de 1 m<sup>2</sup>. Las muestras mensuales (25 cuadrantes) también se usaron para medir la biomasa y provienen de la sección A de la figura 8. Los transectos se prefijaron y orientaron (NW) en el fondo con estacas metálicas y una cadena plástica. Las plantas de ambas especies se separaron bajo el agua por fase reproductiva: carpospórica, reconocida por la presencia de cistocarpos, e indeterminada (el resto de plantas). Plantas de cada especie y fase reproductiva se introdujeron bajo el agua en bolsas de plástico. El material colectado se secó primeramente al sol, luego por tres días a 60 °C en una estufa de convección. El tejido seco se molió con un molino Thomas-Wiley®, luego cribado a través de un tamiz con apertura de 0.355 mm. El número limitado de plantas carpospóricas de *G. crassissima* sólo permitieron el análisis de su agar de mayo a agosto de 1997. Por la misma razón, no se proporcionan datos de plantas carpospóricas de *G. cornea* para octubre de 1997 y enero de 1998.

**Extracción de agar (nativo).** Muestras secas y molidas (4g, por triplicado) se colocaron por 3 min en 40 ml de HCl 0.05 N, abundantemente enjuagadas con agua destilada, colocadas en 45 ml de agua destilada, ajustando el pH a 6.5-7.0 con 0.1N NaOH. La extracción se llevó a cabo en una autoclave a 90 °C por 1 h, y concluida sobre una plancha de calentamiento con rotación, hasta que todo el tejido (mezclado con ≈3 g de Celite) se desintegró. El agar extraído se filtró a través de filtros Whatman® 40. La solución de agar se

colectó en recipientes de aluminio y se mantuvo a temperatura ambiente (aprox. 23 °C), hasta que se formó el gel. Los geles fueron congelados y descongelados dos o tres veces, y transferidos a 30 ml de etanol 96% (v/v) por 30 min, lavados dos veces en etanol 70% y una vez en etanol 96%. El agar se secó a 60 °C por 3 d, luego se pesó, y el rendimiento se calculó usando el peso original de la muestra. El procedimiento fue una modificación del descrito por Roleda et al. (1997).

**Tratamiento alcalino** (modificado de Freile-Peegrín y Robledo, 1997a). Las muestras algales, de aproximadamente 3 g, se colocaron por triplicado en 60 ml de 3% NaOH (p/v) a temperatura ambiente. El siguiente día se colocaron en agua de calentamiento a 85 °C por 2 h. Enseguida se removieron del baño, se dejaron a enfriar, y entonces se enjuagaron abundantemente con agua de tubería, luego con agua destilada. Las muestras se lavaron con 60 ml 0.025% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por 10 min, y se colocaron en 90 ml de una solución buffer a pH 6.3. La extracción se efectuó igual que el agar nativo. No se presentan datos de agar alcalino de ambas especies para febrero y marzo de 1997, ya que condiciones desconocidas del tratamiento no permitieron una recuperación eficiente del agar en esos meses.

**Fuerza de gel** (modificado de Miller y Furneaux 1987). Se prepararon geles de agar (1.0%, p/p), disolviendo 0.1 g de agar seco en 9.9 g de agua destilada. Se seleccionó 1.0% como solución de análisis (i. e. no 1.5%), con el fin de usar el mayor número de muestras de (las escasas) plantas carpospóricas. Las soluciones de agar se calentaron a 100 °C por 15 min, luego se agregó más agua para compensar la evaporación. La solución caliente (5 ml) se vació en dos frascos cilíndricos transparentes de policarbonato, de 2 cm de diámetro y 5 cm de altura. El agar se gelificó por un día a temperatura ambiente (aprox. 23 °C), colocando los frascos al revés para evitar que se secase la superficie del gel. La fuerza de gel (g·cm<sup>-2</sup>) se

determinó usando una balanza de dos platos y un pistón de 0.196 cm<sup>2</sup>. Una balanza digital se colocó en uno de los platos de la balanza. Como peso se agregó ( $\approx 40 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ ) agua destilada. También se determinó la fuerza de gel en soluciones 1.5% (p/p) de agar alcalino, sólo para los meses cuando se registró la fuerza de gel mayor de agar al 1.0%. Esos geles se prepararon disolviendo 0.15 g de agar seco en 9.85 g de agua destilada.

**Contenido de 3,6-anhidrogalactosa.** El porcentaje de 3,6-anhidrogalactosa se determinó por el método resorcinol-acetal de Yaphe y Arsenault (1965), modificado por Craigie y Leigh (1978), usando D-fructuosa como estándar. Los estándares se prepararon cada vez que se analizaron muestras. La absorbancia se leyó a 555 nm.

**Contenido de sulfatos.** El porcentaje de grupos sulfato se determinó por el método BaCl<sub>2</sub> de Tabatabai (1974), modificado por Craigie et al. (1984). La hidrólisis de 15-20 mg de agar se llevó a cabo por 2 h a 100 °C en 4 gotas de etanol 95% (para humedecer el agar) y 0.5 ml 2 M HCl, usando tubos Ependorf. Como referencia se usaron soluciones estándar de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**Análisis estadísticos.** Se probó la normalidad de los datos (Kolmogorov-Smirnov), y se sometieron a la prueba Bartlett de homogeneidad de varianzas. Se efectuaron análisis de varianza de dos vías (factores= fase reproductiva y tiempo) para los datos de ambas especies, usando el programa Statistica, versión 4.3, para Windows (Statsoft, Inc., Tulsa, USA). No se efectuaron análisis de varianza de tres vías (tercer factor= especie) porque sólo en tres de nueve meses se colectaron plantas carpospóricas de *G. crassissima*. Por ello, se aplicaron análisis de varianza de dos vías para comparar las propiedades del agar a nivel de especie, considerando en conjunto todos los datos obtenidos de cada especie, sin considerar la fase

reproductiva. Datos sin homogeneidad de varianzas se transformaron usando  $\log(x+1)$  y raíz cuadrada arco seno de  $x$ . La prueba de correlación de Pearson se usó para determinar la relación lineal entre propiedades del agar.

## RESULTADOS

**Rendimiento de agar (RA).** Plantas carpospóricas y del resto de fases reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima* fueron significativamente diferentes en el RA nativo y con tratamiento alcalino (figs. 23a, 23b, 24a, 24b). El RA nativo y alcalino fue significativamente diferente entre *G. cornea* y *G. crassissima* cuando plantas carpospóricas y el resto de fases reproductivas se juntaron en cada especie (figs. 25a, 25b).

**Fuerza de gel (FG).** La FG de agar 1.0% nativo y con tratamiento alcalino de *G. cornea* y *G. crassissima* fue significativamente diferente a nivel intraespecífico (figs. 23c, 23d, 24c, 24d). La FG de agar 1.5% se determinó en agar alcalino de plantas con fases reproductivas mezcladas de *G. cornea* colectadas en agosto, y carpospóricas y el resto de fases reproductivas de *G. crassissima* colectadas en junio y agosto, cuando se registraron los valores más altos de FG de agar 1.0% nativo (figs. 24c, 24d). Los valores promedio de FG de agar 1.5% alcalino de plantas carpospóricas y del resto de fases reproductivas de *G. crassissima* y las fases mezcladas de *G. cornea* fueron  $1281 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,  $1266 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$  y  $1020 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ , respectivamente. La FG de agar 1.0% fue significativamente diferente entre *G. cornea* y *G. crassissima* cuando todas las fases reproductivas se juntaron en cada especie (figs. 25c, 25d).

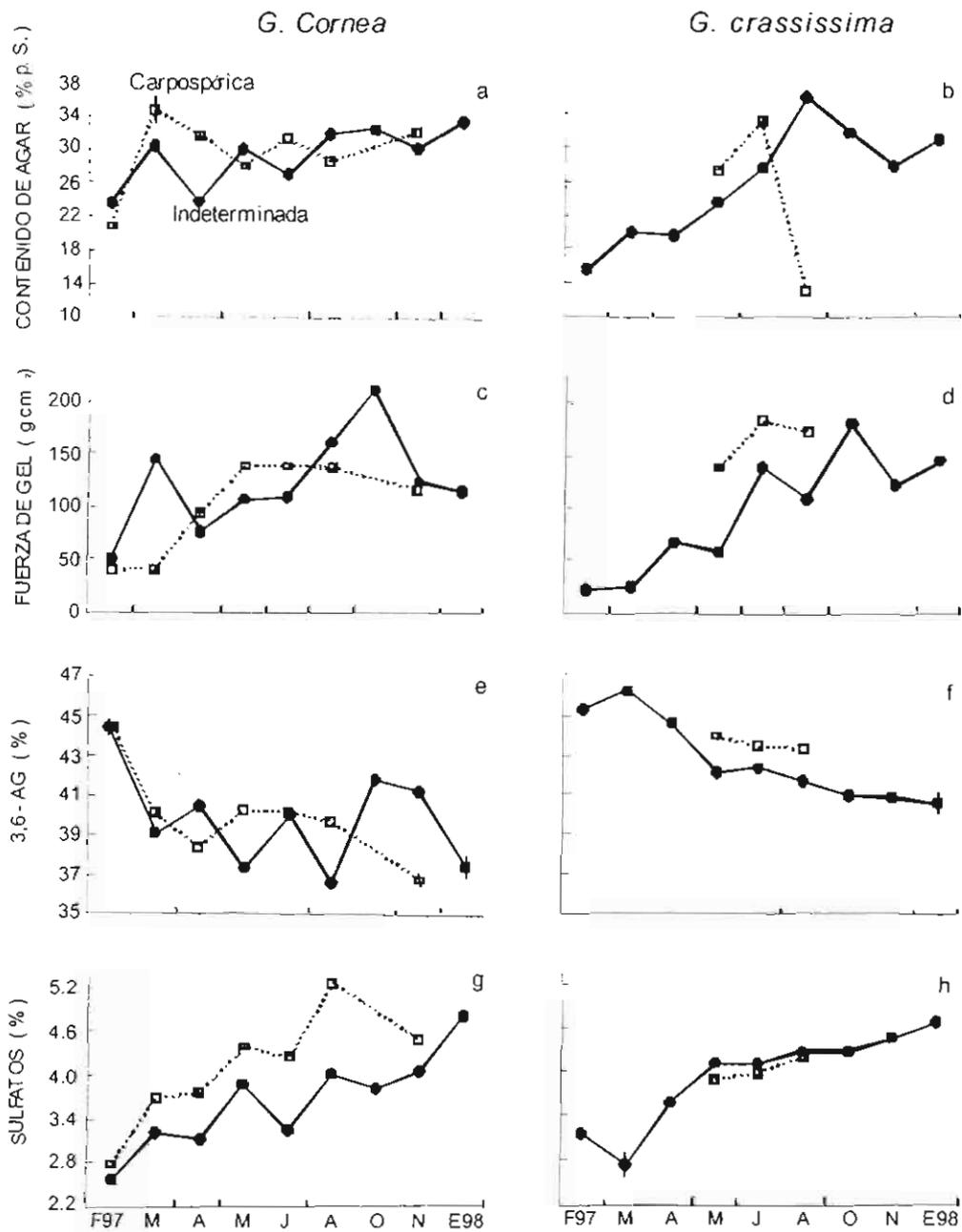


Figura 23. Características del agar nativo de plantas carpospóricas (□) y de fases reproductivas indeterminadas (●) de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. a y b. rendimiento (% de peso seco), c y d. fuerza de gel (g cm<sup>-2</sup>), e y f. contenido de 3,6-anhidrogalactosa (%), g y h. contenido de sulfatos (%).

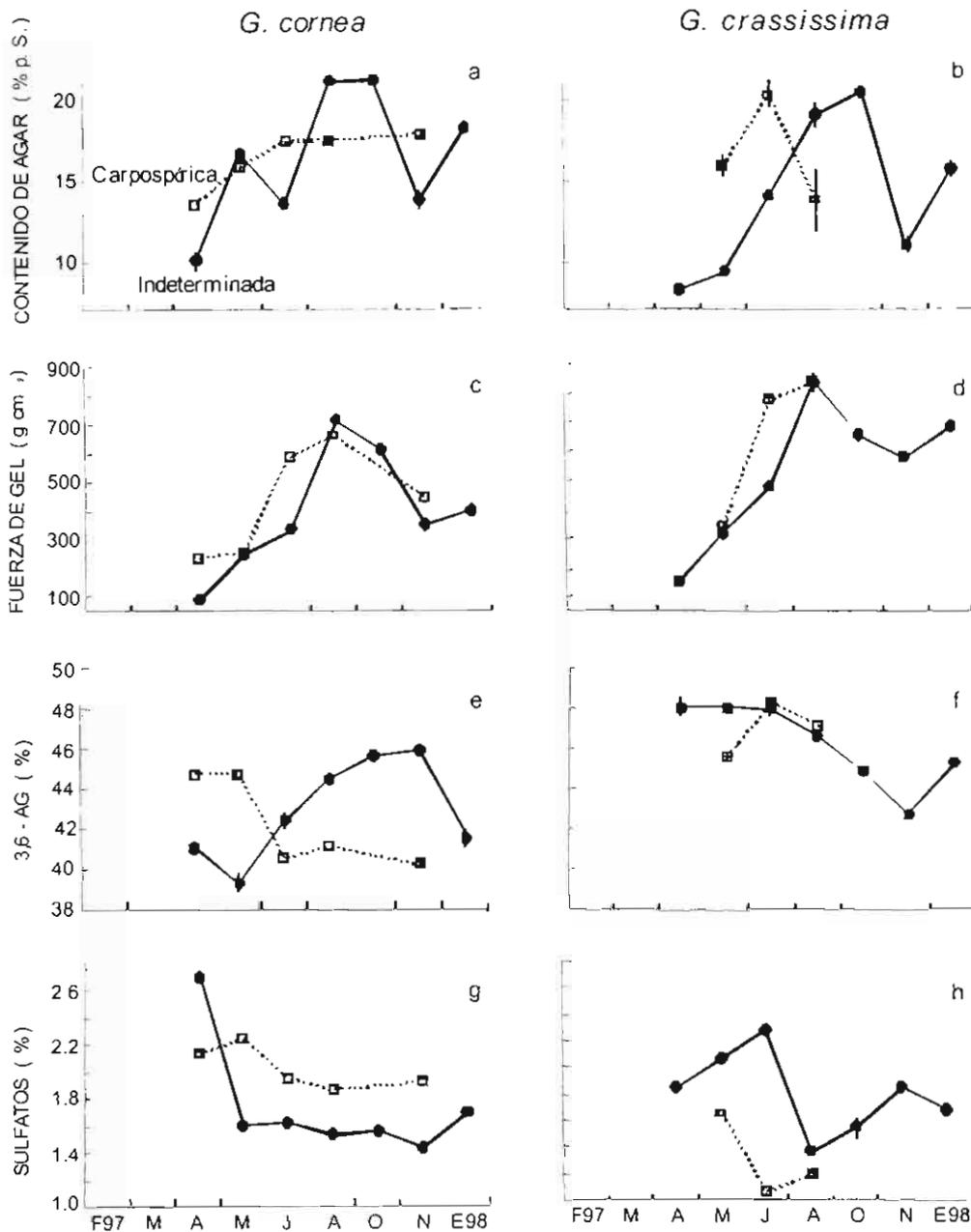


Figura 24. Características del agar alcalino de plantas carpospóricas (□) y de fases reproductivas indeterminadas (●) de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. a y b. rendimiento (% de peso seco), c y d. fuerza de gel (g cm<sup>-2</sup>), e y f. contenido de 3,6-anhidrogalactosa (%), g y h. contenido de sulfatos (%).

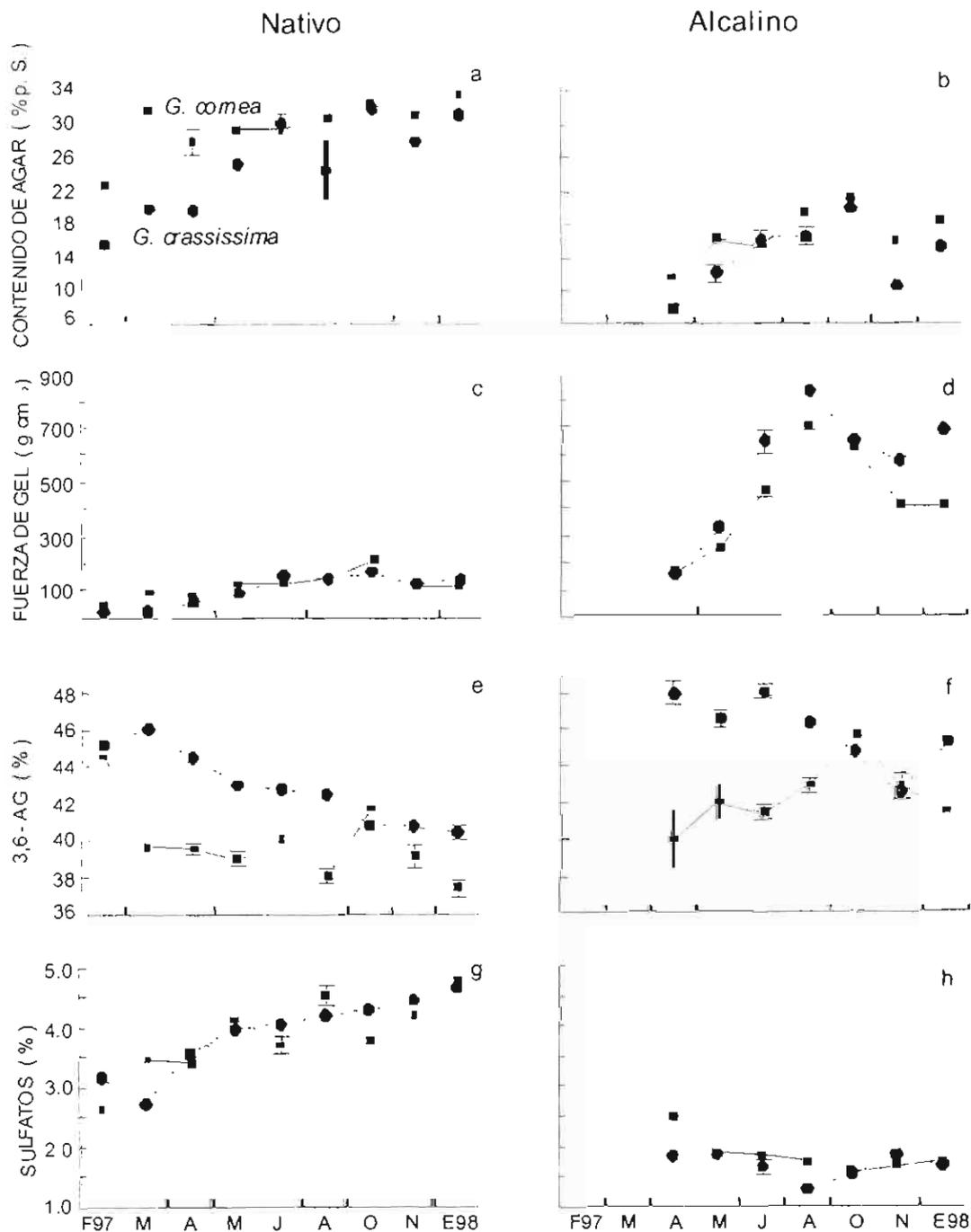


Figura 25. Características del agar nativo y alcalino de plantas de *Gracilaria cornea* (■) y *G. crassissima* (●). a y b. rendimiento (% de peso seco), c y d. fuerza de gel (g cm<sup>-2</sup>), e y f. contenido de 3,6-anhidrogalactosa (%), g y h. contenido de sulfatos (%).

**Contenido de 3,6-anhidrogalactosa (AG).** El porcentaje de AG de agar nativo fue significativamente diferente entre plantas carpospóricas y el resto de fases reproductivas de *G. crassissima*, no para agar con tratamiento alcalino de esta especie, ni para los dos tipos de agar de *G. cornea* (figs. 23e, 23f, 24e, 24f). Sin embargo, cuando plantas de todas las fases reproductivas se analizaron en conjunto en cada especie, el porcentaje de AG de agar nativo y alcalino fue significativamente diferente entre *G. cornea* y *G. crassissima* (figs. 25e, 25f).

**Contenido de sulfatos (S).** El porcentaje de S de agar nativo y con tratamiento alcalino de plantas carpospóricas y del resto de plantas de *G. cornea* y *G. crassissima* fue significativamente diferente (figs. 23g, 23h, 24g, 24h). Diferencias significativas interespecíficas, sin embargo, sólo se registraron para agar alcalino, no para agar nativo (figs. 25g, 25h).

En general, las diferencias en propiedades de agar nativo y con tratamiento alcalino entre las fases reproductivas (figs. 23, 24) no fueron causadas porque en una fase las propiedades fueran consistentemente menores o mayores que en la otra, puesto que interacciones significativas ( $p < 0.002$ ) ocurrieron a lo largo del tiempo en la mayoría de los valores de las propiedades. La única excepción fue en contenido de S de agar nativo de *G. cornea*, donde plantas carpospóricas siempre tuvieron más S que el resto de plantas (fig. 23g). Sin embargo, en este caso el rango de valores fue comparable en las fases reproductivas. También se registraron valores mayores de FG en agar nativo (fig. 23) y menor contenido de S para agar alcalino (fig. 24) de plantas carpospóricas de *G. crassissima*. Sin embargo, en esas comparaciones solo se usaron tres pares de datos.

Relaciones lineales entre las propiedades de agar nativo y alcalino en las fases reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima* no presentaron un patrón consistente. Por

ejemplo, se encontró una correlación positiva significativa ( $r= 0.91$ ) entre AG y S para agar alcalino de plantas carpospóricas de *G. cornea*, pero negativa ( $r= -0.98$ ) entre las mismas propiedades de agar nativo de plantas con fases reproductivas mezcladas de *G. crassissima*. Otros valores de correlación altos que se encontraron entre propiedades del agar de plantas carpospóricas de *G. crassissima* no fueron significativos, debido al reducido número de pares de muestra (3) analizados. Las relaciones lineales entre especies (con las fases reproductivas analizadas en conjunto) también variaron, dependiendo de los factores evaluados. Por ejemplo, el contenido de agar nativo de *G. crassissima* presentó una correlación positiva ( $r= 0.93$ ) con la FG, negativa ( $r= -0.88$ ) con AG y positiva ( $r= 0.84$ ) con S. Por otra parte, el contenido de agar alcalino de *G. cornea* presentó una correlación positiva ( $r= 0.84$ ) con FG y con AG ( $r= 0.85$ ), pero negativa con S ( $r= -0.86$ ).

## DISCUSIÓN

**Rendimiento de agar.** Las propiedades del agar se discutieron por separado, cuando fue posible. Nuestros resultados de RA nativo (20.8-34.6%) y con tratamiento alcalino (10.1-21.2%) de *G. cornea* fueron comparables a los rangos de valores (17.6-42.1% y 14.5-31.6%, respectivamente) reportados por otros autores (Humm y Williams 1948, Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez 1964, Hong *et al.* 1969, Rincones-León 1990, Freile-Pelegrín y Robledo 1997b, Marinho-Soriano *et al.* 2001). Sin embargo, esos valores son mucho menores que los valores de RA reportados por Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964), Durairatnam (1980) y Garza-Barrientos y González-Alanís (1981) (50.2%, 52.0% y 75.7%, respectivamente). Los dos primeros valores se obtuvieron de plantas que se enjuagaron y secaron repetidamente antes de la extracción. El último valor (75.7%) parece ser irregular, puesto que las otras

mediciones difieren mucho de ese valor solitario. Valores promedio de RA nativo de plantas de *G. crassissima* obtenidos en nuestro estudio (13.2-35.7%) fueron comparable a los valores (28.2-44.6%) registrados por Díaz-Pifferrer y Caballer-de-Pérez (1964) y Lahaye *et al.* (1988).

Las correlaciones positivas significativas que se encontraron en este estudio entre RA y FG a niveles intraespecífico e interespecífico de agar nativo y con tratamiento alcalino fueron similares al estudio de Friedlander (1991). En cuatro ocasiones se encontraron correlaciones positivas entre RA y S, a niveles intraespecífico e interespecífico, similar a lo reportado por Sasikumar *et al.* (1997). Sin embargo, también se encontró una correlación negativa significativa entre las dos últimas características del agar a nivel interespecífico.

**Fuerza de gel.** Registros de FG de agar 1.5% nativo ( $13-130 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) y algunos de agar con tratamiento alcalino ( $335-447 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) de *G. cornea* encontrado por otros autores (Humm y Williams 1948, Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez 1964, Hong *et al.* 1969, Durairatnam 1980, Rincones-León 1990, Freile-Peigrín y Robledo 1997a) se encuentran dentro del rango o son menores a nuestros resultados de FG de agar 1.0%, nativo ( $40-213 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) y con tratamiento alcalino ( $97-722 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ), indicando que el agar de *G. cornea* del Caribe Mexicano es más resistente. Además, Freile-Peigrín y Robledo (1997a, 1997b) reportaron valores máximos de FG de agar 1.5% de  $1653 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$  y  $1758 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ , respectivamente, los cuales son mayores que el valor máximo promedio registrado en el presente estudio, para agar 1.5% ( $1020 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ). Los mismos autores (Freile-Peigrín y Robledo 1997a) también encontraron valores más altos de RA (35.6-42.1%) que los nuestros. Su sitio de trabajo y el nuestro se encuentran en la península de Yucatán, pero en los lados Golfo de México y Caribe, respectivamente. Aguas frías de surgencia, ricas en nutrientes, en el lado Golfo de México de la península (Merino 1997) pueden incrementar el nitrógeno en el tejido de *G. cornea*, con un concomitante

incremento en la FG del agar (Patwary y van der Meer 1983a, Craigie *et al.* 1984, Bird 1988, Martínez y Buschmann 1996). Por el contrario, aguas relativamente más cálidas en el lado Caribe de la península pudo causar en el agar de las plantas de nuestro sitio de estudio una disminución en la FG (Craigie y Wen, 1984) y en el RA (Christiaen *et al.* 1987, Bird 1988, Castro 1996).

Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964) reportaron valores de FG de *G. crassissima* comparables (103-132 g·cm<sup>-2</sup>) a nuestros resultados de agar 1.0% (22-185 g·cm<sup>-2</sup>). También registramos valores promedio de FG de agar 1.5% de *G. crassissima* entre 1266 g·cm<sup>-2</sup> y 1281 g·cm<sup>-2</sup>, los cuales son mayores ( $p < 0.006$ ) que el valor promedio (1020 g·cm<sup>-2</sup>) obtenido para *G. cornea*. Lahaye *et al.* (1988) mencionaron que la FG de *G. crassissima*, que midieron en N·cm<sup>-2</sup>, era comparable o mejor que el de agar comercial o agarosa. De esta manera, los valores de FG encontradas en este estudio indican que las dos especies de *Gracilaria* son una fuente potencial de agar para uso comercial.

En dos ocasiones se encontró una correlación negativa común entre FG y S (Yaphe y Duckworth 1972) a niveles intraespecífico e interespecífico. Sin embargo, correlaciones positivas entre esas propiedades del agar también fueron encontradas en tres ocasiones, similar a lo reportado por Bird *et al.* (1981) y Castro (1996). Al igual que Bird *et al.* (1981), nosotros también encontramos correlaciones negativas entre FG y AG para *G. crassissima*.

**Contenido de 3,6-anhidrogalactosa y sulfatos.** Rangos de registros de contenido de AG (Hong *et al.* 1969, Garza-Barrientos y González-Alanís 1981, Freile-Pelegrín y Robledo 1997a) de agar nativo (31.6-40.0%) y con tratamiento alcalino (32.6-47.3%), lo mismo que S de agar nativo (2.9-5.5%) y alcalino (1.2-4.25%) de *G. cornea*, son comparables a nuestros resultados (AG de 36.6-44.7% y 39.2-45.9%, y S de 2.6-5.2% y 1.4-2.8%, para agar nativo y

con tratamiento alcalino, respectivamente). Sin embargo, registramos uno de los valores más altos de S de agar nativo (5.2%) conocido para especies tropicales de Gracilariaceae (entre 1.5% y 5.5%; Sasikumar *et al.* 1997, Freile-Pelegrín y Robledo 1997a, respectivamente). Oyieke (1994) sugirió que el agar de especies Gracilariaceae tropicales generalmente contenían más S que especies de aguas templadas. Esta hipótesis no se sostiene para agar nativo, del cual se ha medido uno de los valores mayores de S (10.0%) en una especie templada (Whyte *et al.* 1981). Por su parte, Rebello *et al.* (1997) infirieron que la FG de agar de especies Gracilariaceae tropicales sería menor que la de especies templadas. Sin embargo, especies tropicales particulares pueden tener agar con FG mayores que especies templadas particulares. Por ejemplo, uno de los valores más altos de FG de agar alcalino de una especie tropical ( $1758 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ), reportado por Freile-Pelegrín y Robledo (1997b), no fue alcanzado por agar extraído de especies templadas (Abbott 1980, Christeller y Laing 1989, Matsuhira y Urzúa 1990, Martínez y Buschmann 1996).

La falta de patrones consistentes y correlaciones contrastantes encontradas en este estudio entre propiedades de agar nativo y alcalino a niveles intraespecífico e interespecífico no tienen explicaciones sencillas (Bird *et al.* 1981, Ekman y Pedersen 1990), y están fuera de los objetivos de este estudio.

**Diferencias intraespecíficas de agar.** Agar nativo y con tratamiento alcalino de plantas carpospóricas *vs.* El resto de fases reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima* fueron significativamente diferentes en RA, FG y S. También fue diferente el contenido de AG de agar nativo entre fases reproductivas de *G. crassissima*. Sin considerar que las plantas a las que no se les determinó la fase reproductiva están compuestas principalmente de plantas tetraspóricas, nuestros resultados indican claramente que las propiedades del agar de plantas

carpospóricas fueron diferentes del resto de las fases reproductivas. Así, diferencias intraespecíficas de agar existieron en *G. cornea* y *G. crassissima*. Sin embargo, las diferencias de la segunda especie deben tomarse con precaución, ya que se basaron sólo en comparaciones de tres pares de valores promedio. Interacciones significativas existieron en la mayoría de factores, indicando que esas diferencias se debieron a ciclos desacoplados en las propiedades del agar, más que a los rangos de valores. En otras palabras, los rangos de valores en las propiedades del agar de las fases reproductivas fueron equivalentes, pero sus valores menores y mayores no coincidieron necesariamente. Estos resultados son similares a los de Whyte *et al.* (1981), quienes reportaron diferencias en las características del agar entre fases reproductivas, las cuales dependieron de fluctuaciones estacionales, no en los valores absolutos. Diferencias intraespecíficas en tasa de crecimiento y biomasa también se encontraron en *G. cornea* y *G. crassissima* (datos no publicados), lo mismo que en otras especies Gracilariaceae (Whyte *et al.* 1981, Pickering *et al.* 1990, Gerung *et al.* 1997). De esa manera, diferencias en la biología propia del nivel intraespecífico pudieron originar diferencias en propiedades del agar a ese nivel.

Nuestros resultados indican que no es apropiado atribuir valores mayores o menores en todas las propiedades del agar a una fase reproductiva particular. Por ejemplo, plantas carpospóricas de una especie de Gracilariaceae pueden tener contenido de S mayor (fig. 23g) o menor (Marinho-Soriano *et al.* 1999), mientras que plantas tetraspóricas pueden tener agar con FG mayor (Kim y Henriquez 1979) o igual (Pickering *et al.* 1990) que otras fases reproductivas. También, el número de propiedades de agar que es diferente entre fases nucleares depende de la especie. Por ejemplo, *G. cornea* y *G. crassissima* mostraron diferencias en RA y/o FG (figs. 23 y 24), pero no otras especies (Yao *et al.* 1984, Marinho-

Soriano *et al.* 1999). En consecuencia, no existe un patrón general aparente en cuanto a diferencias de las propiedades del agar entre fases reproductivas de especies Gracilariaceae.

El potencial de uso comercial de fases reproductivas de especies Gracilariaceae dependiendo de las propiedades de su agar es muy limitado: cuando se han reportado diferencias, los rangos de valores son comparables. Diferencias mayores que las registradas entre fases reproductivas se han obtenido de mutantes. Valores de FG de agar nativo y alcalino del mutante MP40 fueron un orden de magnitud mayores que el de otros mutantes y tipos silvestres de *Gracilaria tikvahiae* (Patwary y van der Meer 1983b). Por ello, hasta ahora el beneficio comercial de diferencias de agar puede buscarse más bien examinando especies diferentes o mutantes, más que entre fases reproductivas de especies Gracilariaceae. Por otro lado, las diferencias en mediciones de agar (y biológicas) entre fases reproductivas, cuando se presenten, pueden tener una relevancia más ecológica que económica.

**Diferencias interespecíficas de agar.** *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* tuvieron diferencias significativas en RA, FG y AG en su agar nativo y con tratamiento alcalino. También el contenido de S de agar alcalino fue diferente entre las dos especies. Diferencias interespecíficas similares en características del agar se han reportado entre otras especies Gracilariaceae coexistentes (Pondevida y Hurtado-Ponce 1996, Falshaw *et al.* 1999). Como ya se mencionó, las dos especies de *Gracilaria* incluidas en este trabajo igualmente presentaron diferencias en aspectos fenológicos y ecológicos. De manera similar, Marinho-Soriano *et al.* (1998) reportaron diferencias fenológicas de dos especies Gracilariaceae coexistentes del Mediterráneo. De esta manera, diferencias biológicas reflejan respuestas fisiológicas desiguales, las que pueden ayudar a explicar las divergencias en la cantidad y calidad del agar entre ambas especies de *Gracilaria* medidas aquí. Bengtsson *et al.* (1994) sugirieron que

diferencias fenológicas entre especies de plantas terrestres pudieran explicar su habilidad de coexistir en simpatria (Huntly *et al.* 1996, Pickering *et al.* 1996). Esta hipótesis se ha fortalecido con especies de plantas congénicas terrestres (Pyke 1990, Shibata y Nakashizuka 1995). Así, las dos especies congénicas de *Gracilaria* analizadas aquí pueden coexistir debido a sus respuestas fenológicas y ecológicas diferentes al ambiente de Bajo Pepito. Eventualmente, esas diferencias fenológicas se registran como diferencias en las propiedades del agar, ambas a nivel interespecífico e intraespecífico. Se concluye que las divergencias en las propiedades del agar entre *G. cornea* y *G. crassissima* son consecuencia de divergencias biológicas entre los dos taxa, divergencias que facilitan su coexistencia en Bajo Pepito.

## CONCLUSIÓN GENERAL

Uno de los elementos que favorece la coexistencia interespecífica de plantas vasculares es la diferencia en sus eventos fenológicos y ecológicos, como son los aspectos reproductivos, en la tasa de crecimiento, la biomasa y la densidad de individuos (Bonis 1998, Huntly *et al.* 1996, Pickering *et al.* 1996). Otro elemento que favorece la coexistencia de organismos fotosintéticos es el uso diferencial que hacen del N y P, lo cual se ha demostrado para el caso del fitoplancton (Rhee y Gotham 1982, Tilman 1982). Las diferencias intraespecíficas también han sido consideradas como elemento que favorece la coexistencia de organismos en general, pero solo existen algunos estudios relacionados a ese nivel (Ekschmitt y Breckling 1994, Kashiwagi *et al.* 1998, Moore *et al.* 1998).

En este estudio se propuso que la coexistencia de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* se facilitaría por la suma de diferencias interespecíficas y por fase reproductiva en los eventos fenológicos y ecológicos mencionados, lo mismo que por el uso diferencial del N y P a nivel interespecífico. De esa manera, la diferencia en sólo uno de esos eventos pudiera ser suficiente para que se facilitara su coexistencia (Blossey 1995). También se propuso que las diferencias fenológicas y ecológicas se reflejarían de manera general en la cantidad y calidad del agar extraído de las dos especies, tanto a nivel interespecífico como por fase reproductiva.

La biomasa y la tasa de crecimiento de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* mostraron tanto diferencias interespecíficas como en las fases reproductivas dentro de la misma especie (Fig. 9, 17), lo mismo que en algunos otros aspectos reproductivos (Fig. 11). Tales diferencias permiten coexistir a las dos agarofitas en Bajo Pepito. Los resultados enfatizan la importancia de aspectos fenológicos y ecológicos en la coexistencia a nivel interespecífico, no resaltado

antes para el caso de macroalgas marinas congenéricas; igualmente enfatiza el papel de las diferencias entre las fases reproductivas para la coexistencia, muy poco considerado para el caso de diferentes organismos (Kashiwagi *et al.* 1998, Moore *et al.* 1998), y nunca para macroalgas.

Las dos especies de *Gracilaria* mostraron diferencias interespecíficas y también por fase reproductiva dentro de la misma especie en su contenido de N y P en el tejido de plantas colectadas a lo largo de un año (Fig. 19, 20). El análisis conjunto de estos datos con los obtenidos en experimentos de laboratorio (Fig. 21, 22) demostró que ambas especies usan de manera diferente los nutrimentos de N y P disueltos en el agua, diferencia que seguramente facilita su coexistencia en Bajo Pepito. Cabe mencionar que la coexistencia de macroalgas por diferencias nutricionales no se había destacado con anterioridad. Por otro lado, la suma de diferencias entre *G. cornea* y *G. crassissima*, en relación a su tasa de crecimiento, aspectos reproductivos, biomasa, densidad y uso del N y P, sin duda incrementan la posibilidad de su coexistencia en Bajo Pepito.

Las diferencias fenológicas y ecológicas que facilitan la coexistencia de las dos especies de *Gracilaria* coinciden de alguna manera con el estudio filogenético de Silvertown *et al.* (2001), quienes expusieron que especies congenéricas de plantas vasculares funcionan idiosincrásicamente, dando a la membresía taxonómica una guía pobre de las respuestas ecológicas esperadas; esto es, especies similares pueden responder al ambiente de manera diferente, independientemente de su cercanía taxonómica (Blossey 1995, Da-Yong y Xin-Hua 1993, Rydin y Barber 2001).

La última propuesta incluida en este estudio fue que los eventos fenológicos y ecológicos se relacionarían con los resultados de agar de las dos especies de *Gracilaria*. Esto

no es fácil de analizar, ya que en este tipo de procesos biológicos no existen relaciones directas, y los factores interactivos son múltiples y complejos (Mayr 1998). Sin embargo, para alentar la propuesta primeramente hay que resaltar que las diferencias interespecíficas y por fase reproductiva entre ambas especies ocurrieron tanto en aspectos fenológicos (biomasa, Fig. 9; tasa de crecimiento, Fig. 17), ecológicos (uso y contenido de N y P en el tejido, Fig. 19 a 22), y en los relativos al agar (Fig. 23 a 25). La presencia de diferencias entre fases reproductivas en sí es un tema en controversia (Durairatnam y do Nascimento 1985, Minghou *et al.* 1985, Patwary y van der Meer 1983a, Penniman y Mathieson 1987, Pinheiro-Joventino y Frota-Bezerra 1980, Guozhong y Meiqin 1986, Whyte *et al.* 1981, Yao *et al.* 1984); en este estudio orientadas positivamente hacia su existencia en especies de Gracilariaceae.

Tal vez la búsqueda de relaciones entre aspectos fenológicos, ecológicos y químicos es más asequible si se analiza en lo general, como se planteó en la hipótesis 4. Para hacerlo, por conveniencia se separó el periodo de estudio en dos épocas: de febrero a junio de 1997 y de julio de 1997 a enero de 1998; la segunda con mayor precipitación pluvial (Quan-Young *et al.* 2004). A diferencia de la segunda parte del año, en la primera se presentó, para ambas especies de *Gracilaria*, mayor biomasa (Fig. 9c) y tasa de crecimiento (Fig. 17c), menor contenido de N en su tejido (Fig. 20a) y menor contenido de agar (Fig. 5a). En esta parte del año se presentaron concentraciones altas de N y P disueltos en el agua (Fig. 15b). Es decir, con buenas condiciones nutritivas en el agua, las algas crecieron más, pero no almacenaron N ni agar en su tejido. Una segunda concentración alta de N en el agua, en la segunda parte del año (Fig. 15b), no se reflejó en mayor biomasa (Fig. 9c) ni en la tasa de crecimiento (Fig. 17c) de las dos especies, pero sí en mayor contenido de N en su tejido (Fig. 19a, 19d), y en su contenido y fuerza de agar (Fig. 5a,

5c). Es decir, en la segunda parte del año las plantas crecieron menos que en la primera parte, pero aumentaron su contenido de N en el tejido, y el contenido y fuerza de su agar.

Resultados específicos como los anteriores se pueden encontrar o explicar por separado en trabajos que incluyen especies de Gracilariaceae (Arellano-Carbajal *et al.* 1999, Bird 1988, Bird *et al.* 1981, Chirapart y Ohno 1993, Hoyle 1978a, Marinho-Soriano 2001, Penniman y Mathieson 1987, Rotem *et al.* 1986). Sin embargo, ninguna de esas relaciones representa un ejemplo de causa-efecto. Otros factores adicionales pudieron modificar el desarrollo de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima* en Bajo Pepito, y ser reflejadas en las variaciones fenológicas y ecológicas medidas para ambas especies. Por ejemplo, los cambios bruscos de temperatura y salinidad ocurridos en junio (Fig. 13a, 13b), y la mayor cobertura del resto de la comunidad algal (Quan-Young *et al.* 2004) en la segunda parte del año, pudieron ir en detrimento del desarrollo de las dos agarofitas en esa parte del año. Aunque estos y otros factores también pudieron influir en el desarrollo de las dos agarofitas, los resultados de campo y laboratorio obtenidos en estudios como los indicados al inicio de este párrafo, y los propios de este estudio, permiten mantener abierta la posibilidad de que las mediciones de agar se relacionen a eventos fenológicos y ecológicos. De esta manera, es posible aceptar la hipótesis 4, ya que la cantidad y calidad del agar de *G. cornea* y *G. crassissima* sería producto de las diferencias en cuanto a tasa de crecimiento, aspectos reproductivos, biomasa, densidad y uso del N y P, que mantienen a nivel interespecífico y entre fases reproductivas, diferencias que a su vez les permite coexistir bajo las mismas condiciones ambientales de Bajo Pepito, en el Caribe Mexicano. Este tipo de enfoque puede permitir un acercamiento a la interrelación de eventos biológicos y el ambiente a diferentes niveles, además de intentar abordar el estudio de temas ficológicos de interés económico con una perspectiva biológica integradora.

## LITERATURA CITADA

- Aarssen, L.W. 1989. Competitive ability and species coexistence: a "plant's-eye" view. *Oikos* 56: 386-401.
- Abbott, I.A. 1980. Some field and laboratory studies on colloid-producing red algae in Central California. *Aqua. Bot.* 8: 255-266.
- Abbott I.A., J. Zhang y B. Xia. 1991. *Gracilaria mixta*, sp. nov. and other Western Pacific species of the genus (Rhodophyta: Gracilariaceae). *Pacific Science* 45: 12-27.
- Ågren, G.I. y T. Fagerström. 1984. Limiting dissimilarity in plants: randomness prevents exclusion of species with similar competitive abilities. *Oikos* 43: 369-375.
- Aguilar, S.A., B.J.A. Etchevers y R.J.E. Castellanos. 1987. *Análisis Químico para Evaluar la Fertilidad del Suelo*. Publicación especial No 1. Soc. Mex. Ciencia del Suelo. México, D.F., 235 p.
- Aguilar-Rosas L.E., M.A. Aguilar-Rosas, R. Aguilar-Rosas y A.C. Mendoza-González. 1997. Nuevos registros de algas marinas para el Caribe Mexicano. *Rev. Biol. Trop.*: 44(3)-45(1): 676-677.
- Aguilar-Rosas, M.A. 1989. *Ecología y sistemática de las algas marinas bentónicas de la parte central de la costa de Quintana Roo*. Tesis de Maestría en Ciencias. CICESE, México, 196 p.
- Aguilar-Rosas, R., R. Marcos-Ramírez, J.M. Lobo-Niembro y J.A. Zertuche-González. 1993. Variación estacional de fases reproductoras y vegetativa de *Gracilaria pacifica* Abbott, en el Estero de Punta Banda, Baja California, México. *Ciencias Marinas* 19: 219-228.

Airoldi, L. 2000. Effects of disturbance, life histories, and overgrowth on coexistence of algal crusts and turfs. *Ecology* 81: 798-814.

Allender, B.M. 1977. Ecological experimentation with the generations of *Padina japonica* Yamada (Dyctiiales: Phaeophyta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 26: 225-234.

Anónimo. 1990. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, Washington, D.C., 1268 p.

Aponte- Diaz, M. y A.L. Lemus-Castro. 1990. Comparative study of the agar obtained from three species of *Gracilaria* feasible for culture in Venezuela. En: E.C. Oliveira y N. Kautsky (eds.). *Cultivation of Seaweeds in Latin America*. Proc. Workshop Cultivation of Seaweeds in Latin America, 1989 April 2-8, São Paulo, SP, Univ. São Paulo, pp. 117-119.

Arellano-Carbajal, F., I. Pacheco-Ruíz y F. Correa-Díaz. 1999. Seasonal variation in agar yield and quality of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acleto *et* Foldvik, from the Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas* 25: 51-62.

Armisen, R. y F. Galatas. 1987. Production, properties and uses of agar. *FAO Fish. Tech. Pap.* 288: 1-57.

Armisen-Abos, R. 1992. Importancia de la estructura química de los ficocoloides. *Cuadernos da Área de Ciencias Mariñas, Seminario de Estudos Galegos* 5: 81-102.

Armstrong, F.A.J. 1965. Phosphorus. En: J.P. Riley y G. Skirrow (eds.). *Chemical Oceanography, Vol. 1*. Academic Press. London, New York. pp. 323-364.

Atkitson, M.J. y S.V. Smith. 1983. C:N:P: ratios of benthic marine plants. *Limnol. Oceanogr.* 28: 568-574.

Bellorin, A.M., M.C. Oliveira y E.C. Oliveira. 2002. Phylogeny systematics of the marine algal family Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta) based on small subunit rDNA and its consequences of Atlantic and Pacific species. *J. Phycol.* 38: 551-563.

Bengtsson, J., T. Fagerström y H. Rydin. 1994. Competition and coexistence in plant communities. *Tren. Ecol. Evol.* 9: 246-250.

Bird, C.J., E.C. de Oliveira y J. McLachlan. 1983. *Gracilaria cornea*, the correct name for the western Atlantic alga hitherto known as *G. debilis* (Rhodophyta, Gigartinales). *Can. J. Bot.* 64: 2045-2051.

Bird, C.J., E.C. de Oliveira y J. McLachlan. 1986. *Gracilaria cornea*, the correct name for the western Atlantic alga hitherto known as *G. Debilis* (Rhodophyta, Gigartinales). *Can. J. Bot.* 64: 2045-2051.

Bird, C.J., E.L. Rice, C.A. Murphy y M.A. Ragan. 1992. Phylogenetic relationships in the Gracilariales (Rhodophyta) as determined by 18S rDNA sequences. *Phycologia* 31: 510-522.

Bird, C.J. y J.M. Kain. 1995. Recommended names of included species of Gracilariaceae. *J. Appl. Phycol.* 7: 335-338.

Bird, K.T. 1988. Agar production and quality from *Gracilaria* sp. strain G-16: effects of environmental factors. *Bot. Mar.* 31: 33-39.

Bird, K.T., C. Habig y T. DeBusk. 1982. Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) *J. Phycol.* 18: 344-348.

Bird, K.T., M.D. Hanisak y J. Ryther. 1981. Chemical quality and production of agars extracted from *Gracilaria tikvahiae* grown in different nitrogen enrichment conditions. *Bot. Mar.* 24: 441-444.

Bird, K.T. y T.K. Hinson. 1992. Seasonal variations in agar yields and quality from North Carolina agarophytes. *Bot. Mar.* 35: 291-295.

Björnsäter, B.R. y P.A. Wheeler. 1990. Effect on nitrogen and phosphorus supply on growth and tissue composition of *Ulva fenestrata* and *Enteromorpha intestinalis* (Ulvales, Chlorophyta). *J. Phycol.* 26: 603-611.

Blossey, B. 1995. Coexistence of two leaf-beetles in the same fundamental niche. Distribution, adult phenology and oviposition. *Oikos* 74: 225-234.

Bold, H.C. y M.J. Wynne. 1978. *Introduction to the Algae. Structure and Reproduction*. Prentice-Hall, New Jersey, 706 p.

Bonis, A. 1998. Coexistence in a variable and unpredictable habitat: the importance of the seed bank and contrasted regeneration niche for annual plants in temporary pools. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. Limnol.* 52: 53-69.

Brito-L., L. y A.J. Lemus-C. 1996. Rendimiento y consistencia del agar de *Gracilaria damaecornis* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta). *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente* 35: 57-62.

Bunge, M. 1991. Una caricatura de la ciencia: la novísima sociología de la ciencia. *Interciencia* 16: 69-77.

Cáceres, C.E. 1997. Temporal variation, dormancy, and coexistence: A field test of the storage effect. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 9171-9175.

Calow, P. (Editor-in-Chief). 1998. *The Encyclopedia of Ecology and Environmental Management*. Blackwell Science, Oxford, 805 p.

Câmara-Neto, C. 1987. Seaweed culture in Rio Grande do Norte, Brazil. *Hydrobiologia* 151/152: 363-367.

Campbell, S. 2001. Ammonium requirements of fast-growing ephemeral macroalgae in a nutrient-enriched marine embayment (Port Phillip Bay, Australia). *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 209: 99-107.

Carmona-Jiménez, J. y M.A. Hernández-Muñoz. 1993. *Ficología. Manual de Términos Ilustrados*. UNAM, Facultad de Ciencias, 80 p.

Carpenter, R.C. 1990. Competition among marine macroalgae: a physiological perspective. *J. Phycol.* 26: 6-12.

Castellanos, I., R. Gasca y G.B. Esnal, 1994. Apendicularias de dos sistemas costeros del Mar Caribe. *Sian Ka'an (Ser. Doc.)* 2: 18-22.

Castro, T.R. 1996. Agar yield, gel strength and sulfate content in *Gracilariopsis heteroclada* farmed in brackishwater canals. *Israeli J. Aquacul. Bamidgeh* 48: 94-98.

Chapman, A.R.O. 1979. *Biology of Seaweeds. Levels of Organization*. University Park Press, Baltimore. 134 p.

Chapman, A.R.O. y J.S. Craigie. 1977. Seasonal growth in *Laminaria longicuris*: relations with dissolved inorganic nutrients and mineral reserves of nitrogen. *Mar. Biol.* 40: 197-205.

Chapman, A.R.O., J.W. Markham y K. Lüning. 1978. Effects of nitrate concentration on the growth and physiology of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) in culture. *J. Phycol.* 14: 195-198.

Chapman, V.J. 1963. The marine algae of Jamaica. Part 2. Phaeophyceae and Rhodophyceae. *Bull. Inst. Jamaica* 12(2): 1-201.

Chapman, V.J. y D.J. Chapman. 1980. *Seaweeds and Their Uses*. 3a. edición. Chapman and Hall, London, 324 p.

- Cheong, L.C. 1990. Seasonality of seamoss (*Gracilaria* spp.) at Kilgwyn Bay, Tobago. *Caribb. Mar. Stud.* 1: 88-93.
- Chidumayo, E.N. 2001. Climate and phenology of savanna vegetation in southern Africa. *J. Veg. Sci.* 12: 347- 354.
- Chirapart, A. y M. Ohno. 1993. Seasonal variation in the physical properties of agar and biomass of *Gracilaria* sp. (*chorda* type) from Tosa Bay, southern Japan. *Hydrobiologia* 260/261: 541-547.
- Christeller, J.T. y W.A. Laing. 1989. The effect of environment on the agar yield and gel characteristics of *Gracilaria sordida* Nelson (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 32: 447-455.
- Christiaen, D., T. Stadler, M. Ondarza y M.C. Verdus. 1987. Structures and functions of the polysaccharides from the cell wall of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales). *Hydrobiologia* 151/152: 139-146.
- Collado-Vides, C.M.L. 1992. *Estudio fisionómico-arquitectónico de las algas del sistema lagunar de Nichupté, Quintana Roo, México*. Tesis Doctoral, UNAM, Facultad de Ciencias, 74 p.
- Collado-Vides, L., I. Ortegón-Aznar, A. Senties-Granados, L. Comba-Barrera y J. González-González. 1998. Macroalgae of Puerto Morelos reef system, Mexican Caribbean. *Hidrobiológica* 8: 133-143.
- Craigie, J.S. y C. Leigh. 1978. Carrageenans and agars. En: J. Hellebust y J.S. Craigie (eds.). *Handbook of Phycological and Biochemical Methods*. Cambridge Univ. Press, Cambridge. pp. 110-131.
- Craigie, J.S. y Z.C. Wen. 1984. Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Can. J. Bot.* 62: 1665-1670.

Craigie J.S., Z.C. Wen y J.P. van der Meer. 1984. Interspecific, intraspecific and nutritionally-determined variations in the composition of agars from *Gracilaria* spp. *Bot. Mar.* 27: 55-61.

Da-Yong, Z. y J. Xin-Hua. 1993. Differential selection in sexes, genetic drift, and stable coexistence of identical species. *Oikos* 68: 177-182.

Dawes, C.J. 1987. The biology of commercially important tropical marine algae. En: K.T. Bird y P.H. Benson (eds.). *Seaweed Cultivation for Renewable Resources*. Elsevier, Amsterdam, New York, pp.155-190.

Dawes, C.J., J. Orduña-Rojas y D. Robledo. 1999. Response of the tropical red seaweed *Gracilaria cornea* to temperature, salinity and irradiance. *J. Applied Phycol.* 10: 419-425.

Daws, M.I., D.F.R.P. Burslem, L.M. Crabtree, P. Kirkman, C.E. Mullis y J.W. Dalling. 2002. Differences in seed germination responses may promote coexistence of four sympatric *Piper* species. *Functional Ecol.* 16: 258-267.

DeBoer, J.A., H.J. Guigli, T.L. Israel y C.F. D'Elia. 1978. Nutritional studies of two red algae. I. Growth rate as a function of nitrogen source and concentration. *J. Phycol.* 14: 261-266.

De-Castro, T.R. 1996. Agar yield, gel strength and sulfate content in *Gracilariopsis heteroclada* farmed in brackishwater canals. *Israeli J. Aquacul. - Bamidgeh* 48:94-98.

DeCastro, T.R., N.G. Guanzon y Ma.R.J. Luhan. 1991. Assessment of stocks of a natural *Gracilaria* population on Panay Island, Philippines. *Bot. Mar.* 34: 383-386.

Dellarosa, V., H. Romo y K. Alveal. 1980. Avances en el conocimiento ecológico de *Gracilaria verrucosa* en el área de Concepción, Chile. *Bolm. Inst. Oceanogr., S. Paulo* 29: 149-155.

Destombe, C., J. Godin, M. Nocher, S. Richerd y M. Valero. 1993. Differences in response between haploid and diploid isomorphic phases of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta: Gigartinales) exposed to artificial environmental conditions. *Hydrobiologia* 260/261: 131-137.

DeWreede, R.E. 1985. Destructive (harvest) sampling. En: M.M. Littler y D.S. Littler. *Handbook of Phycological Methods. Ecological Field Methods: Macroalgae*. Cambridge University Press, New York, pp. 147-160.

Díaz-Martín, M.A. y J. Espinoza-Avalos. 2000. Distribution of brown seaweeds (Phaeophyta) in the Yucatán peninsula, Mexico. *Bull. Mar. Sci.* 66: 279-289.

Díaz-Martín, M.A., E. Torres-Mejía y J. Espinoza-Avalos. 1998. Lista de algas del Área de Protección Yum Balam, Quintana Roo, México. *Rev. Biol. Trop.* 46: 487-492.

Díaz-Piferrer, M. 1964. Adiciones a la flora marina de Cuba. *Carib. J. Sci.*: 4(2-3): 353-371.

Díaz-Piferrer, M. y C. Caballer-de-Pérez. 1964. *Taxonomía, ecología y valor nutrimental de algas marinas de Puerto Rico*. Inst. Biol. Mar., C.A.A.M., Univ. Puerto Rico, Mayaguez, Puerto Rico, 145 p.

Doty, M.S. 1979. Status of marine agronomy, with special reference to the tropics. *Int. Seaweed Symp.* 9: 35-58.

Doty, M.S. 1987. The production and use of *Eucheuma*. *FAO Fish. Tech. Pap.* 281: 123-161.

Dougherty, P.M., D. Whitehead y J.M. Vose. 1994. Environmental influences on the phenology of pines. *Ecological Bulletin* 43: 64-75.

Dreckmann, K.M. 1998. *Clasificación y Nomenclatura de las Macroalgas Marinas Bentónicas del Atlántico Mexicano*. CONABIO, México, D.F., 140 p.

Dreckmann-Estay, K.M. 1997. *Evaluación taxonómica del género Gracilaria Greville (Gracilariales, Rhodophyta) en el Pacífico Tropical Mexicano*. Tesis de Maestría, UNAM-Facultad de Ciencias, 101 p.

Droop, M.R. 1968. Vitamin B<sub>12</sub> and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 48: 689-733.

Droop, M.R. 1973. Some thoughts on nutrient limitation in algae. *J. Phycol.* 9, 264-272.

Dudgeon, S.R., R.S. Steneck, I.R. Davison y R.L. Vadas. 1999. Coexistence of similar species in a space-limited intertidal zone. *Ecol. Monogr.* 69: 331-352.

Duke, C.S., W. Litaker y J. Ramus. 1989. Effects of temperature, nitrogen supply, and tissue nitrogen on ammonium uptake rates of the Chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* and *Codium decorticatum*. *J. Phycol.* 25: 113-120.

Durairatnam, M. 1980. Studies on the agar producing seaweeds and their distribution in northeast Brasil. *Cienc. Cult. (Brazil)* 32: 1358-1372.

Durairatnam, M. 1987. Studies of the yield of agar, gel strength and quality of agar of *Gracilaria edulis* (Gmel.) Silva from Brazil. *Hydrobiologia* 151/152: 509-512.

Durairatnam, M. y H.C. do Nascimento. 1985. Agar-agar from vegetative, cystocarpic and tetrasporic plants of *Gracilaria sjoestedtii* Kylin and *Gracilaria cylindrica* Boergesen. *Seaweed Res. Utiln.* 8: 19-22.

Durairatnam, M. y N. Queiróz-Santos. 1981. Agar from *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss and *Gracilaria sjoestedtii* Kylin from northeast Brasil. *Int. Seaweed Symp.* 10: 669-674.

Ekman, P. y M. Pedersén. 1990. The influence of photon irradiance, day length, dark treatment, temperature, and growth rate on the agar composition of *Gracilaria sordida* W. Nelson

and *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Gigartinales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 33: 483-495.

Ekman, P., S. Yu y M. Pedersén. 1991. Effects of altered salinity, darkness and algal nutrient status on floridoside and starch content,  $\alpha$ -galactosidase activity and agar yield of cultivated *Gracilaria sordida*. *Br. Phycol. J.* 26: 123-131.

Ekschmitt, K. y B. Breckling. 1994. Competition and coexistence: the contribution of modelling to the formation of ecological concepts. *Ecological Modelling* 75/76: 71-82.

Espejel-Montes, J.J. 1983. Biología Acuática: descripción general de los recursos bióticos y económicos. En: CIQRO (ed.). *Sian Ka'an. Estudios Preliminares de una Zona en Quintana Roo Propuesta como Reserva de la Biosfera*. pp. 193-214.

Espinoza, J. y A.R.O. Chapman. 1983. Ecotypic differentiation of *Laminaria longicruris* in relation to seawater nitrate concentration. *Mar. Biol.* 74: 213-218.

Espinoza-Avalos, J. 1995a. Seaweed as food in the Caribbean. *Appl. Phycol. Forum* 11(3): 13.

Espinoza-Avalos, J. 1995b. Algas marinas como alimento humano en Latinoamérica y el Caribe. *Avacient* 14: 3-12.

Espinoza-Avalos, J. 1996a. Estructura de talla y reproducción de *Gelidium robustum* (Rhodophyta) en la parte central de Baja California, México. *Ciencias Marinas* 22: 415-426.

Espinoza-Avalos, J. 1996b. Reflexiones sobre la cosecha, cultivo y coloides de las macroalgas marinas *Gracilaria* y *Eucheuma* en Latinoamérica y el Caribe. *Interciencia* 21: 255-258, 293.

Espinoza-Avalos, J. 1997. Perspectivas de cultivo de macroalgas marinas rojas en Quintana Roo. En: C.I. Caro Caro y E. Sosa Cordero (Eds.). *La Acuicultura en el Sureste de México*. ECOSUR (México), pp. 119-132.

Falshaw, R., R.H. Furneaux, T.D. Pickering and D.E. Stevenson. 1999. Agars from three Fijian *Gracilaria* species. *Bot. Mar.* 42: 51-59.

Fong, P., J.B. Zedler y R.M. Donohoe. 1993. Nitrogen vs. phosphorus limitation of algal biomass in shallow coastal lagoons. *Limnol. Oceanogr.* 38: 906-923

Fontaine, M. y J. Bonilla-Ruiz. 1978. Composición química de macroalgas marinas representativas del Edo. Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente* 17: 35-54.

Forman, R.T.T. y M. Godron. 1986. *Landscape Ecology*. John Wiley & Sons, New York. 619 p.

Foster, M.S., T.A. Dean y L.E. Deysher. 1985. Subtidal techniques. En: M. Littler y D.S. Littler (eds.). *Handbook of Phycological Methods. Ecological Field Methods: Macroalgae*. Cambridge University Press, New York, pp. 199-231

Fredericq, S. y M.H. Hommersand. 1989. Proposal of the Gracilariales Ord. Nov. (Rhodophyta) based on an analysis of the reproductive development of *Gracilaria verrucosa*. *J. Phycol.* 25: 213-227.

Fredericq, S. y M.H. Hommersand. 1990. Diagnoses and key to the genera of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* 204/205: 173-178.

Fredericq, S. y J.N. Norris. 1985. Morphological studies on some tropical species of *Gracilaria* Grev. (Gracilariaceae, Rhodophyta): taxonomic concepts based on reproductive morphology. *Taxonomy of Economic Seaweeds 1*: 137-155.

Freile-Peigrín, Y. y D. Robledo. 1997a. Effects of season on the agar content and chemical characteristics of *Gracilaria cornea* from Yucatán, México. *Bot. Mar.* 40: 285-290.

Freile-Peigrín, Y. y D. Robledo. 1997b. Influence of alkali treatment on agar from *Gracilaria cornea* from Yucatán, México. *J. Appl. Phycol.* 9: 533-539.

Friedlander, M. 1991. Growth rate, epiphyte biomass and agar yield of *Gracilaria conferta* in an annual outdoor experiment. 1. Irradiance and nitrogen. *Bioresource Tech.* 38: 203-208.

Friedlander, M. y C.J. Dawes. 1985. In situ uptake kinetics of ammonium and phosphate and chemical composition of the red seaweed *Gracilaria tikvahiae*. *J. Phycol.* 21: 448-453.

Friedlander, M., M.D. Krom, y A. Ben-Amotz. 1991. The effect of light and ammonium on growth, epiphytes and chemical constituents of *Gracilaria conferta* in outdoor cultures. *Bot. Mar.* 34: 161-166.

Friedlander, M. e Y. Lipkin. 1982. Rearing of agarophytes and carrageenophytes under field conditions in the eastern Mediterranean. *Bot. Mar.* 25: 101-105.

Friedlander, M. y N. Zelikovitch. 1984. Growth rates, phycocolloid yield and quality of the red seaweeds, *Gracilaria* sp., *Pterocladia capillacea*, *Hypnea musciformis*, and *Hypnea cornuta*, in field studies in Israel. *Aquaculture* 40: 57-66.

Fujimoto, N., R. Sudo, N. Sugiura y Y. Inamori. 1997. Nutrient-limited growth of *Microcystis aeruginosa* and *Phormidium tenue* and competition under various N:P supply ratios and temperatures. *Limnol. Oceanogr.* 42: 250-256.

Fujita, R.M. y J.C. Goldman. 1985. Nutrient flux and growth of the red alga *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 28: 265-268.

Fujita, R.M., P.A. Wheeler y R.L. Edwards. 1989. Assessment of macroalgal nitrogen limitation in a seasonal upwelling region. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 53: 293-303.

García-Sánchez, M.J., J.A. Fernández y F.X. Niell. 1996. Photosynthetic response of P-deficient *Gracilaria tenuistipitata* under two different phosphate treatments. *Physiologia Plantarum* 96: 601-606.

Garza-Barrientos, M. A. y R. González-Alanís. 1981. Agar procesado de la planta agarofita *Gracilaria debilis* (Forsskål) Børgesen, de Yucatán, México. VII Simp. Latinoam. Oceanogr. Biol. Resúmenes. Asoc. Latinoam. Investigadores Cienc. Mar., Acapulco, Guerrero, Inst. Biol. UNAM, 87 p.

Gemerden, H. 1974. Coexistence of organisms competing for the same substrate: An example among the purple sulfur bacteria. *Microb. Ecol.* 1: 104-119.

Gerung, G.S., Kamura, S. y Ohno, M. 1997. Phenology and agar yield of *Gracilaria blodgettii* in the tropical water, Okinawa, Japan. *Bull. Mar. Sci. Fish., Kochi Univ.* 17: 23-28.

Goldstein, M.E. 1973. Regeneration and vegetative propagation of the agarophyte *Gracilaria debilis* (Forsskål) Børgesen (Rhodophyceae). *Bot. Mar.* 16: 226-228.

Gordon, D.M., P.B. Birch y A.J. McComb. 1981. Effects of inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of an estuarine *Cladophora* in culture. *Bot. Mar.* 24: 93-106.

Guozhong, R. y C. Meigin. 1986. The effect of temperature on the growth and development of *Gracilaria asiatica*. *Oceanology and Limnology, Academia Sinica* 17: 283-293.

Gutierrez, X.J., J. Bonilla y B. Gamboa. 1990. Composición química de macroalgas representativas de la región nor-oriental de Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente*, 29: 103-131.

Hanisak, M.D. 1979. Nitrogen limitation of *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* as determined by tissue analysis. *Mar. Biol.* 50: 333-337.

Hanisak, M.D. 1983. The nitrogen relationships of marine macroalgae. En: E.J. Carpenter y D.G. Capone (eds.). *Nitrogen in the Marine Environment*. Academic Press, New York, pp. 699-730.

Hanisak, M.D. 1987. Cultivation of *Gracilaria* and other macroalgae in Florida for energy production. En: K.T. Bird y P.H. Benson (eds.). *Seaweed Cultivation for Renewable Resources*. Elsevier, New York, pp. 191-218.

Hanisak, M.D. 1990. The use of *Gracilaria tikvahiae* (Gracilariales, Rhodophyta) as a model system to understand the nitrogen nutrition of cultured seaweeds. *Hydrobiologia* 204/205: 79-87.

Hannach, G. y B. Santelices. 1985. Ecological differences between the isomorphic reproductive phases of two species of *Iridaea* (Rhodophyta: Gigartinales). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 22: 291-303.

Hansen, J.E. 1983. A physiological approach to mariculture of red algae. *J. World Maricul. Soc.* 14: 380-391.

Hay, M.E. 1981. Herbivory, algal distribution, and the maintenance of between-habitat diversity on a tropical fringing reef. *Am. Nat.* 118(4): 520-540.

Hay, M.E. y J.N. Norris. 1984. Seasonal reproduction and abundance of six sympatric species of *Gracilaria* Grev. (Gracilariaceae; Rhodophyta) on a Caribbean subtidal sand plain. *Hydrobiologia* 116/117: 63-72.

Hemmingson, J.A. y R.H. Furneaux. 1997. Biosynthetic activity and galactan composition in different regions of the thallus of *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan et Oliveira. *Bot. Mar.* 40: 351-357.

Hemmingson, J.A., R.H. Furneaux y V.H. Murray-Brown. 1996. Biosynthesis of agar polysaccharides in *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan et Oliveira. *Carbohydrate Res.* 28: 101-115.

Hine, A.E. 1977. *A Glossary of Phycological Terms for Students of Marine Macroalgae*. St. Alden's in the Weeds, Florida, 91 p.

Hoffmann A.J. y B. Santelices. 1991. Banks of algal microscopic forms: hypotheses on their functioning and comparisons with seed banks. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 79: 185-194.

Hong, K.C., Goldstein, M.E. y Yaphe, W. 1969. A chemical and enzymatic analysis of the polysaccharides from *Gracilaria*. *Int. Seaweed Symp.* 6: 473-482.

Horrocks, J.L., G.R. Stewart y W.C. Dennison. 1995. Tissue nutrient content of *Gracilaria* spp. (Rhodophyta) and water quality along an estuarine gradient. *Mar. Freshwater Res.* 46: 975-983.

Hoyle, M.D. 1978a. Reproductive phenology and growth rates in two species of *Gracilaria* from Hawaii. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 35: 273-283.

Hoyle, M.D. 1978b. Agar studies in two *Gracilaria* species (*G. bursapastoris* (Gmelin) Silva and *G. coronopifolia* J. Ag.) from Hawaii. II. Seasonal aspects. *Bot. Mar.* 21: 347-352.

Huerta-M., L. 1958. Contribución al conocimiento de las algas de los bajos de la Sonda de Campeche, Cozumel e Isla Mujeres. *An. Esc. Nal. Cienc. Biol., México*, 9: 115-123.

Huerta-M., L. 1975. La utilidad de los herbarios en los estudios tendientes a encontrar nuevas fuentes alimenticias. *Bol. Soc. Bot. México* 34: 103-109.

- Huerta-Muzquiz, L., A.C. Mendoza-González y L.E. Mateo-Cid. 1987. Avance sobre un estudio de las algas marinas de la península de Yucatán. *Phytologia* 62: 23-53.
- Hulme, P.E. 1996. Herbivory, plan regeneration, and species coexistence. *J. Ecol.* 84: 609-615.
- Humm, H.J. y L.G. Williams. 1948. A study of agar from two Brazilian seaweeds. *Amer. J. Bot.* 35: 287-292.
- Huntly, N., P. Chesson y C.M. Pickerring. 1996. Germination phenology and the coexistence of desert annual plants. *Bull. Ecol. Soc. Amer.* 77: 209.
- Hurtado-Ponce, A.Q. e I. Umezaki. 1987. Growth rate studies of *Gracilaria verrucosa* (Gigartinales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 30: 223-226.
- Hutchinson, G.E. 1961. The paradox of the plankton. *Amer. Nat.* 95: 137-145.
- Hwang, S.-P.L., S.L. Williams y B.H. Brinkhuis. 1987. Changes in internal dissolved nitrogen pools as related to nitrate uptake and assimilation in *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 30: 11-19.
- John, D.M. y S.O. Asare. 1975. A preliminary study of variations in yield and properties of phycocolloids from Ghanaian seaweeds. *Mar. Biol.* 30: 325-330.
- Johnston, H.W. 1971. A detailed chemical analysis of some edible Japanese seaweeds. *Int. Seaweed Symp.* 7: 429-435.
- Jones, A.B., W.C. Dennison y G.R. Stewart. 1996. Macroalgal responses to nitrogen source and availability: amino acid metabolic profiling as a bioindicator using *Gracilaria edulis* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 32: 757-766.
- Jones, W.E. 1959. The growth and fruiting of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 38: 47-56.

Kain, J.M. y C. Destombe. 1995. A review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. *J. Appl. Phycol.* 7: 269-281.

Kain, J.M. y T.A. Norton. 1990. Marine Ecology. En: K.M. Cole y R.G. Sheath (eds.). *Biology of the Red Algae*. Cambridge Univ. Press, New York, pp. 377-422.

Kappanna, A.N. y A. Visweswara-Rao. 1963. Preparation and properties of agar agar from Indian seaweeds. *Indian J. Technol.* 1: 222-224.

Kashiwagi, A., T. Kanaya, T. Yomo y I. Urabe. 1998. How small can the difference among competitors be for coexistence to occur. *Res. Popul. Ecol.* 40: 223-226.

Kashiwagi, A., W. Noumachi, M. Katsuno, M.T. Alam, I. Urabe y T. Yomo. 2001. Plasticity of fitness and diversification process during an experimental molecular evolution. *J. Mol. Evol.* 52: 502-509.

Kautsky, L. 1982. Primary production and uptake kinetics of ammonium and phosphate by *Enteromorpha compressa* in an ammonium sulfate industry outlet area. *Aquatic Botany* 12: 23-40.

Kelt, D.A. y J.H. Brown. 2001. Community structure and assembly rules: confronting conceptual and statistical issues with data on desert rodents. En E. Weiher y P. Keddy (eds.). *Ecological Assembly Rules*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 75-107.

Kilham, S.S. y P. Kilham. 1978. Natural community bioassays: Predictions of results based on nutrient physiology and competition. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 20: 68-74.

Kim, D.H. 1970. Economically important seaweeds, in Chile. I. *Gracilaria*. *Botanica Marina* 13: 140-162.

Kim, D.H. y N.P. Henríquez. 1979. Yields and gel strengths of agar from cystocarpic and tetrasporic plants of *Gracilaria verrucosa* (Florideophyceae). *Int. Seaweed Symp.* 9: 257-262.

Kinlan, B.P., M.H. Graham, E. Sala y P.K. Dayton. 2003. Arrested development of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) embryonic sporophytes: a mechanism for delayed recruitment in perennial kelps? *Journal of Phycology* 39: 47-57.

Kitano, Y., M. Okumura y M. Idogaki. 1978. Uptake of phosphate ions by calcium carbonate. *Geochemical J.* 12: 29-37.

Koch, M.S., R.E. Benz y D.T. Rudnick. 2001. Solid-phase phosphorus pools in highly organic carbonate sediments of Northeastern Florida Bay. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 52: 279-291.

Lahaye, M., J.F. Revol, C. Rochas, J. McLachlan y W. Yaphe. 1988. The chemical structure of *Gracilaria crassissima* (P. et H. Crouan in Schramm et Mazé) P. et H. Crouan in Schramm et Mazé and *G. tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) cell-wall polysaccharides. *Bot. Mar.* 31: 491-501.

Lapointe, B.E. 1981. The effect of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 17: 90-95.

Lapointe, B.E. 1985. Strategies for pulsed nutrient supply to *Gracilaria* cultures in the Florida keys: interactions between concentration and frequency of nutrient pulses. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 93: 211-222.

Lapointe, B.E. 1987. Phosphorus-and nitrogen-limited photosynthesis and growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) in the Florida keys: an experimental field study. *Mar. Biol.* 93: 561-568.

Lapointe, B.E. 1989. Macroalgal production and nutrient relations in oligotrophic areas of Florida Bay. *Bull. Mar. Sci.* 44: 312-323.

Lapointe, B.E., C.J. Dawes y K.R. Tenore. 1984. Interactions between light and temperature on the physiological ecology of *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales: Rhodophyta). *Mar. Biol.* 80: 171-178.

Lapointe, B.E., M.M. Littler y D.S. Littler. 1992. Nutrient availability to marine macroalgae in siliciclastic versus carbonate-rich coastal waters. *Estuaries* 15: 75-82.

Lapointe, B.E. y J. O'Connell. 1989. Nutrient-enhanced growth of *Cladophora prolifera* in Harrington Sound, Bermuda: Eutrophication of a confined, phosphorus-limited marine ecosystem. *Est., Coast. and Shelf Sci.* 28: 347-360.

Lapointe, B.E., K.R. Tenore y C.J. Dawes. 1984. Interactions between light and temperature on the physiological ecology of *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales: Rhodophyta). *Mar. Biol.* 80: 161-170.

Larned, S.T. 1998. Nitrogen- versus phosphorus-limited growth and sources of nutrients for coral reef macroalgae. *Mar. Biol.* 132: 409-421.

Larned, S.T. y J. Stimson. 1996. Nitrogen-limited growth in the coral reef chlorophyte *Dyctiosphaeria cavernosa*, and the effect of exposure to sediment-derived nitrogen on growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 145: 95-108.

Lee, I.K., M.S. Kim y S.M. Boo. 1995. A taxonomic appraisal of Korean *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta, Gracilariales). *Taxonomy Econ. Seaweeds* 5: 213-222.

Lewis, R.J. y M.D. Hanisak. 1996. Effects of phosphate and nitrate supply on productivity, agar content and physical properties of agar of *Gracilaria* strain G-16S. *J. Appl. Phycol.* 8: 41-49.

Lignell, Å. y M. Pedersén. 1989. Agar composition as a function of morphology and growth rate. Studies on some morphological strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 32: 219-227.

Lim, J.R. 1982. *Farming the Ocean (The Genu History)*. R.P. Garcia Publishing Co., Inc. San Antonio, Forbes Park, Manila, Historical Conservation Society 36, 177 p.

Littler, D.S. y M.M. Littler. 1997. An illustrated marine flora of the Pelican Cays, Belize. *Bull. Biol. Soc. Wash.* 9: 1-149.

Littler, D.S. y M.M. Littler. 2000. *Caribbean Reef Plants. An Identification Guide to the Reef Plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico*. OffShore Graphics, Inc., Washington, 542 p.

Littler, D.S., M.M. Littler, K.E. Bucher y J.N. Norris. 1989. *Marine Plants of the Caribbean. A Field Guide from Florida to Brazil*. Airlife, England, 263 p.

Littler, M.M., D.S. Littler y P.R. Taylor. 1987. Functional similarity among isomorphic life-history phases of *Polycavernosa debilis* (Rhodophyta, Gracilariaceae). *J. Phycol.* 23: 501-505.

López-Ormat, A. 1983. Localización y medio físico. En: CIQRO (ed.). *Sian Ka'an. Estudios Preliminares de una Zona en Quintana Roo Propuesta como Reserva de la Biosfera*. pp. 21-49.

Luhan, M.R.J. 1996. Biomass and reproductive states of *Gracilaria heteroclada* Zhang et Xia collected from Jaro, Central Philippines. *Bot. Mar.* 39: 207-211.

Luxoro, C. y B. Santelices. 1989. Additional evidence for ecological differences among isomorphic reproductive phases of *Iridaea laminarioides*. *J. Phycol.* 25: 206-212.

Maggs, C.A. y D.P. Cheney. 1990. Competition studies of marine macroalgae in laboratory culture. *J. Phycol.* 26: 18-24.

Makulla, A. y U. Sommer. 1993. Relationships between resource ratios and phytoplankton species composition during spring in five north German lakes. *Limnol. Oceanogr.* 38: 846-856.

Manley, S.L. y W.J. North. 1984. Phosphorus and growth of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta) sporophytes. *J. Phycol.* 20: 389-393.

Marine Colloids. 1988. *General carrageenan application technology*. FMC Corporation. The Carrageenan People, Number G-31, 18 p.

Marinho-Soriano, E. 1999. Biomass and agar yield of *Gracilaria bursa-pastoris* in a Mediterranean lagoon. *Seaweed Res. Utiln.* 21: 1-8.

Marinho-Soriano, E., Bourret, E., de Casabianca, M.L. y Maury, L. 1999. Agar from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria bursa-pastoris*. *Biores. Technol.* 67: 1-5.

Marinho-Soriano, E., T. Laugier y M.-L. De Casabianca. 1998. Reproductive strategy of two *Gracilaria* species, *G. bursa-pastoris* and *G. gracilis*, in a Mediterranean lagoon (Thau, France). *Bot. Mar.* 41: 559-564.

Marinho-Soriano, E., T.S.F. Silva y W.S.C. Moreira. 2001. Seasonal variation in the biomass and agar yield from *Gracilaria cervicornis* and *Hydropuntia cornea* from Brazil. *Biores. Technol.* 717: 115-120.

Martinez, L.A. y A.H. Buschmann. 1996. Agar yield and quality of *Gracilaria chilensis* (Gigartinales, Rhodophyta) in tank culture using fish effluents. *Hydrobiologia* 326/327: 341-345.

Matsuhiro B. y C.C. Urzua. 1988. Agarans from tetrasporic and cystocarpic *Gelidium lingulatum*. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 33: 135-140.

- Mayr, E. 1998. *Así es la Biología*. Debate, Madrid, 326 p.
- McGlathery, K.J., R.W. Howarth y R. Marino. 1992. Nutrient limitation of the macroalga, *Penicillus capitatus*, associated with subtropical seagrass meadows in Bermuda. *Estuaries* 15: 18-25.
- McLachlan, J. 1985. Macroalgae (seaweeds): industrial resources and their utilization. *Plant and Soil* 89: 137-157.
- McLachlan, J. y C.J. Bird. 1984. Geographical and experimental assessment of the distribution of *Gracilaria* species (Rhodophyta: Gigartinales) in relation to temperature. *Helgol. Meeresunt.* 38: 319-334.
- McLachlan, J. y C.J. Bird. 1986. *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. *Aq. Bot.* 26: 27-49.
- Melo, R.A. y Neushul, M. 1993. Life history and reproductive potential of the agarophyte *Gelidium robustum* in California. *Hydrobiologia* 260/261: 223-229.
- Merino, M. 1997. Upwelling on the Yucatan Shelf: hydrographic evidence. *J. Mar. Syst.* 13: 101-121.
- Miller, I.J. y Furneaux, R.H. 1987. Chemical characteristics of the galactans from the forms of *Gracilaria secundata* from New Zealand. *Bot. Mar.* 30: 427-435.
- Minghou, J., M. Lahaye y W. Yaphe. 1985. Structure of agar from *Gracilaria* spp (Rhodophyta) collected in the People's Republic of China. *Bot. Mar.* 28: 521-528.
- Mizuta, H., Y. Maita y M. Yanada. 1992. Seasonal changes of nitrogen metabolism in the sporophyte of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 2345-2350.

Moncreiff, C.A., M.J. Sullivan y A.E. Daehnick. 1992. Primary production dynamics in seagrass beds of Mississippi Sound: the contributions of seagrass, epiphytic algae, sand microflora, and phytoplankton. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 87: 161-171.

Moore, L.R., G. Rocap y S.W. Chisholm. 1998. Physiology and molecular phylogeny of coexisting *Prochlorococcus* ecotypes. *Nature* 393: 464-467.

Morcom, N.F., S.A. Ward y W.J. Woelkerling. 1997. Competition of epiphytic nongeniculate corallines (Corallinales, Rhodophyta): overgrowth is not victory. *Phycologia* 36: 468-471.

Navarro-Angulo, L. y D. Robledo. 1999. Effects of nitrogen source, N:P ratio and pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. *Hydrobiologia* 398/399: 315-320.

Nixon, S.W. 1981. Remineralization and nutrient cycling in coastal marine ecosystems. En: B.J. Neilson y L.E. Cronin (eds.). *Estuaries and Nutrients*. The Human Press, New Jersey, pp. 111-138.

Norris, J.N. 1985a. *Gracilaria* and *Polycavernosa* from the Caribbean and Florida: key and list of the species of economic potential. *Taxonomy of Economic Seaweeds I*: 101-113.

Norris, J.N. 1985b. *Gracilaria* from the Gulf of California: key, list and distribution of the common species. *Taxonomy of Economic Seaweeds I*: 93-99.

Novacek, I., C.J. Bird y J. McLachlan. 1986. The effect of temperature on development and reproduction in *Chorda filum* and *C. Tomentosa* (Phaeophyta, Laminariales) from Nova Scotia. *Can. J. Bot.* 64: 2414-2420.

Oliveira, E.C. y K. Alveal. 1990. The mariculture of *Gracilaria* (Rhodophyta) for the production of agar. En: I. Akatsuka (ed.). *Introduction to Applied Phycology*. SPB Academic Publ. bv, The Hague, The Netherlands. pp. 553-564.

Oliveira, E.C. y E.M. Plastino. 1994. Gracilariaceae. En: I. Akatsuka (ed.). *Biology of Economic Algae*. SPB Academic Publishing bv, Holanda, pp. 185-226.

Orduña-Rojas, J. y D. Robledo. 1999. Effects of irradiance and temperature on the release and growth of carpospores from *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 42: 315-319.

Orduña-Rojas, J. y D. Robledo. 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatán, Mexico. II. Biomass assessment and reproductive phenology. *Botanica Marina* 45: 459-464.

Orduña-Rojas, J., D. Robledo y C.J. Dawes. 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatán, Mexico. I. Seasonal physiological and biochemical responses. *Botanica Marina* 45: 453-458.

Ortiz-Sotomayor, A. y L.R. Almodóvar. 1982. El género *Gracilaria* (Gigartinales: Rhodophycophyta) en Puerto Rico y su posible potencial como agarofita a escala industrial. *Carib. J. Sci.* 18: 49-59.

Oyieke, H.A. 1994. The effect of phenotypic plasticity on agar from *Gracilaria salicornia* (J. Ag.) Dawson (Gracilariales, Rhodophyta) in Kenya. *Bioresource Technol.* 49: 267-271.

Oza, R.M.. 1978. Studies on Indian *Gracilaria*. IV. Seasonal variation in agar and gel strength of *Gracilaria corticata* J. Ag. occurring on the coast of Veraval. *Bot. Mar.* 21: 165-167.

Parsons T.R., M. Takahashi y B. Hargrave. 1977. *Biological Oceanographic Processes*. Pergamon Press, New York, 332 p.

Patwary, M.U. y J.P. van der Meer. 1983a. Improvement of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) by genetic modification of thallus morphology. *Aquaculture* 33: 207-214.

Patwary, M.U. y J.P. van der Meer. 1983b. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). IX: some properties of agars extracted from morphological mutants. *Bot. Mar.* 26: 295-299.

Pedersen, M.F. y J. Borum. 1996. Nutrient control of algal growth in estuarine waters. Nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 142: 261-272.

Penniman, C.A. y A.C. Mathieson. 1987. Variation in chemical composition of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. *Bot. Mar.* 30: 525-534.

Penniman, C.A., A.C. Mathieson y C.E. Penniman. 1986. Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. *Bot. Mar.* 29: 147-154.

Phang, S.M., S. Shaharuddin, H. Noraishah y A. Sasekumar. 1996. Studies on *Gracilaria changii* (Gracilariales, Rhodophyta) from Malaysian mangroves. *Hydrobiologia* 326/327: 347-352.

Pickering, C.M., N. Huntly y P. Chesson. 1996. Variation found in the growth phenology of desert winter annual plants indicate that temporal environmental variation within a growing season contributes to species coexistence. *Bull. Ecol. Soc. Amer.* 77: 353.

Pickering, T.D., M.E. Gordon y L.J. Tong. 1990. Seasonal growth, density, reproductive phenology and agar quality of *Gracilaria sordida* (Gracilariales, Rhodophyta) at Mokokoko Inlet, New Zealand. *Hydrobiol.* 204/205: 253-262.

Pinheiro-Joventino, F. y C.L. Frota-Bezerra. 1980. Estudo de fenologia e regeneração de *Gracilaria domingensis* Sonder (Rhodophyta, Gracilariaceae), no estado de Ceará. *Arq. Ciên. Mar.* 20: 33-41.

Plastino, E.M. 1991. *Cultivo in vitro, estudos reprodutivos e biosistemática de algas Gracilarióides (Rhodophyta, Gracilariales) de talo cilíndrico*. Tesis doctoral, Universidade de São Paulo, Brasil, 170 p.

Pondevida, H.B. y A.Q. Hurtado-Ponce. 1996. Assessment of some agarophytes from the coastal areas of Iloilo, Philippines. II. Seasonal variations in the agar quality of *Gracilaria changii*, *Gracilaria manilaensis* and *Gracilariopsis bailinae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 39: 123-127.

Poore, A.G.B. y T. Fagerström. 2001. Intraclonal variation in macroalgae: causes and evolutionary consequences. *Selection 1*: 123-133.

Prieto, I., R. Westermeier y D. Muller. 1991. Variación de fenofases de *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan y Oliveira (Rhodophyta, Gigartinales), en condiciones de cultivo en laboratorio y terreno. Presencia de fases mezcladas. *Rev. Chilena Hist. Nat.* 64: 343-352.

Probyn, T.A. y A.R.O. Chapman. 1983. Summer growth of *Chordaria flagelliformis* (O.F. Muell.) C. Ag.: physiological strategies in a nutrient stressed environment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 73: 243-271.

Pyke, D.A. 1990. Comparative demography of co-occurring introduced and native tussock grasses: persistence and potential expansion. *Oecologia* 82: 537-543.

Quan-Young, L.I. 1999. *Macroalgas asociadas a un manto mixto de Gracilaria crassissima y G. cornea (Rhodophyta) en Isla Mujeres, Quintana Roo*. Tesis Profesional, Instituto Tecnológico de Chetumal, Quintana Roo, 116 p.

Quan-Young, L.I., M.A. Díaz-Martín y J. Espinoza-Avalos. 2004. Floristics, cover, and phenology of marine macroalgae from Bajo Pepito, Isla Mujeres, Mexican Caribbean. *Bull. Mar. Sci.* 75: 11-25.

Ramírez-Roman, A.S. 1971. *Estudio químico preliminar de algunas algas marinas del territorio de Quintana Roo, mar Caribe Mexicano*. Tesis profesional, U.A.N.L., Monterrey, N.L. 40 p. + 8 láminas.

Rebello J., M. Ohno, A.T. Critchley y M. Sawamura. 1996. Growth rates and agar quality of *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft from Namibia, Southern Africa. *Bot. Mar.* 39: 273-279.

Rebello J., M. Ohno, H. Ukeda y M. Sawamura. 1997. Agar quality of commercial agarophytes from different geographical origins: 1. Physical and rheological properties. *J. Appl. Phycol.* 8: 517-521.

Ren, G. y M. Chen. 1986. The effect of temperature on the growth and development of *Gracilaria asiatica*. *Oceanol. Limnol. Sin.* 17: 283-293.

Rhee, G.-Y. 1980. Continuous culture in phytoplankton ecology. *Microbiol.* 2: 151-203.

Rhee, G.-Y. y I.J. Gotham. 1980. Optimum N:P ratios and coexistence of planktonic algae. *J. Phycol.* 16: 486-489.

Rincones-Leon, R.E. 1990. Experimental cultivation of an agarophyte alga: *Gracilaria cornea* in the northwest coast of Venezuela. En: E.C. Oliveira y N. Kautsky (eds.). *Cultivation of Seaweeds in Latin America*. Proc. Workshop Cultivation of Seaweeds in Latin America, 1989 April 2-8, São Paulo, SP, Univ. São Paulo, pp. 65-67.

Rivers, J.S. y P. Peckol. 1995. Interactive effects of nitrogen and dissolved inorganic carbon on photosynthesis, growth, and ammonium uptake of the macroalgae *Cladophora vagabunda* and *Gracilaria tikvahiae*. *Mar. Biol.* 121: 747-753.

Roleda M.Y., E.T. Ganzon-Fortes y N.E. Montaña. 1997. Agar from vegetative and tetrasporic *Gelidiella acerosa* (Gelidiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 40: 501-506.

Rosenberg, G. y T.A. Probyn. 1984. Nutrient uptake and growth kinetics in brown seaweeds: response to continuous and single additions of ammonium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 80: 125-146.

Rosenberg, G., T.A. Probyn y K.H. Mann. 1984. Nutrient uptake and growth kinetics in brown seaweeds: response to continuous and single additions of ammonium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 80: 125-146.

Rotem, A., N. Roth-Bejerano y S.M. Arad. 1986. Effect of controlled environmental conditions on starch and agar contents of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae). *J. Phycol.* 22: 117-121.

Rydin, H. y K.E. Barber. 2001. Long-term and time-scale coexistence of closely related species. *Folia Geobot.* 36: 53-61.

Salgado-Peña, J.F. 1995. *Caracterización de las comunidades bentónicas de una área de pesca de langosta (*Panulirus argus*, Latreille 1804) en los Cayos-Contoy, Quintana Roo, México.* Tesis Profesional, U.A.B.C., 87 p.

Santelices, B. 1988. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). *FAO Fisheries Synopsis* 145: 1- 55.

Santelices, B. 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 28: 177-276.

- Santelices, B. y M.S. Doty. 1989. A review of *Gracilaria* farming. *Aquaculture* 78: 95-133.
- Santelices, B. y D. Varela. 1995. Regenerative capacity of *Gracilaria* fragments: effects of size, reproductive state and position along the axis. *J. Applied Phycol.* 7: 501-506.
- Sasikumar, C., Rao, V.N.R. y Rengasamy R. 1997. Effect of alkali treatment of red algae *Gracilaria blodgettii* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta) on agar quality. *Ind. J. Mar. Sci.* 26: 191-194.
- Schaffelke, B. y D.W. Klumpp. 1997. Growth of germlings of the macroalga *Sargassum baccularia* (Phaeophyta) is stimulated by enhanced nutrients. *Proc. 8th Int. Coral Reef Sym.* 2: 1839-1842.
- Schaffelke, B. y D.W. Klumpp. 1998. Nutrient-limited growth of the coral reef macroalga *Sargassum baccularia* and experimental growth enhancement by nutrient addition in continuous flow culture. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 164: 199-211.
- Senties-G. A., M.T. Fujii y D. Rodríguez. 2001. *Laurencia venusta* (Ceramiales, Rhodophyta): a new record from the Atlantic Ocean. *Bot. Mar.* 44: 95-99.
- Sfriso, A., A. Marcomini y B. Pavoni. 1995. *Gracilaria* distribution, production and composition in the lagoon of Venice. *Bioresource Technology* 50: 165-173.
- Shibata, M. y T. Nakashizuka. 1995. Seed and seedling demography of four co-occurring *Carpinus* species in a temperate deciduous forest. *Ecology* 76: 1099-1108.
- Silva, P.C., P.W. Basson y R.L. Moe. 1996. Catalogue of the Benthic Marine Algae of the Indian Ocean. *Univ. Calif. Publ. Botany* 79: 1-1259.
- Silva, R.L., S.M.B. Pereira, E.C. de Oliveira y U.R. Eston. 1987. Structure of a bed of *Gracilaria* spp. (Rhodophyta) in Northeastern Brazil. *Botanica Marina* 30: 517-523.

Silvertown, J., M. Dodd y D. Gowing. 2001. Phylogeny and the niche structure of meadow plant communities. *J. Ecol.* 89: 428-435.

Smit, A.J., B.L. Robertson y D.R. du Preez. 1997. Influence of ammonium-N pulse concentrations and frequency, tank condition and nitrogen starvation on growth rate and biochemical composition of *Gracilaria gracilis*. *J. Appl. Phycol.* 8: 473-481.

Smith, A.H. 1990. Commercial cultivation of *Gracilaria* spp used for food in the West Indies. En: E.C. Oliveira y N. Kautsky (eds.). *Cultivation of Seaweeds in Latin America*. Proc. Workshop Cultivation of Seaweeds in Latin America, 1989 April 2-8, São Paulo, SP, Univ. São Paulo, pp.75-78.

Smith, A.H. 1992. Seaweed cultivation in the West Indies. En: K.E. Mshigeni, J. Bolton, A. Critchley y G. Kiangi (eds.). Proc. First Inter. Workshop Sustain. Seaweed Resour. Develop., Windhoek, Namibia, March 22-29, 1992, pp.337-351.

Smith, A.H., Nichols, K. y J. McLachlan. 1984. Cultivation of seamoss (*Gracilaria*) in St. Lucia, West Indies. *Hydrobiologia* 116/117: 249-251.

Soliva, M. y A. Widmer. 1999. Genetic and floral divergence among sympatric populations of *Gymnadenia conopsea* S.L. (Orchideaceae) with different flowering phenology. *Int. J. Plant Sci.* 160: 897- 905.

Sommer, U. 1993. Phytoplankton competition in Plußsee: A field test of the resource-ratio hypothesis. *Limnol. Oceanogr.* 38: 838-845.

Stanley, N. 1987. Production, properties and uses of carrageenan. *FAO Fish. Tech. Pap.* 288: 116-146.

Stanley, N.F. 1990. Carrageenans. En: P. Harris (ed.). *Food Gels*. Elsevier Appl. Sci. Publ. Ltd. pp. 79-119.

- Strickland, J.D.H. y T.R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. *Fish. Res. Board Canada, Bull. 167*: 1-310.
- Tabatabai, M.A. 1974. Determination of sulphate in water samples. *Sulphur Inst. J. 10*: 11-13.
- Taylor, W.R. 1928. *The marine algae of Florida, with special reference to the Dry Tortugas*, Carnegie Inst. Wash. Publ. 379, Pap. Tortugas Laboratory 25: V+219 p., 3 figs., 37 pls.
- Taylor, W.R. 1942. Caribbean marine algae of the Allan Hancock expedition, 1939. *Allan Hancock Atlantic Exp., Rep. 2*: 1-193.
- Taylor, W.R. 1960. *Marine Algae of the Eastern Tropical and Subtropical Coast of the Americas*. Univ. Michigan Press, Ann Arbor, 870 p.
- Taylor, W.R. 1972. Marine algae of the Smithsonian-Bredin expedition to Yucatán- 1960. *Bull. Mar. Sci. 22*: 34-44.
- Tilman, D. 1981. Tests of resource competition theory using four species of Lake Michigan algae. *Ecology 62*: 802-815.
- Tilman, D. 1982. *Resource Competition and Community Structure*. Princeton Univ. Press, Princeton, 492 p.
- Tilman, D. 2000. Causes, consequences and ethics of biodiversity. *Nature 405*: 208-211.
- Tilman, D., S.S. Kilham y P. Kilham. 1982. Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Ann. Rev. Ecol. Syst. 13*: 349-372.
- Titman, D. 1976. Ecological competition between algae: experimental confirmation of resource-based competition theory. *Science 192*: 463-465.

Townsend, C.R. 1991. Community organization in marine and freshwater environments. En R.S.K. Barnes y K.H. Mann (eds.). *Fundamentals of Aquatic Ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 125-144.

Trepl, L. 1994. Competition and coexistence: on the historical background in ecology and the influence of economy and social sciences. *Ecol. Mod.* 75/76: 99-110.

Trowbridge, C.D. 2001. Coexistence of introduced and native congeneric algae: *Codium fragile* and *C. tomentosum* on Irish rock intertidal shores. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 81: 931-937.

Twombly, S. 1994. Comparative demography and population dynamics of two coexisting copepods in a Venezuelan floodplain lake. *Limnol. Oceanogr.* 39: 234-247.

Ulrich, A. 1952. Physiological bases for assessing the nutritional requirements of plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 3: 207-228.

Umamaheswara-Rao, M. 1976. Spore liberation in *Gracilaria corticata* J. Agardh growing at Mandapam. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 21: 91-98.

Usov, A.I. 1992. Sulfated polysaccharides of the red seaweeds. *Food Hydrocoll.* 6: 9-23.

Usov, A.I., E.G. Ivanova y V.F. Makienko. 1979. Polysaccharides of algae. XXIX: Comparison of samples of agar from different generations of *Gracilaria verrucosa* (Huds.) *Papenf. Bioorg. Khim.* 5: 1647-1653.

van Gemerden, H. 1974. Coexistence of organisms competing for the same substrate: an example among the purple sulfur bacteria. *Microbiol. Ecol.* 1: 104-119.

van Tussenbroek, B.I. y L. Collado-Vides. 2000. Filamentous algae dominate a tropical reef community in the Mexican Caribbean: an unexpected organization of reef vegetation. *Bot. Mar.* 43: 547-557.

Wheeler, P.A. y B.R. Björnsäter. 1992. Seasonal fluctuations in tissue nitrogen, phosphorus, and N:P for five macroalgal species common to the Pacific northwest coast. *J. Phycol.* 28: 1-6.

Whyte, J.N.C., J.R. Englar, R.G. Saunders y J.C. Lindsay. 1981. Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar, from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria (verrucosa type)*. *Bot. Mar.* 24: 493-501.

Witman, J.D. 1987. Subtidal coexistence: storms, grazing, mutualism, and the zonation of kelps and mussels. *Ecol. Mon.* 57: 167-187.

Worm, B., H.K. Lotze y U. Sommer. 2001. Algal propagule banks modify competition, consumer and resource control on Baltic rocky shores. *Oecologia* 128: 281-293.

Wynne, M.J. 1986. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic. *Canadian J. Bot.* 64: 2239-2281.

Wynne M.J. 1989. The re-instatement of *Hydropuntia* Montagne (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Taxon* 38: 476-479.

Wynne, M.J. 1998. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: first revision. *Nova Hedwigia, Beiheft* 116: 1-155.

Yao, S.S., Z.Y. Xia, L.Z. En y L.W. Qing. 1984. The yield and properties of agar extracted from different life stages of *Gracilaria verrucosa*. *Hydrobiologia* 116/117: 551-553.

Yaphe W. y G.P. Arsenault. 1965. Improved resorcinol reagent for the determination of fructose, and of 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides. *Anal. Biochem.* 13: 143-148.

Yaphe, W. y M. Duckworth. 1972. The relationship between structures and biological properties of agars. *Int. Seaweed Symp.* 7: 15-22.

Young, K., M. Duckworth y W. Yaphe. 1971. The structure of agar. Part III. Pyruvic acid, a common feature of agars from different agarophytes. *Carbohydrate Res.* 16: 446-448.

Zobel, M. 1992. Plant species coexistence- the role of historical, evolutionary and ecological factors. *Oikos* 65: 314-320.

Zuccarello, G.C., P.H. Yeates, J.T. Wright y J. Bartlett. 2001. Population structure and physiological differentiation of haplotypes of *Caloglossa leprieurii* (Rhodophyta) in a mangrove intertidal zone. *J. Phycol.* 37: 235-244.

## APÉNDICE 1

(Manuscrito aceptado para publicarse en la revista Hidrobiológica)

### Fenología de macroalgas marinas

J. Espinoza-Avalos

ECOSUR, Apartado postal 424, Chetumal, Quintana Roo 77000, México

e

Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, Apartado postal 453, Ensenada, Baja California 22800, México

### RESUMEN

El uso laxo del término fenología en estudios de macroalgas marinas ha propiciado que se registren como fenológicos a eventos que no son de ese tipo. Para uniformizar criterios que generen estudios ficológicos comparables entre investigadores, se sugiere adoptar la siguiente definición de fenología: "estudio de la temporalidad de los eventos biológicos recurrentes y las causas de su empate temporal con respecto a factores abióticos y bióticos". Esta definición es adecuada para aplicarse en estudios fenológicos de otros organismos y contiene una serie de acotamientos, de acuerdo a un análisis de la fenología en plantas vasculares. Se sugieren formas de medición y análisis de eventos fenológicos de macroalgas. Se resalta la importancia de efectuar estudios de largo plazo y a escalas espaciales amplias. De manera similar, se destaca la importancia de considerar las diversas fases del ciclo de vida de las macroalgas en estudios fenológicos.

*Palabras clave:* fenología, estacionalidad, ciclos de vida, eventos no fenológicos, disparadores ambientales, comunidades.

### ABSTRACT

A loose usage of the term phenology in marine macroalgae studies has caused that other type of events have been recorded as phenological. In order to develop criteria as uniform as possible that allow conducting comparable studies among phycologists, the following definition of phenology is proposed to be adopted: "the study of the timing of recurring biological events and the causes of their timing with regard to abiotic and biotic factors". The use of this definition is appropriate in phenological studies of other organisms and encompasses a set of delimitations, based on an analysis of vascular plant phenology. Approaches to gather and analyze phenological variables are suggested. The importance of undertaking long term and large spatial scale studies is highlighted. The relevance of including all reproductive phases of macroalgae life histories is also emphasized in carrying out phenological studies.

*Key words:* phenology, seasonality, life cycles, non-phenological events, environmental triggers, communities.

## INTRODUCCIÓN

El término fenología se propuso por primera vez en 1853 por el botánico belga Charles Morren, aunque a quien se le considera como el padre de la moderna fenología de plantas es el sueco Carlos Lineo (Hopp, 1974). En su obra *Philosophia Botanica*, Lineo delineó los métodos para registrar 'calendarios anuales de plantas' con respecto a la aparición y caída de hojas, floración y presencia de frutos, ligados a observaciones climatológicas (Hopp, 1974). El concepto se usa tanto en plantas como en animales, la fitofenología y la zoofenología (Pujol y Bosch 1980). La definición del término en plantas vasculares ha tenido cambios a lo largo del tiempo, inicialmente enfatizando los aspectos descriptivos, incorporando luego la relación entre la temporalidad de los eventos biológicos y los climáticos, y actualmente agregando las interacciones bióticas en la causalidad de los eventos fenológicos (Williams-Linera y Meave, 2002).

En comparación con los estudios fenológicos de plantas vasculares, los de macroalgas marinas no se han fundamentado en una definición explícita, y no rigen criterios para determinar cuáles eventos deben considerarse como fenológicos; tampoco se ha publicado una revisión del tema, y en consecuencia parece existir un uso laxo del concepto. Esta situación ha generado que algunas variables biológicas que no son fenológicas se incluyan como tales en trabajos fenológicos. En esta revisión primero se exponen aspectos fenológicos generales relativos a plantas vasculares, los cuales se usarán como referencia para delimitar y analizar en lo general a los eventos fenológicos de macroalgas marinas.

## FENOLOGÍA DE PLANTAS VASCULARES

### *Definición*

Fenología se deriva de los vocablos griegos 'phaino' (aparecer o mostrar) y 'logos' (estudio o tratado), y se define como el estudio de la temporalidad de los eventos biológicos recurrentes y las causas de su empate temporal con respecto a factores abióticos y bióticos. Esta definición, dada por Dougherty *et al.* (1994), y que se puede aplicar a otros organismos, es la que se sugiere adoptar para estudios de macroalgas. A diferencia del contenido o énfasis de otras definiciones de fenología (ver abajo), la de Dougherty *et al.* (1994) contiene elementos para estudiar aspectos fenológicos de manera integral, y se analizan a continuación.

### *Temporalidad*

En su forma esencial, un estudio de fenología debe incluir los "cuándo" de la ocurrencia de los eventos biológicos relativos al crecimiento y reproducción (Stark, 2002). La escala temporal en algunas definiciones de fenología se restringe a periodos de un año (Lieth, 1974; Kramer, 1997; Fischer, 2000), tal vez considerando los ritmos regulares en la temperatura y duración del día que ocurren en zonas templadas, lo que hace que ahí predominen ciclos anuales en la fenología de plantas (Sakai, 2001). Sin embargo, existen eventos fenológicos reproductivos con recurrencias mayores a un año, por lo que esas definiciones excluyen a las plantas que tienen esa fenología. Por otra parte, en su análisis de plantas tropicales, Sakai (2001) distinguió cinco patrones reproductivos: con floración continua, anual, subanual (más de una ocasión en un año, frecuentemente irregular), sin floración y supra-

anual. Este último patrón, también denominado floración general, con ocurrencia una vez cada 2-10 años, se refiere a la floración secuencial, por varios meses, de especies pertenecientes a diferentes familias: tiene lugar al nivel de la comunidad vegetal. En consecuencia, la definición propuesta a seguir contempla estudios a las diferentes escalas que ocurren los eventos fenológicos.

#### *Recurrencia y estacionalidad*

La definición que se sugiere adoptar contiene el término recurrente para describir los eventos fenológicos que se repiten en la historia de vida de los organismos a lo largo del tiempo. No contiene otros, como ritmos periódicos, ritmos predecibles, patrón regular, ciclos, ni estacionalidad (Frankie, 1972, en Lieth 1974; Hinojosa-Cuellar, 1981; Alm *et al.*, 1991; Allaby, 1994; Chuine, 2000; Menzel *et al.*, 2001; Williams-Linera y Meave, 2002). Esto se debe a que si bien en zonas templadas predominan ciclos fenológicos anuales –regulares– (Sakai, 2001), en la zona tropical los tiempos de floración, despliegue o producción y caída de hojas de plantas son frecuentemente irregulares, asincrónicos, o se presentan a lo largo de todo el año (Sakai, 2000, 2001; Williams-Linera y Meave, 2002). La inclusión en la definición de algunos términos de la serie mencionada arriba excluiría a parte de la vegetación tropical, que posee características fenológicas irregulares.

#### *Factores bióticos*

En varias definiciones de fenología generalmente hay un mayor énfasis en la relación de los eventos fenológicos con el clima (Pujol y Bosch, 1980; Calow, 1998; Chuine, 2000; Chidumayo, 2001), aunque en ocasiones esa relación no se

menciona, resaltando sólo la dinámica de los eventos fenológicos *per se* (Kramer, 1997; Lieth, 1997; Menzel *et al.*, 2001). En la definición adoptada aquí, se explicitan los factores biológicos como causas de la recurrencia de eventos fenológicos. Entre ellos, quedan incluidos la competencia interespecífica e intraespecífica por recursos, las plagas, los herbívoros, los polinizadores, las otras plantas que comparten polinizadores, lo mismo que los predadores y dispersores de semillas y frutos (Sakai, 2001). Por ejemplo, para el caso de los herbívoros, Williams-Linera y Meave (2002) analizan ejemplos en los que una producción sincrónica de hojas de plantas tropicales en época de secas les permite escapar de la herbivoría de insectos, que en ese periodo tienen una abundancia reducida, por lo que llegan a saciarse rápidamente. Williams-Linera y Meave (2002) también expusieron que hay disparadores ambientales o endógenos en la actualidad (causas próximas), pero que un cierto comportamiento resulta de haber estado sometido durante un tiempo considerable a una presión de selección específica (causas últimas).

#### *Individuos / rametos*

En los estudios fenológicos se incluyen inicialmente las observaciones y mediciones efectuadas en individuos de una especie. Posteriormente (por adición de la fenología de diferentes especies) se pueden ampliar al nivel de gremio, comunidad o grupo taxonómico (Sakai, 2001; Williams-Linera y Meave, 2002). Sin embargo, aun cuando se realizan análisis por arriba del nivel de especie, en muchos casos se cuantifican estructuras directamente en individuos marcados (Williams-Linera y Meave, 2002). Igualmente, cuando se obtiene información

que no distingue individuos (como en colecta de semillas en trampas), la información puede combinarse con observaciones directas de plantas marcadas (Sakai, 2001). Entonces, la mejor estrategia metodológica en estudios fenológicos consiste en obtener información por medio de la observación directa en el campo, de individuos preferentemente marcados (Williams-Linera y Meave (2002).

Resumiendo en parte los elementos proporcionados hasta aquí, la definición de fenología queda acotada a lo siguiente: contiene variables biológicas recurrentes que se miden en individuos o talos, no se restringe a periodos anuales, y las causas o agentes de presión selectiva sobre la fenología de plantas incluye factores climáticos y biológicos.

#### *Importancia de los estudios fenológicos de largo plazo*

La tradición de efectuar estudios fenológicos de largo plazo ha permitido acumular información para poder analizar procesos y eventos ecológicos a escalas regional y global (Foley *et al.*, 1998; Chuine y Beaubien, 2001; Chuine *et al.*, 2000; Theurillat y Guisan, 2001). El cúmulo de información fenológica llega a ser de dos centurias para el caso de Europa (Lieth, 1997). Un ejemplo del potencial de los estudios a largo plazo son los registros fenológicos ocurridos entre 1950 y 2000, los cuales permitieron a Peñuelas y Filella (2001) analizar efectos relativos al calentamiento global; ellos encontraron que tanto plantas (e.g. deciduas) y animales (e.g. mariposas) han adelantado o retrasado diferentes eventos fenológicos, lo cual ha alterado las relaciones tróficas así como la estructura y el funcionamiento de ecosistemas. Por ejemplo, el adelanto en la expansión

foliar y el retraso en la caída de hojas de las plantas alarga su periodo de crecimiento, con efectos en la fijación de carbono global, la cantidad de CO<sub>2</sub> en la atmósfera, y en los ciclos de nutrimentos y del agua.

## FENOLOGÍA DE MACROALGAS MARINAS

### *Aspectos generales*

Una diferencia entre los estudios fenológicos de plantas vasculares y los de macroalgas marinas es que en los primeros es común que se incluya una definición de fenología, pero esto no se hace prácticamente nunca en los segundos. Por ejemplo, en 49 de los 50 trabajos incluidos en la Tabla 1 no se proporcionó una definición del concepto. Schoschina *et al.* (1996) incluyeron lo que aparentemente es la única definición dada en estudios ficológicos: "patrones estacionales de crecimiento y reproducción". Estos autores estudiaron sólo el crecimiento y la reproducción de nueve macroalgas, por lo que su definición es un tanto operacional; es decir, es útil o se acomoda al tipo de trabajo que realizaron. Sin embargo, es limitada si se consideran los elementos que se proporcionaron en la sección de plantas vasculares.

Las algas son un grupo artificial y diverso de organismos fotosintéticos, cuyos medios de reproducción (gametos, esporas, propágulos multicelulares) carecen de una capa de células protectoras. Tienen diversos orígenes y habitan ambientes acuáticos, aéreos y terrestres; presentan tamaños microscópicos y macroscópicos. Las macroalgas marinas comprende a las Rhodophyta, las Phaeophyta y las Chlorophyta; son morfológicamente mucho menos complejas que las plantas vasculares, ya que carecen de

Tabla 1. Grupos de variables biológicas medidas en trabajos fenológicos de macroalgas marinas. Las variables se separan de acuerdo a si los autores los consideraron eventos fenológicos o cuando los trataron aparte (no fenológicos). Grupos: A. En estos estudios se separaron los eventos fenológicos (F) y no fenológicos (NF), de acuerdo a la definición dada en este trabajo, B. Aquí todos los eventos fueron fenológicos, pero no fueron considerados como tales, C. Se reconocieron como fenológicos casi únicamente a los eventos reproductivos, a pesar de que midieron otros que se ajustarían a la definición de este estudio, y D. Se incluyen como eventos fenológicos a una serie de mediciones que no lo son (ver texto para mayores detalles). Se abrevian como Ba (biomasa por unidad de área), Bf (biomasa general por fase reproductiva), Bi (biomasa individual; peso por planta, en ocasiones por fase reproductiva = Bif), Co (cobertura; porcentaje del sustrato ocupado), Cr (crecimiento; por diferencia de talla o peso), De (densidad; número de individuos o talos por unidad de área), Di (distribución; vertical u horizontal), Er (esfuerzo reproductivo; proporción de tejido reproductivo: vegetativo), Re (reproducción; como porcentaje de plantas fértiles; en ocasiones separando por fase reproductiva), Ri (riqueza de especies), Ta (talla, tamaño, longitud; en ocasiones también ancho del talo). Se subrayan los eventos que son fenológicos pero no fueron considerados como tales, y con doble-subrayado quedan señalados los que no lo son, pero que se consideraron como si lo fueran.

Grupo	Eventos		Referencias
	Fenológicos	No fenol.	
A.1	Re		Kain, 1982; Morrison, 1984; Hannach y Waaland, 1986; Novaczek <i>et al.</i> , 1986; Aguilar-Rosas y Machado-Galindo, 1990; Pérez-Ruzafa, 1990; Kogame y Yamagishi, 1997; Kogame <i>et al.</i> , 1998; Clifton y Clifton, 1999; Rojas-González y Afonso-Carrillo, 2000; Servièrre-Zaragoza y Scrosati, 2002
A.2	Re, Cr		Schoschina <i>et al.</i> , 1996
A.3	Re, Ta		Espinoza, 1990; Arenas y Fernández, 1998
A.4	Re, Cr, Ta		Prince y O'Neal, 1979; Ang, 1985
A.5	Re, Bif, Ta		DeWreede, 1978; Gerung <i>et al.</i> , 1997
A.6	Ta		Chirapart <i>et al.</i> , 1995
A.7	Re	Di	Guimares y Coutinho, 1996; Cormaci <i>et al.</i> , 2000; Neto, 2000; Rodríguez-Prieto y Vergés, 2001
A.8	Re, Bi, Ta	Ba	Cecere <i>et al.</i> , 2000
B.1	Re	<u>Cr</u> y/o <u>Ta</u>	Hoyle, 1978; Pinheiro-Joventino y Frota-Bezerra, 1980; Sideman y Mathieson, 1983; Carter, 1985; Kain, 1986; Kaliaperumal <i>et al.</i> , 1986; Lee y Brinkhuis, 1986; Penniman <i>et al.</i> , 1986; Garcia-Lepe <i>et al.</i> , 1997
C.1	Re	Ba, <u>Cr</u>	Schenkman, 1989
C.2	Re	Co, Di, <u>Ta</u>	McCourt, 1984
C.3	Re	Co, <u>Ta</u>	Rindi y Cinelli, 2000
C.4	Re	<u>Cr</u> , <u>De</u> , <u>Ta</u>	Pickering <i>et al.</i> , 1990
C.5	Re	Di, <u>Ta</u>	Sheath <i>et al.</i> , 1985
C.6	Re, Bif	Ba, <u>Bi</u>	Breda y Foster, 1985

Tabla 1 Continuación.

Grupo	Eventos		Referencias
	Fenológicos	No fenol.	
D.1	<u>Bf</u>		Reis y Yoneshigue-Valentin, 2000
D.2	<u>Bf</u> , <u>Ba</u> , Er, <u>De</u> , Ta		Avila <i>et al.</i> , 1997
D.3	Bi, <u>Co</u> , Ta		Wernberg <i>et al.</i> , 2001
D.4	<u>Di</u>		Cho <i>et al.</i> , 2000
D.5	Re, <u>Ba</u> , Bi, <u>De</u> , Ta		Paula y Oliveira, 1980; Nelson, 1989
D.6	Re, <u>Ba</u> , <u>De</u>		Avila <i>et al.</i> , 1999
D.7	Re, <u>Ba</u> , Ta		DeWreede, 1976
D.8	Re, <u>Co</u> , <u>De</u> , Ta		Fernández, 1999
D.10	Re, <u>Di</u> , <u>Ri</u>		Mathieson, 1989
D.11	Re, <u>Ri</u>	Co	Davis y Wilce, 1987

raíces, tallos, hojas, flores y frutos, lo mismo que de tejidos de conducción. En muchas especies de macroalgas, cualquier parte del talo vegetativo se desarrolla en estructuras reproductivas, en ocasiones ocupando casi todo el talo.

#### *Individuos / rametos*

Como ocurre con algunas plantas terrestres, las macroalgas pueden presentar una configuración modular o clonal (vs. la propia de organismos unitarios; ver Collado-Vides y Braga, 1996; Collado-Vides, 2002), donde varias unidades funcionales (rametos y / o módulos) forman un conjunto interconectado celularmente (el geneto). Cada unidad clonal crece vegetativamente multiplicando los módulos y / o rametos. Una característica de los rametos es que tienen el potencial de desarrollarse independientemente del geneto, en caso de sufrir eventos de separación. Los talos de las macroalgas se originan a partir de un cigoto, espora o gameto partenogénico. Considerando que el elemento fenotípico elemental sujeto a selección es el rameto, la unidad de estudio en el caso de fenología de macroalgas con crecimiento modular son los talos, mientras que para especies unitarias es el individuo.

#### *Crecimiento y reproducción*

Varios procesos del desarrollo de las macroalgas, como el crecimiento y reproducción, están estrechamente relacionados entre sí. Por ejemplo, McLachlan y Bird (1984) no pudieron aislar en el laboratorio estos dos eventos al someter a diez especies de la rodofita *Gracilaria* a diferentes condiciones de temperatura, nutrimentos, intensidad de luz y fotoperiodo, ya que ellos obtenían plantas reproductivas cuando conseguían buen crecimiento, mientras que bajo condiciones que reducían el crecimiento, la reproducción cesaba. Algo similar ocurre con los eventos fenológicos de algunas feofitas, como *Sargassum* spp., ya que todos ellos tienen una secuencia y recurrencia muy marcada y están relacionados unos con otros. Esa recurrencia en secuencia del desarrollo algal incluye una fase temprana vegetativa del talo, otra de crecimiento máximo unido al periodo reproductivo, una fase de senescencia, y finalmente la muerte de toda la planta o de las ramificaciones donde se presentó la reproducción. Junto a esos eventos también coinciden otros, como los cambios en la biomasa por

unidad de área (DeWreede, 1976; Prince, 1980; Ang, 1985).

Por su parte, Kinlan *et al.* (2003) demostraron que las fases tempranas (embriones) de los esporofitos de *Macrocystis pyrifera* (L.) C.A. Agardh pueden detener su desarrollo cuando la luz es sub-óptima para el crecimiento, actuando como "banco de formas microscópicas", con el resultado posterior de modificar el reclutamiento y la fenología de esa feofita.

Con relación a la reproducción, cabe hacer notar que para que las macroalgas inicien su etapa reproductiva, deben alcanzar una talla mínima (DeWreede y Klinger, 1988), pero también esa etapa es el resultado de los cambios en los factores ambientales que satisfacen los requerimientos fisiológicos de la reproducción, o del uso de disparadores ambientales y / o factores bióticos que coordinan ese proceso (Santelices, 1990; Brawley y Johnson, 1992).

#### *Eventos fenológicos*

La morfología simple y la coincidencia en tiempo de varios procesos biológicos que ocurren en las macroalgas tal vez ha favorecido que en estos organismos no se distinguan con certeza los eventos fenológicos. Para eliminar esa incertidumbre, aquí se seguirán los acotamientos planteados en la definición de fenología con plantas vasculares, en particular a que incluye variables biológicas recurrentes que se miden en individuos (talos en el caso de macroalgas). Bajo ese marco de referencia, las variables que en macroalgas se pueden considerar como fenológicas son los eventos (asociados a procesos, con una duración en el tiempo) de reproducción (frecuentemente registrado como porcentaje de plantas fértiles) y crecimiento

(diferencia o incremento de tamaño, biomasa o área de tejido entre dos fechas continuas de medición), además de los atributos (resultado de procesos) de talla y biomasa individual; los dos últimos sin ser eventos en sentido estricto, pero que normalmente se reportan en estudios fenológicos en ficología. El primer evento pertenece a la fenología reproductiva, los otros a la fenología vegetativa (Deysher, 1984; Novaczek y McLachlan, 1987; Rindi y Cinelli, 2000).

En la literatura ficológica es común encontrar otro grupo de variables que se han considerado fenológicas, como la riqueza -número de especies por zona o unidad de área- (Davis y Wilce, 1987; Mathieson, 1989), la biomasa -peso algal por unidad de área- (DeWreede, 1976; Paula y Oliveira, 1980), la cobertura -porcentaje del sustrato ocupado por plantas- (Wernberg *et al.* 2001), la distribución -presencia algal en sentido vertical u horizontal- (Mathieson, 1989; Cho *et al.*, 2000) y la densidad -individuos o talos por unidad de área- (Avila *et al.*, 1997; Fernández, 1999). Sin embargo, este grupo se excluye de los eventos fenológicos, por definición, ya que las mediciones no se hacen directamente en talos. Los autores anteriores no dieron justificaciones para incluir esa serie de variables en sus estudios fenológicos, pero se resalta la laxitud existente en cuanto al uso del concepto de fenología (ver también la Tabla 1), y la importancia de unificar criterios en relación a su uso en ficología.

#### *Comparación entre eventos fenológicos y demográficos*

Es oportuno mencionar otros eventos que no son fenológicos. Por ejemplo, la demografía queda bien diferenciada de la fenología en el estudio de

Trowbridge (1996). Esta autora estudió a lo largo de tres años cuántos individuos se reclutaron y murieron de la clorofita *Codium setchelli* Gardner; variables (y otras como la densidad poblacional y fecundidad) que pertenecen a la demografía, la cual primariamente estudia la dinámica o fluctuación numérica de las poblaciones. Trowbridge (1996) registró por separado los eventos fenológicos, como el crecimiento y porcentaje de plantas individuales en reproducción.

La reproducción de las macroalgas obviamente se puede estudiar desde diferentes perspectivas, incluyendo la fenológica y otras como la fisiológica, la química, la genética y la filogenética. Otra es la morfométrica: midiendo la forma, el tamaño, la disposición de células y el desarrollo de las estructuras reproductoras (Carter, 1985; Kogame *et al.*, 1998). Estas observaciones se convierten en herramientas para luego estudiar a los eventos fenológicos con mayor fundamento (ver también el siguiente apartado).

El estudio conjunto de aspectos fenológicos y demográficos puede conducir a un mejor conocimiento ecológico de las especies. Por ejemplo, Ang (1991) reportó que la cantidad de microreclutas (microscópicos; plántulas menores de un mes de edad) de *Fucus distichus* L. estaba relacionada a la fenología reproductiva. Sin embargo, no hubo relación de la fenología con los macroreclutas (reconocidos en el campo a simple vista), los cuales frecuentemente se consideran como los reclutas en estudios ecológicos de macroalgas.

#### *Ciclos de vida y fenología*

Un ciclo de vida (CV) describe la secuencia de fases o generaciones morfológicas y nucleares (haploide /

diploide) de un alga (Hine 1977). La mayoría de las especies de algas presentan reproducción asexual o sexual, con plantas que producen esporas o gametos. Estas plantas se refieren como esporofitos y gametofitos. En la mayoría de las especies, los gametofitos haploides y los esporofitos diploides se alternan de manera cíclica, ligado a los procesos de singamia y meiosis (Santelices, 1990).

El CV puede ser isomórfico, cuando las fases nucleares son morfológicamente parecidas, o heteromórfico, cuando son morfológicamente diferentes. Un caso extremo del último CV lo presenta la feofita *Macrocystis pyrifera*, en el cual la fase gametofítica mide unas micras, mientras que la esporofítica llega a medir decenas de metros. Sólo en las Rhodophyta se presenta un CV trifásico, con una fase haploide (gametofito) y dos diploides (tetrasporofito y carposporofito).

Los CV de las macroalgas no son objeto de estudio de la fenología, ya que generalmente se determinan en investigaciones de laboratorio. Ello, porque sus ciclos de vida incluyen fases microscópicas (esporas, gametos, propágulos multicelulares) que son difíciles de estudiar directamente en el campo. Sin embargo, los CV constituyen un elemento básico para efectuar estudios fenológicos. Por ejemplo, Kogame y Yamagishi (1997) primero describieron el CV heteromórfico de la feofita *Colpomenia peregrina* (Sauvageau) Hamel; luego establecieron su fenología, en el campo. Antes de identificarse su CV en el campo, la fase esporofítica, que mide 1-3 mm, había sido confundida por investigadores de diferentes partes del mundo y la habían considerado como perteneciente a cinco géneros diferentes.

Las investigaciones fenológicas de algas con CV heteromórfico son escasas; se centran en la fase macroscópica, prefiriendo no estudiar la fase microscópica (e.g. Schoschina *et al.*, 1996) por las dificultades inherentes a su estudio en el campo. Sin embargo, en ocasiones una especie puede ocurrir en una localidad a lo largo del año, a través de la ocurrencia de diferentes fases nucleares, las cuales tienen diferencias en su desarrollo óptimo a las condiciones ambientales (Maggs y Guiry, 1987) o en su resistencia a herbívoros (Lubchenco y Cubit (1980). Es decir, cada fase nuclear puede adoptar estrategias que le permitan hacer un mayor uso o explotación de las condiciones ambientales favorables o escapar de los herbívoros, y con ello cada una alcanzar un mejor desarrollo en épocas diferentes del año (Dyck y DeWreede, 1995). En su momento, Lubchenco y Cubit (1980) recomendaron estudiar la fenología de las fases costrosas e incrustantes de las macroalgas heteromórficas.

Más frecuente es encontrar estudios fenológicos de especies con CV isomórfico de plantas macroscópicas, aunque la similitud morfológica de sus fases no siempre indica que tienen respuestas fenológicas similares. Por ejemplo, si sólo consideramos a las rodofitas Gracilariales, encontramos que su crecimiento puede ser diferente, de acuerdo a la fase reproductiva de las plantas (Jones, 1959; Hoyle, 1978; Destombe *et al.*, 1993). De manera similar, diferentes fases reproductivas de especies isomórficas de Rhodophyta tienen diferencias en cuanto a su distribución horizontal, vertical y temporal, lo mismo que en los factores ambientales que controlan su reproducción y abun-

dancia (Santelices, 1990; Espinoza-Avalos, 1996).

### *Medición y análisis de eventos fenológicos*

En los estudios fenológicos se ha utilizado una serie de métodos que a continuación se revisan, con el propósito de encontrar criterios que permitan hacer comparaciones en un marco común. El ejercicio está basado en la literatura de la sección precedente de Fenología de Macroalgas Marinas.

#### *1. Tamaño de muestra*

El número de talos medidos ha sido muy variable, entre 5 y 450. En aproximadamente la mitad de los trabajos el número de talos fue de 30 o menos, y en un tercio de las investigaciones, de 100 o más. Varias de las mediciones se realizaron en talos marcados. Los tamaños de cuadros (o parcelas) utilizados en los muestreos variaron entre 1 cm y 5 m de lado; el más utilizado fue de 50 cm. Los tamaños de los cuadros para colectar las algas variaron generalmente (aunque no necesariamente) de acuerdo al tamaño y la abundancia de las plantas que se colectaron. En dos estudios (DeWreede, 1976; Trowbridge, 1996) la unidad de muestreo fue un círculo, de 0.166 m<sup>2</sup> y 1 cm de diámetro, respectivamente.

Para tener una muestra representativa y hacer un muestreo eficiente, se recomienda efectuar muestreos prospectivos para determinar estadísticamente el tamaño mínimo de muestra (Croy y Dix, 1984; DeWreede, 1985). Para la colecta por cuadros (o círculos) se recomienda emplear un número grande de parcelas pequeñas, en lugar de pocas grandes (Pringle, 1984).

## 2. Periodicidad

El periodo más usado entre muestreos fue mensual, con un caso de dos veces al día. Éste se siguió en un estudio de especies Bryopsidales tropicales, con tiempos de reproducción que ocurren en horas (Clifton y Clifton, 1999). Es decir, la periodicidad de muestreo se debe ajustar de acuerdo a las características biológicas de la especie y al evento particular que se estudia; en principio, mientras más periódicas sean las colectas, mejor. Una frecuencia quincenal de observaciones fue planteada como ideal para plantas vasculares por Williams-Linera y Meave (2002); sin embargo, ésta no es una regla. El registro de datos fenológicos (para algas perennes, en este caso) debe abarcar un año como mínimo, aunque para estudiar variaciones interanuales se requieren registros de al menos cinco años, mientras que para estudios de largo plazo (como en el análisis de efectos de El Niño) la duración necesaria es de al menos una década (Williams-Linera y Meave, 2002). Para algas anuales también se recomienda que los estudios se lleven a cabo por al menos un año, tratando de identificar las fases microscópicas o costras de resistencia para el periodo en que no haya fases macroscópicas de las especies que se estén estudiando. Conocer las respuestas fenológicas de las fases microscópicas es muy importante, ya que las respuestas fenológicas de las fases macroscópicas en ocasiones pueden ser irrelevantes para explicar la distribución espacial de las especies de macroalgas (Breeman, 1988).

## 3. Factores abióticos y bióticos

El factor ambiental más frecuentemente medido es la temperatura del agua, seguido por la salinidad, el foto-

periodo, el nitrógeno total (suma de nitratos, nitritos y amonio disueltos), los fosfatos disueltos, la irradiación solar, el tipo de sustrato, la altura de olas, la profundidad, la sedimentación, la precipitación pluvial, la altura de marea, el pH, la velocidad del viento, el movimiento del agua y el porcentaje de cobertura del fondo por arena. A pesar de que todos los factores mencionados pueden afectar el desarrollo de las macroalgas en situaciones particulares, aquellos que deben ser medidos tienen que ser los que se consideren relevantes. Por ejemplo, en aguas con pocas variaciones de salinidad no es necesario medir este factor; por el contrario, en un sitio lluvioso se tendrá que medir, especialmente si se estudian poblaciones intermareales, lo mismo que la irradiación solar, la cual será muy variable, según esté o no nublado.

El efecto de microambientes o micrositos en los eventos fenológicos es un aspecto complejo que apenas está empezando a ser explorado en plantas vasculares (Williams-Linera y Meave, 2002), pero se ha contemplado muy poco para el caso de macroalgas, a pesar de su importancia. Por ejemplo, Reed y Foster (1984) demostraron que la remoción de macroalgas a diferentes niveles de dosel, esto es, el sombreado de ellas, en una comunidad de *Macrocystis pryorifera*, determinaba qué macroalgas se reclutaban. Esa diferencia de reclutamiento, de acuerdo a si existe uno u otro determinado dosel, probablemente se refleja en un mosaico o parches de macroalgas con fenologías diferentes.

En la definición de fenología propuesta en este trabajo se reconoce explícitamente a los factores bióticos como causas de los eventos fenológicos. Aunque Maggs y Guiry (1987) y Brawley

y Johnson (1992) plantearon respectivamente que la competencia interespecífica algal y la herbivoría pueden actuar en ese sentido, es recomendable obtener en el campo mucha más información de este tipo, como también del efecto de la depredación.

El estudio de Reed *et al.* (1991) relaciona el tema de CV con el de factores bióticos y fenología. En ese trabajo se demostró en el laboratorio la relación denso-dependiente existente entre la fase microscópica (gametofítica) y la producción de esporofitos (fase macroscópica) de *Macrocystis pyrifera* y *Pterygophora californica* Ruprecht. Los gametofitos los establecieron usando la inoculación de esporas a diferentes densidades. Mientras mayor fue la densidad de esporas (y de gametofitos), menor fue la producción de esporofitos. Luego faltaría conocer de qué manera la disminución en la producción de esporofitos modificaría la fenología de esas especies de macroalgas.

También con el estudio de Worm *et al.* (1999) se puede relacionar el tema de CV y el de factores bióticos, además de los factores abióticos, con la fenología. Esos autores reportaron que ciertos herbívoros consumen algas anuales, favoreciendo la persistencia de las perennes, pero que ello se revierte por el incremento antropogénico de nutrientes en el agua, lo que favorece el crecimiento de fases microscópicas de algas anuales, que se encontraban presentes como "banco de propágulos". Una diferente proporción de los herbívoros y de las fases microscópicas de las algas (como propágulos) seguramente modificaría la fenología de las especies algales componentes de una comunidad, pero eso faltaría estudiarlo con detalle. En otras palabras, es la interacción de factores

abióticos y bióticos la que puede influir en la fenología de la macroalgas marinas.

En aproximadamente la mitad de los estudios fenológicos de macroalgas que se mencionan en el apartado de fenología de macroalgas no se midieron directamente factores abióticos, lo cual no es recomendable, si por definición la fenología intenta relacionar los eventos biológicos con esos factores. Sin embargo, es posible no medir factores ambientales si sólo se desea conocer la ocurrencia de ritmos periódicos, independientemente de las causas. Por otra parte, los factores abióticos y bióticos que se piense son relevantes, deben ser medidos al mismo tiempo que se evalúen las variables fenológicas.

#### 4. Metámeros y fenofases

Novaczek (1984) introdujo la idea de estudiar la fenología de macroalgas por metámeros o fitómeros (sin nombrarlos así). Éstos son unidades morfológicas vegetales particulares (en plantas terrestres: hojas, nodos, internodos y retoños axilares y adventicios, entre otros; Alm *et al.*, 1991). Esto pudiera aplicarse a especies de macroalgas que tienen morfologías con partes del talo un tanto diferenciadas, como ocurre en las Fucales y Laminariales. Por ejemplo, Novaczek (1984) estudió una especie perteneciente a las Laminariales; por una parte el comportamiento fenológico vegetativo, de la fronda, del estipe, del hapterio, del crecimiento, y por otra parte el reproductivo, medido como porcentaje de plantas fértiles y área de talo fértil.

Printz (1955), Sideman y Mathieson (1983) y Núñez-López y Casas-Valdéz (1996), dividieron el desarrollo de las Fucales que ellos estudiaron de cinco a ocho fases fenológicas (fenofases),

tanto vegetativas como reproductivas. Por ejemplo, los dos últimos autores utilizaron las categorías de plántulas, juvenil, joven a, joven b, madura, senescente a, senescente b y senescente c. En otras palabras, la fenología de macroalgas se puede estudiar sectorialmente en función de su morfología. Una ventaja probable del enfoque de estudiar la fenología por metámeros es que pudiera ayudar a conocer mejor las historias de vida de las macroalgas en el campo. Por ejemplo, bajo condiciones adversas del ambiente, el disco de fijación de *Chondracanthus squarulosus* (Dawson) Hughey, P.C. Silva & Hommersand permanece vivo, al mismo tiempo que la parte erecta del talo perece. Debido a ello, una parte de la población de esa rodofita se regenera anualmente de los discos de fijación remanentes, cuando las condiciones ambientales propicias para el desarrollo del alga se restablecen (Pacheco-Ruiz, 1999). Para el caso de *Sargassum siliquosum* J. Agardh, las plántulas que anualmente se reclutan provienen principalmente de la regeneración de los discos de fijación, y menos las que provienen de los gametos (Ang y DeWreede, 1990)

#### *Estacionalidad y disparadores fenológicos*

El concepto de estacionalidad se encuentra asociado al de fenología de macroalgas, pero con diferentes connotaciones. Por ejemplo, McCourt (1984) y Espinoza y Rodríguez (1987) lo usaron para resaltar el desarrollo estacional (a lo largo de las estaciones climáticas) de eventos fenológicos. Por su parte, Kain (1989) especificó que para ella *estación* significaba no las cuatro estaciones climáticas, sino un continuo de cambios ambientales a lo largo del tiempo. Ella misma (Kain, 1989) señaló que existen

organismos que responden ('responders'), y otros que se anticipan ('anticipators') a las 'estaciones' (organismos llamados tipos 1 y 2 por Lüning y Dieck, 1989). Mientras que los primeros crecen y se reproducen como una respuesta a condiciones ambientales favorables, en los segundos el crecimiento no obedece a condiciones ambientales favorables, sino a un disparador o señal interna, principalmente. Lüning y Dieck (1989) postularon la existencia de otro tipo de estacionalidad algal (tipo 3), para organismos que poseen un oscilador circannual endógeno, lo cual se demostró más tarde (Lüning, 1993). En el tipo 3, el disparador ambiental, básicamente el curso anual del fotoperiodo, es usado como sincronizador para ligar el reloj anual endógeno al año natural.

Santelices (1990) y Brawley y Johnson (1993) revisaron los factores ambientales a los cuales las macroalgas responden en sus eventos fenológicos, principalmente reproductivos, y la información siguiente se basa principalmente en sus revisiones. Aparentemente el fotoperiodo es el factor más importante, pudiendo existir algas que inducen su reproducción en días cortos o largos. No sólo la cantidad sino la calidad de luz puede ser importante; por ejemplo, algunas Laminariales necesitan una cantidad mínima de luz azul para que ocurra su gametogénesis. La temperatura también puede favorecer la reproducción: algunas algas pardas producen gametos a temperaturas bajas, pero esporas con temperaturas altas. Concentraciones bajas de nutrientes en ocasiones inducen la gametogénesis, como en *Ulva*. Cambios repentinos en los factores ambientales también provocan la reproducción, lo cual es usado en el laboratorio para inducir la liberación de gametos y esporas.

Para el caso de algas verdes holocárpicas (la planta entera se transforma en gametangio) de ambientes tropicales, varios factores, como los cambios en la luz y la temperatura del agua, pudieran inducir la liberación sincrónica de gametos alrededor del amanecer, sin embargo, los disparadores ambientales, abióticos o bióticos, de esa repentina liberación de gametos permanecen desconocidos (Clifton, 1997; Clifton y Clifton, 1999).

Existen varios problemas relativos a las respuestas fisiológicas o fenológicas que las condiciones abióticas controlan en las macroalgas. Por ejemplo, varios factores ambientales pueden interactuar en conjunto y no aisladamente: la formación de talos erectos de la rodofita *Dumontia contorta* se inhibe en fotoperiodos largos y en condiciones pobres de nutrientes, pero se desarrollan si hay enriquecimiento de nutrientes. La presencia de ecotipos, con respuestas diferentes a los factores ambientales que rigen en diferentes localidades, puede generar fuentes de variación fenológica dentro de una misma especie. Algo similar ocurre con las respuestas fenológicas de acuerdo a la clase de edad que se estudie en una especie dada. Por ejemplo, la etapa reproductiva de plantas de un año de la feofita *Laminaria angustata* Kjellman se presenta de octubre a marzo (con pico reproductivo en enero), pero esto ocurre de junio a febrero (con pico reproductivo en octubre-noviembre) en las plantas cuya edad es de dos a tres años. El estudio por clases de edad para el caso de especies perennes puede dar una mejor idea de la complejidad fenológica de las macroalgas en el campo.

#### *Fenología y latitud*

La estacionalidad reproductiva (fenológica) aumenta con la latitud (Kain, 1989), o, visto de otra manera, en los trópicos la secuencia de crecimiento / descanso puede ocurrir más de una vez en el año (Lüning y Dieck, 1989). Esto es, el número de periodos con valores máximos en el número de plantas fértiles en ocasiones se incrementa hacia la zona tropical (Hay y Norris 1984). Por ejemplo, el número de picos con valores máximos de plantas fértiles en el año es de uno para *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt, de aguas frías; dos para *Sargassum sinicola* Setchell et Gardner, de aguas subtropicales, y tres para *Dasya baillouviana* (S.G. Gmel.) Mont., de aguas tropicales (Espinoza, 1990; Espinoza y Rodríguez, 1987; Quan-Young et al., en prensa).

Otro aspecto reproductivo de las macroalgas que puede cambiar con la latitud es la proporción de plantas gametofíticas y esporofíticas presentes en las poblaciones (Dyck et al., 1985; De-Wreede y Green, 1990), además de que las respuestas fenológicas de las especies (particularmente el inicio de su etapa reproductiva) cambian con la latitud. Por ejemplo, *Lomentaria baileyana* en Florida es visible de otoño a primavera y se reproduce en otoño y primavera, mientras que las poblaciones ubicadas más hacia el norte de la costa Este de América acortan su periodo reproductivo a dos meses de verano (Breeman, 1988). Los cambios reproductivos de las algas con respecto a la latitud pueden ser tales, que en sus límites de distribución la reproducción haploide y diploide se inhibe y sólo ocurre crecimiento vegetativo de las plantas (Santelices, 1990).

### *Temporalidad y comunidades*

A diferencia de los estudios de plantas vasculares, para macroalgas no existen estudios fenológicos de largo plazo (décadas). Sin embargo, los trabajos fenológicos realizados durante 2-3 años revelan notorias diferencias Inter- anuales y entre sitios en aspectos reproductivos (McCourt, 1984; Espinoza y Rodríguez, 1987; Nelson, 1989; Avila *et al.*, 1999; Reis *et al.*, 2000). En estos trabajos y otros a esa escala de tiempo (Novaczek, 1984; Nelson, 1989; Arenas y Fernández, 1998), no se incluye el nivel de comunidad. Ese nivel sí fue incluido por Mathieson (1989) y Whittick *et al.* (1989), aunque ellos utilizaron información ya publicada o muestras de diferentes meses o años, sitios, métodos y tamaños de muestra. Esa información puede esconder o revelar eventos fenológicos tal vez inexistentes. Por ejemplo, con ellos no se podría discernir si en esas macroalgas se presentan etapas reproductivas masivas, como llega a ocurrir en algunas plantas vasculares.

La fenología reproductiva, de la talla y el crecimiento de un grupo de macroalgas (entre 9 y 14 especies), sólo se ha registrado con detalle para pocos trabajos (Kain, 1982; Schoschina *et al.*, 1996; Quan-Young *et al.*, en prensa), pero estos números están lejos de representar una comunidad algal. En otros trabajos, donde el número de especies estudiadas es mayor (20; Airoldi *et al.*, 1995; Guimaraens y Coutinho, 1996) se pierden detalles y el tamaño de muestra tal vez no es representativo. Se recomienda seguir realizando este tipo de trabajos, con un diseño de muestreo o de observación que permita resaltar con eficacia los eventos fenológicos de una comunidad algal a largo plazo. Esto quizá implicará decidir cuáles (pocos) eventos y atributos

estudiar; por ejemplo, la reproducción y talla; uno reproductivo y otro vegetativo.

Una serie de estudios sobresalientes en varios sentidos fueron los llevados a cabo por Clifton (1997) y por Clifton y Clifton (1999), quienes estudiaron poblaciones de 22 especies pertenecientes a las Caulerpaceae y Udoteaceae (Bryopsidales). Observaron que las plantas presentaron liberación sincrónica de gametos, lo cual ocurría (desde el inicio de la fertilidad hasta la liberación de gametos) entre 36 y 96 h. La liberación de gametos en especies distantes filogenéticamente ocurría al mismo tiempo, pero había diferencia entre 5-15 min entre especies muy relacionadas filogenéticamente, presumiblemente para limitar la hibridación (Hay, 1997). Estos procesos reproductivos sincrónicos en la reproducción masiva de una comunidad algal de Bryopsidales son similares a las registradas para plantas vasculares (Sakai, 2001).

### **CONCLUSIONES**

En los estudios de macroalgas es recomendable incluir una definición de fenología, pero más deseable es llegar a un consenso sobre el uso de ese término. La adopción de la definición de fenología en macroalgas como el "estudio de la temporalidad de los eventos biológicos recurrentes y las causas de su empate temporal con respecto a factores abióticos y bióticos", permite hacer énfasis, entre otros, en la importancia de investigar las interacciones bióticas (*e.g.* competencia, herbivoría, densidad poblacional) como causalidades de los eventos fenológicos. Los ciclos de vida de las macroalgas con alternancia de generaciones nucleares, principalmente los del tipo heteromórfico, donde distintas fases tienen diferentes respuestas a las condi-

ciones ambientales, resalta la necesidad de incrementar los trabajos fenológicos de fases microscópicas en condiciones marinas. Hacerlo ayudaría a tener más claridad sobre por qué las especies presentan la distribución latitudinal que tienen y cuáles pueden ser las ventajas evolutivas de poseer fases nucleares con diferentes respuestas fenológicas. El estudio en el campo de esas fases microscópicas también ayudaría a clarificar problemas taxonómicos existentes de esas fases creciendo en el ambiente. Igualmente, ayudaría a entender las diferentes estrategias que una especie utiliza para hacer mejor uso o explotación de las condiciones ambientales favorables en una localidad o región particular. Las investigaciones de largo plazo (décadas) que se han llevado a cabo con plantas vasculares permiten promover la realización de ese tipo de investigaciones con macroalgas, para eventualmente tener una perspectiva de los cambios que ocurren en los procesos ecológicos al nivel regional y global del ambiente marino costero. Trabajar con esa escala temporal probablemente ayudaría a tener información útil para la conservación, manejo y entendimiento de la biodiversidad y las fuerzas de selección que intervienen en ciclos decadales o aún mayores. En otra escala espacial, el estudio de la fenología en microambientes dará una perspectiva de la complejidad del estudio de las comunidades algales. Un uso adecuado del concepto de fenología en macroalgas puede ayudar a avanzar en las alternativas de estudio aquí bosquejadas.

#### **Agradecimientos:**

A K.M. Dreckmann y en especial a J. Meave del Castillo y L. Collado-Vides, por sus importantes sugerencias y opi-

niones directas que mejoraron sustancialmente la presentación del manuscrito. Este trabajo de revisión forma parte de los requisitos doctorales de J.E.A. en la Universidad Autónoma Metropolitana. El estudio fue posible realizarlo gracias al apoyo financiero de CONACYT, a través del proyecto 0418P-T.

#### **LITERATURA CITADA**

Aguilar-Rosas, R. y A. Machado-Galindo, 1990. Ecological aspects of *Sargassum muticum* (Fucales, Phaeophyta) in Baja California, Mexico: reproductive phenology and epiphytes. *Hydrobiologia* 204/205: 185-190.

Airoidi, L., F. Rindi y F. Cinelli, 1995. Structure, seasonal dynamics and reproductive phenology of a filamentous turf assemblage on a sediment influenced, rocky subtidal shore. *Botanica Marina* 38: 227-237.

Allaby, M., 1994. *The concise Oxford dictionary of ecology*. Oxford University Press. Oxford. 415 p.

Alm, D.M., M.E. McGiffen y J.D. Hesketh, 1991. Weed phenology. pp. 191-218. En: T. Hodges (Ed.). *Predicting crop phenology*. CRC Press, Boston.

Alocilja, E.C. y J.T. Ritchie, 1991. A model for the phenology of rice. pp. 181-189. En: T. Hodges (Ed.). *Predicting crop phenology*. CRC Press, Boston.

Ang, P.O., 1985. Phenology of *Sargassum siliquosum* J. Ag. and *S. paniculatum* J. Ag. (Sargassaceae, Phaeophyta) in the reef flat of Balibago (Calatagan, Philippines). *International Coral Reef Congress* 5: 51-57.

- Ang, P.O. 1991. Natural dynamics of a *Fucus distichus* (Phaeophyceae, Fucales) population: reproduction and recruitment. *Marine Ecology Progress Series* 78: 71-85.
- Ang, P.O. y R.E. DeWreede. 1990. Matrix models for algal life history stages. *Marine Ecology Progress Series* 59: 171-181.
- Arenas, F. y C. Fernández, 1998. Ecology of *Sargassum muticum* (Phaeophyta) on the North coast of Spain III. Reproductive ecology. *Botanica Marina* 41: 209-216.
- Avila, M., A. Candia, M. Núñez y H. Romo, 1999. Reproductive biology of *Gigartina skottsbergii* (Gigartinaceae, Rhodophyta) from Chile. *Hydrobiologia* 399: 149-157.
- Avila, M, M. Núñez, A. Candia y R. Norambuena, 1997. Patrones fenológicos reproductivos de una población de *Gigartina skottsbergii* (Gigartinaceae, Rhodophyta), en Ancud, Chile. *Gayana Oceanol.* 5: 21-32.
- Brawley, S.H. y L.E. Johnson, 1992. Gametogenesis, gametes and zygotes: an ecological perspective on sexual reproduction in the algae. *British Phycological Journal* 27: 233-252.
- Breda, V.A. y M.S. Foster, 1985. Composition, abundance, and phenology of foliose red algae associated with two central California kelp forests. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 94: 115-130.
- Calow, P. (Editor-in-Chief), 1998. *The encyclopedia of ecology and environmental management*. Blackwell Science, Oxford, 805 p.
- Carter, A.R., 1985. Reproductive morphology and phenology, and culture studies of *Gelidium pristoides* (Rhodophyta) from Port Alfred in South Africa. *Botanica Marina* 28: 303-311.
- Cecere, E., O.D. Saracino, M. Fanelli y A. Petrocelli, 2000. Phenology of two *Acanthophora najadiformis* (Rhodophyta, Ceramiales) populations in the Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 43: 109-117.
- Chidumayo, E.N., 2001. Climate and phenology of savanna vegetation in southern Africa. *Journal of Vegetation Science* 12: 347-354.
- Chirapart, A., M. Ohno, M. Sawamura y H. Kusunose, 1995. Phenology and morphology on new member of Japanese *Gracilaria* in Tosa Bay southern Japan. *Fishery Science* 61: 411-414.
- Cho, T.O., H.G. Choj, G. Hansen y S.M. Boo, 2000. *Corallophila eatoniana* comb. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Pacific coast of North America. *Phycologia* 39: 323-331.
- Chuine, I., 2000. A unified model for budburst of trees. *Journal of Theoretical Biology* 207: 337-347.
- Chuine, I. y E.G. Beaubien, 2001. Phenology is a major determinant of tree species range. *Ecology Letters* 4: 500-510.
- Chuine, I., G. Cambon y P. Comtois, 2000. Scaling phenology from the local to the regional level: advances from species-specific phenological models. *Global Change Biology* 6: 943-952.

- Clifton, K.E., 1997. Mass spawning by green algae on coral reefs. *Science* 275: 1116-1118.
- Clifton, K.E. y L.M. Clifton, 1999. The phenology of sexual reproduction by green algae (Bryopsidales) on Caribbean coral reefs. *Journal of Phycology* 35: 24-34.
- Collado-Vides, L., 2002. Clonal architecture in marine macroalgae: ecological and evolutionary perspectives. *Evolutionary Ecology* 15: 531-545.
- Collado-Vides, L. y M.R.A. Braga, 1996. Crecimiento y forma de las algas marinas. *Ciencias* 42: 20-25.
- Cormaci, M., G. Fumari, G. Alongi, M. Catra y D. Serio, 2000. The benthic flora on rocky substrata of the Tremiti Islands (Adriatic Sea). *Plant Biosystems* 134: 133-152.
- Croy, C.D. y R.L. Dix, 1984. Notes on sample size requirements in morphological plant ecology. *Ecology* 65: 662-666.
- Davis, A.N. y R.T. Wilce, 1987. Algal diversity in relation to physical disturbance: a mosaic of successional stages in a subtidal cobble habitat. *Marine Ecology Progress Series* 37: 229-237.
- Destombe, C., J. Godin, M. Nocher, S. Richerd y M. Valero, 1993. Differences in response between haploid and diploid isomorphic phases of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta: Gigartinales) exposed to artificial environmental conditions. *Hydrobiologia* 260/261: 131-137.
- DeWreede, R.E., 1976. The phenology of three species of *Sargassum* (Sargassaceae, Phaeophyta) in Hawaii. *Phycologia* 15: 175-183.
- DeWreede, R.E., 1978. Phenology of *Sargassum muticum* (Phaeophyta) in the Strait of Georgia, British Columbia. *Syesis* 11: 1-9.
- DeWreede, R.E. 1985. Destructive (harvest) sampling. pp. 147-160. En: M.M. Littler y D.S. Littler (Ed.). *Handbook of phycological methods. Ecological field methods: macroalgae*. Cambridge University Press, New York.
- DeWreede, R.E. y L.G. Green, 1990. Patterns of gametophyte dominance of *Iridaea splendens* (Rhodophyta) in Vancouver Harbour, Vancouver, British Columbia, Canada. *Journal of Applied Phycology* 2: 27-34.
- DeWreede, R.E. y T. Klinger, 1988. Reproductive strategies in algae pp. 267-284. En: J.L. Doust y L.L. Doust (Eds.). *Plant Reproductive Ecology. Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.
- Deysher, L.E., 1984. Reproductive phenology of newly introduced populations of the brown alga, *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Hydrobiologia* 116/117: 403-407.
- Dougherty, P.M., D. Whitehead y J.M. Vose, 1994. Environmental influences on the phenology of pines. *Ecological Bulletin* 43: 64-75.
- Dyck, L. y R.E. DeWreede, 1995. Patterns of seasonal demographic change in the alternate isomorphic stages of *Mazzaella splendens* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 34: 390-395.

- Dyck, L., R.E. DeWreede y D. Garbary, 1985. Life history in *Ulva cordata* (Gigartinales): relative abundance and distribution from British Columbia to California. *Japanese Journal of Phycology (Sorui)* 33: 225-232.
- Espinoza, J., 1990. The southern limit of *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt (Phaeophyta, Fucales) in the Mexican Pacific. *Botanica Marina* 33: 193-196.
- Espinoza, J. y H. Rodríguez, 1987. Seasonal phenology and reciprocal transplantation of *Sargassum sinicola* Setchell et Gardner in the southern Gulf of California. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 110: 183-195.
- Espinoza-Avalos, J., 1996. Estructura de talla y reproducción de *Gelidium robustum* (Rhodophyta) en la parte central de Baja California, México. *Ciencias Marinas* 22: 415-426.
- Fernández, C., 1999. Ecology of *Sargassum muticum* (Phaeophyta) on the North coast of Spain: IV. Sequence of colonization on a shore. *Botanica Marina* 42: 353-362.
- Fischer, H.S., 2000. Multivariate analysis of phenological data. *Phytocoenologia* 30: 477-489.
- Foley, J.A., S. Levis, I.C. Prentice, D. Pollard y S.L. Thompson, 1998. Coupling dynamic models of climate and vegetation. *Global Change Biology* 4: 561-579.
- García-Lepe, M.G., G. Ballesteros-Grijalva, J.A. Zertuche-González y A. Chee-Barragán, 1997. Variación anual de talla y fenología reproductiva del alga roja *Chondracanthus canaliculatus* (Harvey) Guiry en Punta San Isidro, Baja California, México. *Ciencias Marinas* 23: 449-462.
- Gerung, G.S., S. Kamura y M. Ohno, 1997. Phenology and agar yield of *Gracilaria blodgettii* in the tropical water, Okinawa, Japan. *Bulletin of Marine Science and Fisheries, Kochi University* 17: 23-28.
- Guimaraens, M.A. y R. Coutinho, 1996. Spatial and temporal variation of benthic marine algae at the Cabo Frio upwelling region, Rio de Janeiro, Brazil. *Aquatic Botany* 52: 283-299.
- Hannach, G. y J.R. Waaland, 1986. Environment, distribution and production of *Ulva*. *Aquatic Botany* 26: 51-78.
- Hay, M., 1997. Synchronous spawning: when timing is everything. *Science* 275: 1080-1081.
- Hay, M.E. y J.N. Norris, 1984. Seasonal reproduction and abundance of six sympatric species of *Gracilaria* Grev. (Gracilariaceae; Rhodophyta) on a Caribbean subtidal sand plain. *Hydrobiologia* 116/117: 63-72.
- Hine, A.E., 1977. *A glossary of phycological terms for students of marine macroalgae*. St. Alden's in the Weeds, Florida. 91 p.
- Hinojosa-Cuellar, G.A., 1981. *Fenología*. Boletín Técnico (U.A. Chiapas) 3: 1-59.
- Hodges, T., 1991. Introduction. pp. 1-2. En: T. Hodges (Ed.). *Predicting crop phenology*. CRC Press, Boston.
- Hopp, R.J., 1974. Plant phenology observation network. pp. 25-43. En: H. Lieth

(Ed.). *Phenology and seasonality modelling*. Springer-Verlag, New York.

Hoyle, M.D., 1978. Reproductive phenology and growth rates in two species of *Gracilaria* from Hawaii. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 35: 273-283.

Jones, W.E., 1959. The growth and fruiting of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom* 38: 47-56.

Kain, J.M., 1982. The reproductive phenology of nine species of Rhodophyta in the subtidal region of the Isle of Man. *British Phycological Journal* 17: 321-331.

Kain, J.M., 1986. Plant size reproductive phenology of six species of Rhodophyta in subtidal Isle of Man. *British Phycology Journal* 21: 129-138.

Kain, J.M., 1989. The seasons in the subtidal. *British Phycological Journal* 24: 203-215.

Kaliaperumal, N., V.S.K. Chennubhotla, S. Kalimuthu y J.R. Ramalingam, 1986. Growth, phenology & spore shedding in *Gracilaria arcuata* var. *arcuata* (Zanardini) Umamaheswara Rao & *G. corticata* var. *cylindrica* (J. Agardh) Umamaheswara Rao (Rhodophyta). *Indian Journal of Marine Science* 15: 107-110.

Kinlan, B.P., M.H. Graham, E. Sala y P.K. Dayton. 2003. Arrested development of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) embryonic sporophytes: a mechanism for delayed recruitment in perennial kelps? *Journal of Phycology* 39: 47-57.

Kogame, K., H. Horiuchi, T. Yoshida y M. Masuda, 1998. Morphology, phenology and culture of *Analipus gunjii* (Ralfsiales, Phaeophyceae). *Botanica Marina* 41: 339-344.

Kogame, K. y Y. Yamagishi, 1997. The life history and phenology of *Colpomenia peregrina* (Scytosiphonales, Phaeophyceae) from Japan. *Phycologia* 36: 337-344.

Kramer, K., 1997. Phenology and growth of European trees in relation to climate change. *Progress in Biometeorology* 12: 39-50.

Lee, J.-A. y B.H. Brinkhuis, 1986. Reproductive phenology of *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. (Phaeophyta) at the southern limit of its distribution in the northwestern Atlantic Ocean. *Journal of Phycology* 22: 276-285.

Lieth, H., 1974. Purposes of a phenology book. En: H. Lieth (Ed.). *Phenology and seasonality modelling*. Springer-Verlag, New York.

Lieth, H., 1997. Aims and methods in phenological monitoring. *Progress in Biometeorology* 12: 1-21.

Liu, X., P.W. Robinson, M.A. Madore, G.W. Witney y M.L. Arpaia, 1999. 'Hass' avocado carbohydrate fluctuations. I. Growth and phenology. *Journal of American Society of Horticulture Science* 124: 671- 675.

Lubchenco, J. y J. Cubit. 1980. Heteromorphic life histories of certain marine algae as adaptations to variations in herbivory. *Ecology* 61: 676-687.

- Lüning, K., 1993. Environmental and internal control of seasonal growth in seaweeds. *Hydrobiologia* 260/261: 1-14.
- Lüning K. e I.T. Dieck, 1989. Environmental triggers in algal seasonality. *Botanica Marina* 32: 389-397.
- Maggs, C.A. y M.D. Guiry, 1987. Environmental control of macroalgal phenology. En: R.M.M. Crawford (Ed.). *Plant life in aquatic and amphibious habitats* 5: 359-373.
- Mathieson, A.C., 1989. Phenological patterns of northern New England seaweeds. *Botanica Marina* 32: 419-438.
- McCourt, R.M., 1984. Seasonal patterns of abundance, distributions and phenology in relation to growth strategies of three *Sargassum* species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 74: 141-156.
- McLachlan, J. y C.J. Bird, 1984. Geographical and experimental assessment of the distribution of *Gracilaria* species (Rhodophyta: Gigartinales) in relation to temperature. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 38: 319-334.
- Menzel, A., N. Estrella y P. Fabian, 2001. Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951 to 1996. *Global Change Biology* 7: 657-666.
- Morrison, D., 1984. Seasonality of *Batophora oerstedii* (Chlorophyta), a tropical macroalga. *Marine Ecology Progress Series* 14: 235-244.
- Nelson, W.A., 1989. Phenology of *Gracilaria sordida* W. Nelson populations. Reproductive status, plant and population size. *Botanica Marina* 32: 41-51.
- Neto, A.I., 2000. Observations on the biology and ecology of selected macroalgae from the litoral of São Miguel (Azores). *Botanica Marina* 43: 483-498.
- Novaczek, I., 1984. Development and phenology of *Ecklonia radiata* at two depths in Goat Island Bay, New Zealand. *Marine Biology* 81: 189-197.
- Novaczek, I., C.J. Bird y J. McLachlan, 1986. The effect of temperature on development and reproduction in *Chorda filum* and *C. tomentosa* (Phaeophyta, Laminariales) from Nova Scotia. *Canadian Journal of Botany* 64: 2414-2420.
- Novaczek, I. y J. McLachlan, 1987. Correlation of temperature and daylength responses of *Sphaerotrichia divaricata* (Phaeophyta, Chordariales) with field phenology in Nova Scotia and distribution in eastern North America. *British Phycological Journal* 22: 215-219.
- Núñez-López, R.A. y M.M. Casas-Valdéz, 1996. Fenología de las especies de *Sargassum* (Fucales: Sargassaceae) en tres zonas de Bahía Concepción, B.C.S., México. *Revista de Biología Tropical* 44: 455-464.
- Otero-Arnaiz, A. y K. Oyama, 2001. Reproductive phenology, seed-set and pollination in *Chamaedorea alternans*, an understory dioecious palm in a rain forest in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 17: 745-754.

- Pacheco-Ruiz, I. 1999. Historia de vida de *Chondracanthus pectinatus* (Gigartinales, Rhodophyta) en la costa noroeste del Golfo de California. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California México, 123 p.
- Paula, E.J. y E.C. Oliveira, 1980. Aspectos fenológicos de duas populações de *Sargassum cymosum* (Phaeophyta – Fucales) do litoral de São Paulo, Brasil. *Boletim de Botânica, Universidad Sao Paulo* 8: 21-39.
- Penniman, C.A., A.C. Mathieson y C.E. Penniman, 1986. Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. *Botanica Marina* 29: 147-154.
- Peñuelas, J. y I. Filella, 2001. Responses to a warming world. *Science* 294: 793-794.
- Pérez-Ruzafa, I.M., 1990. Fenología de las algas del Mar Menor (Murcia, SE de España). *Botánica Complutensis* 16: 21-36.
- Pickering, T.D., M.E. Gordon y L.J. Tong, 1990. Seasonal growth, density, reproductive phenology and agar quality of *Gracilaria sordida* (Gracilariales, Rhodophyta) at Mokomoko Inlet, New Zealand. *Hydrobiologia* 204/205: 253-262.
- Pinheiro-Joventino, F. y C.L. Frota-Bezerra, 1980. Estudo de fenologia e regeneração de *Gracilaria domingensis* Sonder (Rhodophyta, Gracilariaceae), no estado de Ceará. *Arq. Ciên. Mar.* 20: 33-41.
- Prince, J.S., 1980. The ecology of *Sargassum pteropleuron* Grunow (Phaeophyceae, Fucales) in the waters off South Florida. *Phycologia* 19: 190-193.
- Prince, J.S. y S.W. O'Neal, 1979. The ecology of *Sargassum pteropleuron* Grunow (Phaeophyceae, Fucales) in the waters off South Florida. I. Growth, reproduction and population structure. *Phycologia* 18: 109-114.
- Pringle, J.D., 1984. Efficiency estimates for various quadrat sizes used in benthic sampling. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science* 41: 1485-1489.
- Printz, H., 1955. Phenology of *Ascophyllum nodosum*. *International Seaweed Symposium* 2: 198-202.
- Pujol, C. y M.A. Bosch (Dirección), 1980. *Gran enciclopedia Larousse. Tomo 4.* Editorial Planeta. Barcelona, 1032 pp.
- Quan-Young, L.I., M.A. Díaz-Martín y J. Espinoza-Avalos. (en prensa). Floristics, cover and phenology of marine macroalgae from Bajo Pepito, Isla Mujeres, Mexican Caribbean. *Bulletin of Marine Science*.
- Reed, D.C. y M.S. Foster. 1984. The effects of canopy shading on algal recruitment and growth in a giant kelp forest. *Ecology* 65: 937-948.
- Reed, D.C., M. Neushul y A.W. Ebeling. 1991. Role of settlement density on gametophyte growth and reproduction in the kelps *Pterygophora californica* and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology* 27: 361-366.

- Reis, R.P. y Y. Yoneshigue-Valentin, 2000. Phenology of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Rhodophyta, Gigartinales) in three populations from Rio de Janeiro State, Brazil. *Botanica Marina* 43: 299-304.
- Rindi, F. y F. Cinelli, 2000. Phenology and small-scale distribution of some rhodomelacean red algae on a western Mediterranean rocky shore. *European Journal of Phycology* 35: 115-125.
- Rodríguez-Prieto, C. y A. Vergés, 2001. Geographical distribution, habitat and reproductive phenology of the genus *Kallymenia* (Gigartinales, Rhodophyta) from Catalonia, Spain. *Botanica Marina* 44: 479-492.
- Rojas-González, B. y J. Afonso-Carrillo, 2000. Notes on Rhodomelaceae (Rhodophyta) from the Canary Islands: observations on reproductive morphology and new records. *Botanica Marina* 43: 147-155.
- Sakai, S., 2000. Reproductive phenology of gingers in a lowland mixed dipterocarp forest in Borneo. *Journal of Tropical Ecology* 16: 337-354.
- Sakai, S., 2001. Phenological diversity in tropical forests. *Population Ecology* 43: 77-86.
- Santelices, B., 1988. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). *FAO Fisheries Synopsis* 145: 55 pp.
- Santelices B., 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 28: 177-276.
- Schenkman, R.P.F., 1989. *Hypnea musciformis* (Rhodophyta): ecological influence on growth. *Journal of Phycology* 25: 192-196.
- Schoschina, E.V., V.N. Makarov, G.M. Voskoboynikov y C. van den Hoek, 1996. Growth and reproductive phenology of nine intertidal algae of the Murman coast of the Barents Sea. *Botanica Marina* 39: 83-93.
- Servière-Zaragoza, E. y R. Scrosati, 2002. Reproductive phenology of *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, Gelidiales) from southern Baja California, Mexico. *Pacific Science* 56: 285-290.
- Sheath, R.G., K.L. van Alstyne y K.M. Cole, 1985. Distribution, seasonality and reproductive phenology of *Bangia atropurpurea* (Rhodophyta) in Rhode Island, U.S.A. *Journal of Phycology* 21: 297-303.
- Sideman, E.J. y A.C. Mathieson, 1983. The growth, reproductive phenology and longevity of non-tidepool *Fucus distichus* (L.) Powell in New England. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 68: 111-127.
- Sigurdsson, B.D., 2001. Elevated [CO<sub>2</sub>] and nutrient status modified leaf phenology and growth rhythm of young *Populus trichocarpa* trees in a 3-year field study. *Trees* 15: 403-413.
- Stark, L.R., 2002. Phenology and its repercussions on the reproductive ecology of mosses. *The Bryologist* 105: 204-218.
- Theurillat, J.P. y A. Guisan, 2001. Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. *Climatic Change* 50: 77-109.

- Trowbridge, C.D., 1996. Demography and phenology of the intertidal green alga *Codium setchellii*: the enigma of local scarcity on sand-influenced rocky shores. *Marine Biology* 127: 341-351.
- Wernberg, T., M.S. Thomsen, P.A. Stæhr y M.F. Pedersen, 2001. Comparative phenology of *Sargassum muticum* and *Halidrys siliquosa* (Phaeophyceae: Fucales) in Limfjorden, Denmark. *Botanica Marina* 44: 31-39.
- Whittick, A., R.G. Hooper y G.R. South, 1989. Latitude, distribution and phenology: reproductive strategies in some Newfoundland seaweeds. *Botanica Marina* 32: 407-417.
- Williams-Linera, G. y J. Meave, 2002. Patrones fenológicos. pp. 407-431. En: M.R. Guariguata y G.H. Kattan (Comps.). Ecología y conservación de bosques neotropicales. Ediciones LUR, San José, 691 p.
- Worm, B., H.K. Lotze, C. Boström, R. Engkvist, V. Labanauskas y U. Sommer. 1999. Marine diversity shift linked to interactions among grazers, nutrients and propagule banks. *Marine Ecology Progress Series* 185: 309-314.

Agar from two coexisting species of *Gracilaria* (Gracilariaceae)  
from the Mexican Caribbean

Agar de dos especies coexistentes de *Gracilaria* (Gracilariaceae)  
del Caribe mexicano

Julio Espinoza-Avalos<sup>1</sup>  
Enrique Hernández-Garibay<sup>2</sup>  
José A. Zertuche-González<sup>3</sup>  
Ma. Esther Meave del Castillo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ECOSUR  
Apartado postal 424  
Chetumal, CP 77000, Quintana Roo, México  
E-mail: jespino@ecosur-qroo.mx

<sup>2</sup> Centro Regional de Investigación Pesquera  
Instituto Nacional de la Pesca  
Apartado postal 1306  
Ensenada, CP 22800, Baja California, México

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Oceanológicas  
Universidad Autónoma de Baja California  
Apartado postal 453  
Ensenada, CP 22800, Baja California, México

<sup>4</sup> Departamento de Hidrobiología  
Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa  
Apartado postal 55-535  
México, DF, CP 09340, México

Recibido en marzo de 2002; aceptado en febrero de 2003

**Abstract**

*Gracilaria cornea* and *G. crassissima* are similar species that coexist at Bajo Pepito in the Mexican Caribbean. Differences in agar properties from both species were determined for two reproductive categories: carposporic and undetermined, the latter mainly composed of tetrasporophytes. Agar yield (AY), agar gel strength (GS), 3,6-anhydrogalactose content (AG) and sulfate content (S) of native and alkali-treated agar were determined for both reproductive categories. Significant differences in native and alkali-treated agar between the reproductive categories were recorded for AY, GS and S from *G. cornea* and *G. crassissima*, as well as for AG of native agar from the latter species. Our results, and previous studies, demonstrate that neither reproductive stage was predominant over the other(s) in terms of having greater or lower values of agar properties. The potential economic use of agar differences from plants of different reproductive stage remains very limited. Lower AY and GS were found for *G. cornea* from the Caribbean side of the Yucatan peninsula (this study), in comparison to agar values reported for the Gulf of Mexico side of the peninsula. Warmer and nutrient-poorer waters on the Caribbean side could cause those differences. No pattern for GS or S was found when these two and other tropical species of Gracilariaceae were compared to temperate species. When plants of both reproductive categories were pooled together for each *Gracilaria* species, significant differences were found in all agar properties. Interspecific and intraspecific differences between and within species of Gracilariaceae have also been found for phenological events. We suggest that the coexistence of *G. cornea* and *G. crassissima* requires different phenological responses by each species to the environment at Bajo Pepito, which in turn could be reflected in differences in the agar properties we measured, both at the interspecific and intraspecific levels.

**Key words.** *Gracilaria* spp., agar, reproductive phases, seasonal changes, Yucatan Peninsula.

## Resumen

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* son especies muy similares que coexisten en el Bajo Pepito, Caribe mexicano. Para ambas especies se determinaron propiedades del agar de dos categorías reproductivas: carpospórica e indeterminada, la última compuesta principalmente por tetrasporofitos. Las propiedades del agar medidas fueron el rendimiento de agar (RA), fuerza de gel (FG), contenido de 3,6-anhidrogalactosa (AG) y sulfatos (S) de agar nativo y con tratamiento alcalino. Para agar nativo y alcalino se registraron diferencias significativas de RA, FG y S entre las categorías reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima*, lo mismo que para AG del agar nativo de la segunda especie. Nuestros resultados y estudios previos demuestran que ninguna fase reproductiva predomina sobre otra(s), con relación a tener valores mayores o menores en las propiedades del agar. El valor económico potencial de las diferencias del agar de plantas en distinta fase reproductiva permanece muy limitado. Encontramos valores menores de RA y FG para *G. cornea* del litoral Caribe de la Península de Yucatán, en comparación con aquellos reportados para el litoral del Golfo de México de la península. Aguas más cálidas y oligotróficas en el litoral del Caribe pueden causar estas diferencias. No se encontró un patrón en la FG y el S cuando estas dos y otras especies tropicales se compararon con especies de Gracilariaceae templadas. Se registraron diferencias significativas entre especies en todas las propiedades del agar, cuando se juntaron plantas de las dos categorías reproductivas de cada especie de *Gracilaria*. También se han encontrado diferencias interespecíficas e intraespecíficas en especies de Gracilariaceae en eventos fenológicos. Se sugiere que la coexistencia de *G. cornea* y *G. crassissima* requiere que éstas posean respuestas fenológicas diferentes al ambiente de el Bajo Pepito, lo que a su vez se refleja en diferencias del agar, a niveles interespecífico e intraespecífico.

**Palabras clave:** *Gracilaria* spp., agar, fases reproductivas, cambios estacionales, Península de Yucatán.

## Introduction

*Gracilaria cornea* J. Agardh and *G. crassissima* P. Crouan et H. Crouan in Schramm et Mazé, the two species we investigated, coexist in the study area, sometimes using the same rock substrate (fig. 1). The anatomic and reproductive similarities of these species suggest that the first species could be merely a high-water ecad of the second (Bird *et al.*, 1986). However, *G. crassissima* has been found in relatively calm waters near San Juan, Puerto Rico, and in various localities in Quintana Roo (Díaz-Piferrer, 1964; Díaz-Piferrer and Caballer-de-Pérez, 1964; J. Espinoza-Avalos, pers. obs.). Both species have similar reproductive features, such as the development and maturation of the spermatangia, cystocarp and tetrasporangia (as *Polycavernosa* species; Fredericq and Norris, 1985). Nonetheless, the species are dissimilar in other external characteristics. The thallus of *G. cornea* is erect, generally terete (occasionally flattened in some parts), attached to a single disc-like holdfast, without anastomosis of branches. The color of the plants of this species from the study area is a very uniform, pale yellow (fig. 1). In contrast, the thallus of *G. crassissima* is prostrate, diprostrate, decumbent to assurgent, with branches cylindrical or somewhat flattened and broad (fig. 1). Larger plants are sometimes attached to the substratum by more than one point on the thallus, with the presence of anastomosis between branches. The color of the plants of *G. crassissima* from the study zone is variable, from almost colorless to dark red (as *Gracilaria. Polycavernosa* or *Hydropuntia* species; *G. cornea* also as *G. debilis*; Taylor, 1960; Chapman, 1963; Díaz-Piferrer and Caballer-de-Pérez, 1964; Norris, 1985; Littler *et al.*, 1989; Littler and Littler, 1997; J. Espinoza-Avalos, pers. obs.).

The agar properties of *G. cornea* and *G. crassissima* (*G. cornea* also as *G. debilis*) have been studied by Humm and Williams (1948), Díaz-Piferrer and Caballer-de-Pérez (1964), Bird *et al.* (1969), Durairatnam (1980), Rincones-León (1990) and Marinho-Soriano *et al.* (2001), and by Díaz-Piferrer and

## Introducción

Las dos especies que investigamos, *Gracilaria cornea* J. Agardh y *G. crassissima* P. Crouan et H. Crouan in Schramm et Mazé coexisten en el área de estudio, usando en algunas ocasiones la misma roca como sustrato (fig. 1). La similitud anatómica y reproductiva de las dos especies originó que Bird



Figure 1. Photomontage of *Gracilaria crassissima* (upper left), *G. cornea* (upper right) and both species growing on a same rock (bottom). Note the presence of cystocarps (dark points) in *G. cornea*. Photos by Humberto Bahena-Basave.

Figura 1. Fotomontaje de *Gracilaria crassissima* (arriba izquierda), *G. cornea* (arriba derecha) y ambas especies creciendo sobre una misma roca (abajo). Notar la presencia de cistocarpos (puntos oscuros) en *G. cornea*. Fotos por Humberto Bahena-Basave.

Caballer-de-Pérez (1964) and Lahaye *et al.* (1988), respectively. In those studies, both *Gracilaria* species were sampled separately. In contrast, we have investigated two coexisting species collected from the same site at the same time. Freile-Pelegrín and Robledo (1997a, 1997b) have also studied agar characteristics of *G. cornea* from the Gulf of Mexico side of the Yucatan peninsula. Agarophytes exhibit different agar properties depending on the origin of the seaweeds (Armisen and Galatas, 1987). Thus, we expected to find different agar properties in our population, since our study site is located on the Caribbean Sea side of that peninsula, where contrasting oceanographic and biotic features are present (Díaz-Martín and Espinoza-Avalos, 2000).

The studies carried out to date with *G. cornea* and *G. crassissima* have not described the agar characteristics of plants from different reproductive phases. It has been a matter of controversy whether or not plants of Gracilariaceae in different stages of reproduction have differences in agar characteristics. Hoyle (1978) did not find differences in the yield or in the gel strength of the agar from male, female and tetrasporic plants of *Gracilaria bursapastoris* (Gmelin) Silva and *G. coronopifolia* J. Agardh (names as in the original paper). Similar findings were reported by Yao *et al.* (1984) and Minghou *et al.* (1985) for tetrasporic vs cystocarpic plants of *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss, and by Durairatnam and Nascimento (1985) for *Gelidiopsis sjoestedtii* Kylin. Neither Yao *et al.* (1984) nor Minghou *et al.* (1985) reported major differences in 3,6-anhydrogalactose and sulfate contents of the agar extracted from reproductive phases of *Gracilaria* species. However, Kim and Henríquez (1979) registered differences in agar yield from cystocarpic and tetrasporic plants of *G. verrucosa*, while Whyte *et al.* (1981) found a lack of synchrony between seasonal fluctuations in the chemical composition of the agar from *G. verrucosa*-type depending on the reproductive stage of the plants. Durairatnam and Nascimento (1985) recorded that carposporic and tetrasporic plants of *G. cylindrica* Borgesen yielded comparable amounts of agar, but with unequal gel strength.

Perhaps the contrasting results of these studies up to the first half of the 1980s led McLachlan and Bird (1986) to judge that the evidence for differences in agar composition between nuclear phases within the Gracilariaceae was equivocal. In more recent studies, Pickering *et al.* (1990), Gerung *et al.* (1997) and Marinho-Soriano *et al.* (1999) reported differences in yield and/or gel strength of the agar from life stages of three *Gracilaria* species. Penniman and Mathieson (1987) and Brito-L. and Lemus-C. (1996) showed that the reproductive stages of two *Gracilaria* species did not differ in agar yield and gel strength.

The objective of this study was to determine the differences in agar characteristics of two coexisting *Gracilaria* species, and the agar differences of both species at the intraspecific level. Also, to compare agar properties of *G. cornea* from both (Gulf of Mexico and Caribbean) sides of the Yucatan peninsula. Because alkali treatment increases the gel strength

*et al.* (1986) sugirieran que la primera pudiera ser una época (de aguas turbulentas) de la segunda. Sin embargo, *G. crassissima* se ha encontrado en aguas relativamente tranquilas de Cuba, Puerto Rico y en varias localidades de Quintana Roo (Díaz-Piferrer, 1964; Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez, 1964; J. Espinoza-Avalos, obs. pers.). Entre sus características reproductivas similares se encuentran las formas de espermatangio, cistocarpio y tetrasporangio (como especies de *Polycavernosa*; Fredericq y Norris, 1985); sin embargo, difieren en sus características externas. El talo de *G. cornea* es erecto, generalmente terete (ocasionalmente aplanado en algunas partes), y se adhiere con una estructura en forma de disco, sin anastomosis de ramas. Su color, en el área de estudio, es un amarillo pálido muy uniforme (fig. 1). En contraste, el talo de *G. crassissima* es postrado, semipostrado, con ramas cilíndricas o algo aplanadas y anchas (fig. 1). Las plantas más grandes se adhieren en ocasiones al sustrato en más de un punto del talo, con anastomosis de ramas. Su color, en el área de estudio, es variable, de casi sin color hasta rojo oscuro (como especies de *Gracilaria*, *Polycavernosa* o *Hydropuntia*; *G. cornea* también como *G. debilis*; Taylor, 1960; Chapman, 1963; Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez, 1964; Norris, 1985; Littler *et al.*, 1989; Littler y Littler, 1997; J. Espinoza-Avalos, obs. pers.).

Las propiedades del agar de *G. cornea* y *G. crassissima* (*G. cornea* también como *G. debilis*) han sido estudiadas por Humm y Williams (1948), Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964), Hong *et al.* (1969), Durairatnam (1980), Rincones-León (1990) y Marinho-Soriano *et al.* (2001), y por Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964) y Lahaye *et al.* (1988), respectivamente. En esos estudios, ambas especies de *Gracilaria* fueron recolectadas por separado. En contraste, nosotros investigamos dos especies coexistentes recolectadas del mismo sitio, al mismo tiempo. Freile-Pelegrín y Robledo (1997a, 1997b) también han estudiado las características del agar de *G. cornea* del litoral del Golfo de México de la Península de Yucatán. Las agarolitas muestran diferencias de agar, dependiendo del lugar de origen de las plantas (Armisen y Galatas, 1987). Así, en nuestra población esperábamos encontrar diferencias de agar, puesto que nuestro sitio de estudio se encuentra en el litoral del Mar Caribe de la península, donde existen condiciones oceanográficas y bióticas contrastantes (Díaz-Martín y Espinoza-Avalos, 2000).

En los estudios de *G. cornea* y *G. crassissima* llevados a cabo hasta la fecha, no se han descrito características del agar de plantas en diferentes fases reproductivas. Ha existido controversia con respecto a si plantas Gracilariaceae en distinta fase reproductiva tienen agar con diferentes características. Hoyle (1978) no encontró diferencias en el rendimiento ni en la fuerza de gel entre el agar de plantas masculinas, femeninas y tetraspóricas de *Gracilaria bursapastoris* (Gmelin) Silva y de *G. coronopifolia* J. Agardh (nombres como en la publicación original). Yao *et al.* (1984) y Minghou *et al.* (1985) reportaron resultados similares para plantas

and the economic importance) of the agar (Armisen and Galatas, 1987). native and alkali-treated agar from *G. cornea* and *G. crassissima* were compared

**Materials and methods**

*Study area*

The study site, Bajo Pepito, is located in northeastern Quintana Roo, in the Mexican Caribbean, approximately 2 km west of Isla Mujeres (fig. 2). This tropical site is part of the National Marine Park "Costa Occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc". The sea bottom is very regular, 3–4 m depth, with coarse sand and calcareous rocks usually less than 50 cm in diameter. Bajo Pepito is located within the Yucatan Strait, where there are strong northward currents (4 knots = 2 m s<sup>-1</sup>) (Merino-Ibarra, 1992). The water is clear, oligotrophic, with mean nitrate + nitrite and phosphate concentrations less than 0.7 µM year round (data not shown).

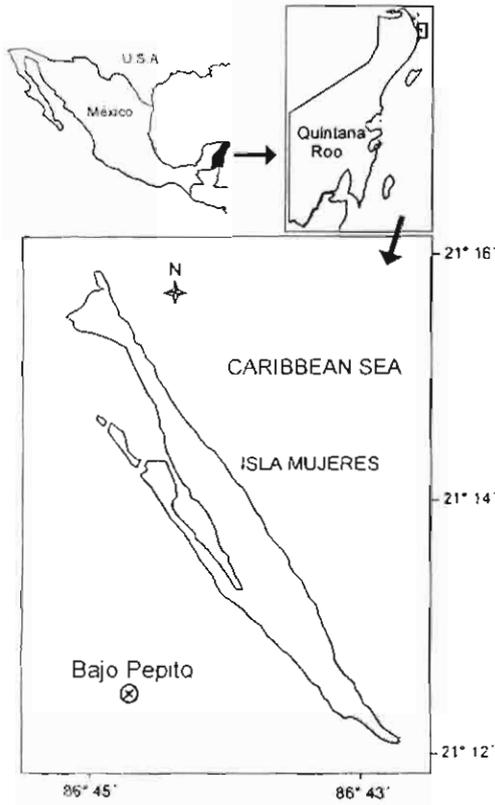


Figure 2. Geographic location of Bajo Pepito, Quintana Roo, Mexico. Dotted lines depict part of the National Marine Park Costa Occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc.

Figura 2. Ubicación geográfica de Bajo Pepito, Quintana Roo, México. Las líneas punteadas representan parte del Parque Marino Nacional Costa Occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc.

tetraspóricas vs. cistocárpicas de *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss, lo mismo que Durairatnam y Nascimento (1985) para *Gelidiopsis sjaestedii* Kylin. Tampoco Yao *et al.* (1984) ni Minghou *et al.* (1985) registraron diferencias mayores en el contenido de 3,6-anhidrogalactosa y sulfatos del agar extraído de fases reproductivas de especies de *Gracilaria*. Sin embargo, Kim y Henríquez (1979) reportaron diferencias en el rendimiento de agar de plantas cistocárpicas y tetraspóricas de *G. verrucosa*, mientras que Whyte *et al.* (1981) encontraron falta de sincronía en fluctuaciones estacionales en la composición química del agar de *G* tipo *verrucosa*, dependiendo del estadio reproductivo de las plantas. Durairatnam y Nascimento (1985) registraron que las plantas carpospóricas y las tetraspóricas de *G. cylindrica* Bergesen produjeron cantidades comparables de agar, pero con fuerza de gel diferente.

Quizá la incertidumbre causada por los resultados anteriores condujo a McLachlan y Bird (1986) a opinar que la evidencia de diferencias en la composición de agar entre fases nucleares dentro de las Gracilariaceae era dudosa. En estudios más recientes, Pickering *et al.* (1990), Gerung *et al.* (1997) y Marinho-Soriano *et al.* (1999) reportaron diferencias en rendimiento y/o fuerza de gel del agar de fases reproductivas de tres especies de *Gracilaria*. Por su parte, Penniman y Mathieson (1987) y Brito-L. y Lemus-C. (1996) mostraron que los estadios reproductivos de dos especies de *Gracilaria* no fueron diferentes en su rendimiento de agar y fuerza de gel.

El objetivo de este estudio fue determinar la diferencia en características del agar de dos especies coexistentes de *Gracilaria* y las diferencias de su agar a nivel intraespecífico de ambas especies; asimismo, comparar las propiedades del agar de *G. cornea* de ambos litorales (Golfo de México y Caribe) de la Península de Yucatán. Tomando en cuenta que un tratamiento alcalino incrementa la fuerza de gel del agar, y su importancia económica (Armisen y Galatas, 1987), se comparan datos de agares nativo y alcalino de *G. cornea* y *G. crassissima*.

**Materiales y métodos**

*Área de estudio*

El sitio de estudio, Bajo Pepito, se localiza al noreste de Quintana Roo, en el Caribe mexicano, aproximadamente 2 km al oeste de Isla Mujeres (fig. 2). Este sitio tropical es parte del Parque Marino Nacional Costa Occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc. El fondo del mar es irregular, con 3–4 m de profundidad, de arena gruesa y rocas calcáreas usualmente menores a 50 cm de diámetro. Bajo Pepito está localizado en el Canal de Yucatán, donde existen corrientes fuertes (4 nudos = 2 m s<sup>-1</sup>) con dirección norte (Merino-Ibarra, 1992). El agua es clara, oligotrófica, y con concentraciones medias de nitratos + nitritos y fosfatos menores a 0.7 µM a lo largo del año (datos no publicados).

*Collection of algal material*

The study site was visited on February 7, March 10, April 14, May 16, June 20, August 29, October 7 and November 25, 1997, and January 14, 1998. On each visit, all *Gracilaria* spp. plants found along a 25 m long transect were collected using an aluminum 1 m<sup>2</sup> quadrat. The monthly samples (25 quadrats) were also used to measure algal biomass, reported elsewhere. The transects were prefixed and oriented (NW) at the sea bottom with metal stakes and a plastic chain. Plants of both species were sorted into two reproductive categories underwater: carposporic, recognized by the presence of cystocarps, and undetermined (other than carposporic) plants. Plants of each reproductive category and species were introduced underwater into plastic bags. The collected material was sun-dried in the field, then dried at 60°C for three days in a convection oven. Dried tissue was ground using a Thomas-Wiley® mill and sieved through a 0.355-mm sieve. In order to use uniform samples, only the algal particles that did not pass through the sieve were used for agar analysis. The limited number of carposporic plants of *G. crassissima* only permitted the analysis of agar for this reproductive stage from May to August 1997. For the same reason, data are not provided for *G. cornea* carposporic plants from October 1997 and January 1998. The proportion of nuclear phases was determined from independent plant samples for a phenological study, using 32 to 50 (mean = 47) fragments of adult plants collected monthly in the same area, but outside of the above-mentioned transects. Observation under a microscope of these plants revealed that the undetermined reproductive category (URC) was mainly composed of tetrasporophytes: a large percentage (mean 74.3%,  $n = 752$ ) of the reproductive plants of both species analyzed during the study period corresponded to that reproductive stage (data not shown).

## Agar extraction (native)

Triplicate samples of dry and milled algal tissue (4 g) were soaked in 40 mL of HCl 0.05 N for 3 min, thoroughly washed with distilled water, placed in 45 mL of distilled water and the pH adjusted to 6.5–7.0 with 0.1 N NaOH. Extraction was performed by autoclaving at 90°C for 1 h, and completed on a hot plate stirrer until all algal tissue (mixed with ~3 g of Celite) had disintegrated. The extracted agar was vacuum-filtered through Whatman® 40 filters. Agar solution was collected in aluminum trays and kept at room temperature (approximately 23°C) until gel formation. Agar gel was frozen and thawed two to three times, then transferred to 30 mL of ethanol 96% for 30 min and washed twice in 70% ethanol (v/v) and once in 96% ethanol. Agar was subsequently dried at 60°C for three days in a convection oven. Dried agar was weighed and yield calculated from the original dried sample weight. The procedure was a modification of that described by Roleda *et al.* (1997).

*Recolección de material algal*

El sitio de estudio se visitó en febrero 7, marzo 10, abril 14, mayo 16, junio 20, agosto 29, octubre 7 y noviembre 25 de 1997, y enero 14 de 1998. En cada visita se recolectaron todas las plantas de *Gracilaria* spp. que se encontraron a lo largo de un transecto de 25 m, utilizando un cuadrante de aluminio de 1 m<sup>2</sup>. Las muestras mensuales (25 cuadrantes) también se usaron para medir la biomasa, que se reporta aparte. Los transectos se prefijaron y orientaron (NW) en el fondo con estacas metálicas y una cadena plástica. Las plantas de ambas especies se separaron bajo el agua en dos categorías reproductivas: carpospórica, reconocida por la presencia de cistocarpos, e indeterminada (el resto de plantas). Las plantas de cada especie y categoría se introdujeron bajo el agua en bolsas de plástico. El material recolectado se secó primero al sol y luego, por tres días, a 60°C en una estufa de convección. El tejido seco se molió con un molino Thomas-Wiley® y se cribó a través de un tamiz con apertura de 0.355 mm. Con el fin de tener muestras uniformes en los análisis de agar, sólo se usaron las partículas retenidas en el tamiz. El número limitado de plantas carpospóricas de *G. crassissima* sólo permitió el análisis de su agar de mayo a agosto de 1997. Por la misma razón, no se proporcionan datos de plantas carpospóricas de *G. cornea* para octubre de 1997 y enero de 1998. La proporción de fases reproductivas se determinó a partir de muestras de plantas independientes, para un estudio fenológico, usando de 32 a 50 (promedio = 47) fragmentos de plantas adultas recolectadas mensualmente fuera de los transectos mencionados. Las observaciones al microscopio revelaron que la categoría reproductiva indeterminada estuvo compuesta principalmente por tetrasporofitos: el gran porcentaje (promedio 74.3%,  $n = 752$ ) de las plantas analizadas de ambas especies durante el periodo de estudio correspondió a esa fase reproductiva (datos no publicados).

*Extracción de agar (nativo)*

Se sumergieron muestras secas y molidas de tejido algal (4 g, por triplicado) por 3 min en 40 mL de HCl 0.05 N; se enjuagaron con agua destilada abundante y se pusieron en 45 mL de agua destilada, ajustando el pH a 6.5–7.0 con NaOH 0.1 N. La extracción se llevó a cabo en una autoclave a 90°C por 1 h, y se concluyó sobre una plancha de calentamiento con rotación, hasta que todo el tejido (mezclado con ~3 g de Celite) se desintegró. El agar extraído se filtró a través de filtros Whatman® 40. La solución de agar se recolectó en recipientes de aluminio y se mantuvo a temperatura ambiente (aproximadamente 23°C), hasta que se formó el gel. Los geles fueron congelados y descongelados dos o tres veces, transferidos a 30 mL de etanol 96% (v/v) por 30 min, lavados dos veces en etanol 70% y, una vez, en etanol 96%. El agar se secó a 60°C por tres días; luego se pesó y el rendimiento se calculó usando el peso original de la muestra. El procedimiento fue una modificación del descrito por Roleda *et al.* (1997).

*Alkali treatment* (modified from Freile-Peegrin and Robledo, 1997a)

Algal samples of 3 g were soaked overnight (in triplicate) in 60 mL of 3% NaOH (w/v) at room temperature. The next day samples were placed in a water bath at 85°C for 2 h. Algal particles were removed from the bath, cooled, and thoroughly washed with running tap water and then with distilled water. Samples were washed with 60 mL 0.025% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> for 10 min, and then placed in 90 mL of phosphate buffer solution at pH 6.3. Extraction was carried out just as for the native agar. Data on alkali-treated agar of both species are not presented for February and March 1997, because unknown conditions of alkali treatment did not allow an efficient recovery of the agar in those months.

*Gel strength* (modified from Miller and Furneaux, 1987)

Agar gels (1.0%, w/w) were prepared by dissolving 0.1 g of dried agar in 9.9 g of distilled water. The 1.0% solution was collected for analysis (i.e., not 1.5%), in order to use the most number of samples of (the few) carposporic plants. Agar solutions were heated at 100°C for 15 min, and then more water was added to compensate for evaporation. Hot solution (5 mL) was poured into two transparent cylindrical polycarbonate jars (2 cm diameter and 5 cm height). The agar was allowed to gel overnight at room temperature (approximately 23°C), with the jars placed upside down to prevent surface gel drying. Gel strength (g cm<sup>-2</sup>) was determined using a two-plate balance and 0.196 cm<sup>2</sup> plunger. A loading digital balance was placed on the side of the two-plate balance. Weight was added as distilled water (~40 g min<sup>-1</sup>) using a burette. Determination of 1.5% (w/w) agar strength was also performed for alkali-treated agar, only for those months when the highest gel strengths at 1.0% were registered. These gels were prepared by dissolving 0.15 g of the dried agar in 9.85 g of distilled water.

*3,6-anhydrogalactose content*

Percent 3,6-anhydrogalactose was determined by the resorcinol-acetal method of Yaphe and Arsenault (1965), as modified by Craigie and Leigh (1978), using D-fructose standards. Standards were prepared every time samples were analyzed. Absorbance was read at 555 nm.

*Sulfate content*

Percent sulfate was determined by the BaCl<sub>2</sub> method of Tabatabai (1974), as modified by Craigie *et al.* (1984). Hydrolysis of 15–20 mg of agar was carried out for 2 h at 100°C in four drops of 95% ethanol (to moisten the agar) and 5 mL 2 M HCl, using sealed Ependorf tubes. Standard K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solutions were used as reference.

*Tratamiento alcalino* (modificado de Freile-Peegrin y Robledo, 1997a)

Las muestras algales, de aproximadamente 3 g, se colocaron por triplicado en 60 mL de NaOH 3% (p/v) a temperatura ambiente. El día siguiente se colocaron en agua de calentamiento a 85°C por 2 h. Enseguida se retiraron del baño, se dejaron a enfriar, y se enjuagaron abundantemente con agua potable y luego con agua destilada. Las muestras se lavaron con 60 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.025% por 10 min y se colocaron en 90 mL de una solución buffer a pH 6.3. La extracción se efectuó igual que la del agar nativo. No se presentan datos de agar alcalino de ninguna de las especies para febrero y marzo de 1997, ya que condiciones desconocidas del tratamiento no permitieron una recuperación eficiente del agar en esos meses.

*Fuerza de gel* (modificado de Miller y Furneaux, 1987)

Se prepararon geles de agar (1.0%, p/p), disolviendo 0.1 g de agar seco en 9.9 g de agua destilada. Se seleccionó 1.0% como solución de análisis (i.e., no 1.5%), con el fin de usar el mayor número de muestras de (las escasas) plantas carpospóricas. Las soluciones de agar se calentaron a 100°C por 15 min; luego se agregó más agua para compensar la evaporación. La solución caliente (5 mL) se vació en dos frascos cilíndricos transparentes de policarbonato, de 2 cm de diámetro y 5 cm de altura. El agar se gelificó por un día a temperatura ambiente (aproximadamente 23°C), colocando los frascos al revés para evitar que se secase la superficie del gel. La fuerza de gel (g cm<sup>-2</sup>) se determinó usando una balanza de dos platos y un pistón de 0.196 cm<sup>2</sup>. Se colocó una balanza digital en uno de los platos de la balanza. Como peso se agregó (~40 g min<sup>-1</sup>) agua destilada usando una bureta. También se determinó la fuerza de gel en soluciones de agar alcalino 1.5% (p/p), sólo para los meses cuando se registró la fuerza de gel mayor del agar al 1.0%. Esos geles se prepararon disolviendo 0.15 g de agar seco en 9.85 g de agua destilada.

*Contenido de 3,6-anhidrogalactosa*

El porcentaje de 3,6-anhidrogalactosa se determinó por el método resorcinol-acetal de Yaphe y Arsenault (1965), modificado por Craigie y Leigh (1978), usando D-fructosa como estándar. Los estándares se prepararon cada vez que se analizaron muestras. La absorbancia se leyó a 555 nm.

*Contenido de sulfatos*

El porcentaje de grupos sulfato se determinó por el método BaCl<sub>2</sub> de Tabatabai (1974), modificado por Craigie *et al.* (1984). La hidrólisis de 15–20 mg de agar se llevó a cabo por 2 h a 100°C en cuatro gotas de etanol 95% (para humedecer el agar) y 0.5 mL HCl 2 M, usando tubos Ependorf. Se usaron como referencia soluciones estándar de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### Statistical analyses

Data were tested for normality (Kolmogorov-Smirnov) and subjected to Bartlett's test for homogeneity of group variances. Two-way analyses of variance (factors = reproductive category and time) for each species data were performed using the software Statistica, release 4.3, for Windows (Statsoft, Inc., Tulsa, USA). Three-way analyses of variance (third factor = species) were not carried out because carposporic plant material of *G. crassissima* was collected only in three out of nine sampling months. Therefore, two-way analyses of variance were performed to compare the agar properties at the species level by considering together all the data obtained within each species regardless of reproductive categories. Heterogeneous data groups were transformed using  $\log(x + 1)$  and arcsin square root of  $x$ . Pearson's product moment correlation test was used to determine the linear relationship between agar properties.

### Análisis estadísticos

Se probó la normalidad de los datos (Kolmogorov-Smirnov) y éstos se sometieron a la prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett. Se efectuaron análisis de varianza de dos vías (factores = categoría reproductiva y tiempo) para los datos de ambas especies, usando el programa Statistica, versión 4.3, para Windows (Statsoft, Inc., Tulsa, EUA). No se efectuaron análisis de varianza de tres vías (tercer factor = especie) porque sólo en tres de los nueve meses se recolectaron plantas carpospóricas de *G. crassissima*. Por ello, se aplicaron análisis de varianza de dos vías para comparar las propiedades del agar a nivel de especie, considerando todos los datos obtenidos de cada especie en conjunto, sin considerar la categoría reproductiva. Datos sin homogeneidad de varianzas se transformaron usando  $\log(x + 1)$  y raíz cuadrada de arco seno de  $x$ . La prueba de correlación de Pearson se usó para determinar la relación lineal entre las propiedades del agar.

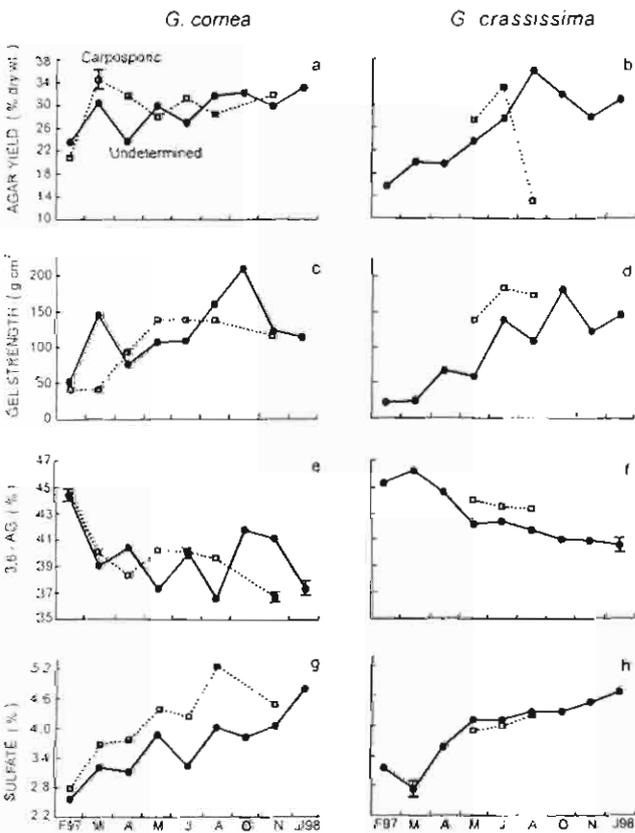


Figure 3. Agar yield (% dry weight), gel strength ( $\text{g cm}^{-2}$ ) of 1.0% agar solution, 3,6-anhydrogalactose content (%) and sulfate content (%) of native agar from *Gracilaria cornea* and *G. crassissima*. Mean values  $\pm$  standard error are provided for two reproductive categories: carposporic ( $\square$ ) and undetermined ( $\bullet$ ).

Figura 3. Rendimiento de agar (% de peso seco), fuerza de gel ( $\text{g cm}^{-2}$ ) de agar 1.0%, y contenido de 3,6-anhidrogalaactosa (%) y sulfatos (%) de agar nativo de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. Se incluyen valores promedio  $\pm$  error estándar de dos categorías reproductivas: carpospóric ( $\square$ ) e indeterminada ( $\bullet$ ).

### Resultados

#### Rendimiento de agar (RA)

Las plantas carpospóricas y de categoría reproductiva indeterminada (CRI) de *G. cornea* y *G. crassissima* fueron significativamente diferentes en RA nativo y con tratamiento alcalino (figs. 3a, b, 4a, b; tablas 1, 2). Los RA nativo y alcalino fueron significativamente diferentes entre *G. cornea* y *G. crassissima* cuando se juntaron plantas carpospóricas y CRI de cada especie (fig. 5a, b; tabla 3). No se registró interacción significativa del tiempo con el RA alcalino de las dos especies (tabla 3).

#### Fuerza de gel (FG)

La FG de agar 1.0% nativo y con tratamiento alcalino de *G. cornea* y *G. crassissima* fue significativamente diferente a nivel intraespecífico (figs. 3c, d, 4c, d; tablas 1, 2). La FG de agar 1.5% se determinó en agar alcalino de plantas de CRI de *G. cornea* recolectadas en agosto, y carpospóricas y de CRI de *G. crassissima* recolectadas en junio y agosto, cuando se registraron los valores más altos de FG de agar 1.0% nativo (fig. 4e, d). Los valores medios de FG de agar 1.5% alcalino de plantas carpospóricas y de CRI de *G. crassissima*, y de CRI de *G. cornea* fueron 1281, 1266 y 1020  $\text{g cm}^{-2}$ , respectivamente. La FG de agar 1.0% fue significativamente diferente entre *G. cornea* y *G. crassissima* cuando se juntaron las dos categorías reproductivas de cada especie (fig. 5c, d; tabla 3).

#### Contenido de 3,6-anhidrogalaactosa (AG)

El porcentaje de AG de agar nativo fue significativamente diferente entre plantas carpospóricas y de CRI de *G. crassissima*, no así para el agar con tratamiento alcalino de esta especie, ni para los dos tipos de agar de *G. cornea* (figs. 3e, f, 4e, f; tablas 1, 2). Sin embargo, cuando se analizaron en

Table 1. Analysis of variance and significance values for the yield and properties of native and alkali-treated agar from *Gracilaria cornea*. A = reproductive category, B = time and A × B = interaction.

Tabla 1. Análisis de varianza y valores de significancia del rendimiento y propiedades del agar nativo y con tratamiento alcalino de *Gracilaria cornea*. A = categoría reproductiva, B = tiempo y A × B = interacción.

Source of variation	Native agar			Alkali-treated agar		
	df	F	P	df	F	P
<b>Agar yield</b>						
A	1	8.37	0.006**	1	15.30	0.001**
B	6	29.70	0.000**	4	45.79	0.000**
A × B	6	10.23	0.000**	4	18.42	0.000**
<b>Gel strength</b>						
A	1	22.76	0.000**	1	60.84	0.000**
B	6	187.24	0.000**	4	284.45	0.000**
A × B	6	70.95	0.000**	4	24.77	0.000**
<b>3,6-anhydrogalactose</b>						
A	1	0.36	0.553ns	1	1.87	0.180ns
B	6	63.17	0.000**	4	6.49	0.001**
A × B	6	20.53	0.000**	4	77.71	0.000**
<b>Sulfate content</b>						
A	1	334.65	0.000**	1	105.30	0.000**
B	6	195.41	0.000**	4	155.54	0.000**
A × B	6	12.71	0.000**	4	103.00	0.000**

\*\* Highly significant ( $P < 0.01$ ), \* significant ( $P < 0.05$ ), ns = not significant.

Table 2. Analysis of variance and significance values for the yield and properties of native and alkali-treated agar from *Gracilaria crassissima*. A = reproductive category, B = time and A × B = interaction.

Tabla 2. Análisis de varianza y valores de significancia del rendimiento y propiedades del agar nativo y con tratamiento alcalino de *Gracilaria crassissima*. A = categoría reproductiva, B = tiempo y A × B = interacción.

Source of variation	Native agar			Alkali-treated agar		
	df	F	P	df	F	P
<b>Agar yield</b>						
A	1	159.79	0.000**	1	5.03	0.042*
B	2	98.81	0.000**	2	6.27	0.011*
A × B	2	623.64	0.000**	2	12.57	0.001**
<b>Gel strength</b>						
A	1	251.33	0.000**	1	28.00	0.000**
B	2	80.74	0.000**	2	189.05	0.000**
A × B	2	6.68	0.006**	2	22.21	0.000**
<b>3,6-anhydrogalactose</b>						
A	1	79.44	0.000**	1	0.19	0.667ns
B	2	4.62	0.021*	2	4.47	0.024*
A × B	2	1.61	0.222ns	2	4.62	0.022*
<b>Sulfate content</b>						
A	1	10.18	0.004**	1	431.35	0.000**
B	2	9.10	0.001**	2	136.75	0.000**
A × B	2	0.93	0.410ns	2	114.16	0.000**

\*\* Highly significant ( $P < 0.01$ ), \* significant ( $P < 0.05$ ), ns = not significant.

## Results

### Agar yield (AY)

Carposporic and URC plants of *G. cornea* and *G. crassissima* were significantly different in native and alkali-treated AY (figs. 3a, b, 4a, b; tables 1, 2). Significant differences in native and alkali-treated AY existed between *G. cornea* and *G. crassissima* when carposporic and URC plants were pooled together within each species (fig. 5a, b; table 3). No significant interaction was registered in alkali-treated AY of the two species through time (table 3).

### Gel strength (GS)

Significant differences were found in GS of native and alkali-treated agar 1.0% of *G. cornea* and *G. crassissima* at the intraspecific level (figs. 3c, d, 4c, d; tables 1, 2). GS for 1.5% gels was also performed for alkali-treated agar of undetermined plants of *G. cornea* collected in August, and carposporic and undetermined plants of *G. crassissima* collected in June and August, when the highest gel strengths at 1.0% were registered (fig. 4c, d). Mean gel strength values of 1.5% alkali-treated agar solutions were 1281 and 1266 g cm<sup>-2</sup> for carposporic and URC plants, respectively, of *G. crassissima*, and 1020 g cm<sup>-2</sup> for the latter category of plants of *G. cornea*. Significant differences in GS for 1.0% gels occurred between *G. cornea* and *G. crassissima* when plants of the two reproductive categories were pooled together within each species (fig. 5c, d; table 3).

### 3,6-anhydrogalactose content (AG)

Percent AG was significantly different between carposporic and URC plants for native agar of *G. crassissima*, not for alkali-treated agar of this species or the two types of agar from *G. cornea* (figs. 3e, f, 4e, f; tables 1, 2). However, when carposporic and URC plants were pooled together within each species, AG content of both native and alkali-treated agar was significantly different between *G. cornea* and *G. crassissima* (fig. 5e, f; table 3).

### Sulfate content (S)

Percent S of native and alkali-treated agar from carposporic and URC plants of *G. cornea* and *G. crassissima* exhibited significant differences (figs. 3g, h, 4g, h; tables 1, 2). Interspecific significant differences, however, were only recorded for alkali-treated agar, not for native agar (fig. 5g, h; table 3).

In general, differences in properties of native and alkali-treated agar between reproductive categories (figs. 3, 4) were not a result of values that were consistently larger or smaller in one reproductive category than in the other, since significant

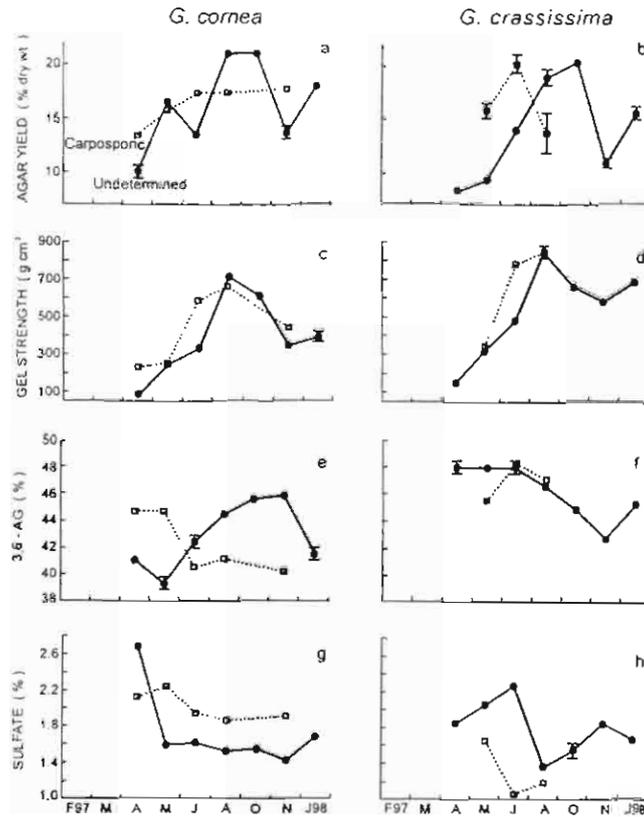


Figure 4. Agar yield (% dry weight), gel strength (g cm<sup>-2</sup>) of 1.0% agar solution, 3,6-anhydrogalactose content (%) and sulfate content (%) of alkali-treated agar from *Gracilaria cornea* and *G. crassissima*. Mean values  $\pm$  standard error are provided for two reproductive categories: carposporic (squares) and undetermined (filled circles).

Figura 4. Rendimiento de agar (% de peso seco), fuerza de gel (g cm<sup>-2</sup>) de agar 1.0%, y contenido de 3,6-anhidrogalaactosa (%) y sulfatos (%) de agar con tratamiento alcalino de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. Se incluyen valores promedio  $\pm$  error estándar de dos categorías reproductivas: carpospórica (cuadrados) e indeterminada (círculos).

conjunto plantas de las dos categorías reproductivas de cada especie, el porcentaje de AG del agar nativo y del alcalino fue significativamente diferente entre *G. cornea* y *G. crassissima* (fig. 5e, f; tabla 3).

### Contenido de sulfatos (S)

El porcentaje de S del agar nativo y con tratamiento alcalino de plantas carpospóricas y de CRI de *G. cornea* y *G. crassissima* fue significativamente diferente (figs. 3g, h, 4g, h; tablas 1, 2). Sin embargo, sólo se registraron diferencias significativas interespecíficas, para el agar alcalino y no para el nativo (fig. 5g, h; tabla 3).

En general, las diferencias en las propiedades del agar nativo y con tratamiento alcalino entre las categorías reproductivas (figs. 3, 4) no fueron causadas porque en una de las categorías las propiedades fueran consistentemente menores o

interactions through time occurred in most agar-property values (tables 1, 2). The only exception was in S of native agar from *G. cornea*, where carposporic plants always contained more sulfate than plants from the URC group (fig. 3g). Nonetheless, in this case the range values were comparable in both reproductive categories. Larger GS for native agar (fig. 3) and smaller S for alkali-treated agar (fig. 4) from carposporic plants of *G. crassissima* were also registered. However, only three pairs of data were included on which to base these two comparisons.

Relationships between properties of native and alkali-treated agar of reproductive categories from *G. cornea* and *G. crassissima* did not follow consistent patterns (table 4). For example, a significant positive correlation between AG and S was found for alkali-treated agar from carposporic plants of *G. cornea*, but a negative one was found between the same properties for native agar from URC plants of *G. crassissima* (table 4). High correlation values found between agar properties of carposporic plants of *G. crassissima* (table 4) were not significant because of the small number of pairs (three) of the data that were analyzed. Relationships between agar properties of pooled reproductive categories within each species also varied depending on the factor being evaluated (table 5).

mayores que en la otra, puesto que ocurrieron interacciones significativas a lo largo del tiempo en la mayoría de los valores de tales propiedades (tablas 1, 2). La única excepción fue en el contenido de S del agar nativo de *G. cornea*, en el que las plantas carpospóricas siempre tuvieron más S que las de CRI (fig. 3g). Sin embargo, en este caso el rango de valores fue comparable en ambas categorías reproductivas. También se registraron valores mayores de FG en el agar nativo (fig. 3) y menor contenido de S para el agar alcalino (fig. 4) de plantas carpospóricas de *G. crassissima*. Sin embargo, en esas comparaciones sólo se usaron tres pares de datos.

Las relaciones lineales entre las propiedades del agar nativo y del alcalino no presentaron un patrón consistente en las categorías reproductivas de *G. cornea* y *G. crassissima* (tabla 4). Por ejemplo, se encontró una correlación positiva significativa entre AG y S para el agar alcalino de plantas carpospóricas de *G. cornea*, pero la correlación fue negativa entre las mismas propiedades para el agar nativo de plantas de CRI de *G. crassissima* (tabla 4). Los valores de correlación altos que se encontraron entre propiedades del agar de plantas carpospóricas de *G. crassissima* (tabla 4) no fueron significativos, debido al reducido número de pares de muestra (tres) analizados. Las relaciones lineales entre especies (con categorías reproductivas analizadas en conjunto) también variaron, dependiendo de los factores evaluados (tabla 5).

Table 3. Analysis of variance and significance values for the yield and properties of native and alkali-treated agar from *Gracilaria cornea* and *G. crassissima*. A = species, B = time and A × B = interaction. The two reproductive categories recognized in this study were analyzed together.

Tabla 3. Análisis de varianza y valores de significancia del rendimiento y propiedades del agar nativo y con tratamiento alcalino de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. A = especie, B = tiempo y A × B = interacción. Las dos categorías reproductivas reconocidas en este estudio se analizaron en conjunto.

Source of variation	Native agar			Alkali-treated agar		
	df	F	P	df	F	P
<b>Agar yield</b>						
A	1	27.06	0.000**	1	16.76	0.000**
B	8	9.10	0.000**	6	15.58	0.000**
A × B	8	2.94	0.006**	6	1.76	0.125ns
<b>Gel strength</b>						
A	1	6.06	0.015*	1	45.69	0.000**
B	8	55.81	0.000**	6	75.71	0.000**
A × B	8	6.98	0.000**	6	3.46	0.005**
<b>3,6-anhydrogalactose</b>						
A	1	189.58	0.000**	1	52.44	0.000**
B	8	23.16	0.000**	6	1.61	0.153ns
A × B	8	10.73	0.000**	6	5.57	0.000**
<b>Sulfate content</b>						
A	1	1.68	0.197ns	1	5.67	0.020*
B	8	47.40	0.000**	6	6.72	0.000**
A × B	8	5.77	0.000**	6	2.67	0.021*

\*\* Highly significant ( $P < 0.01$ ), \* significant ( $P < 0.05$ ), ns = not significant.

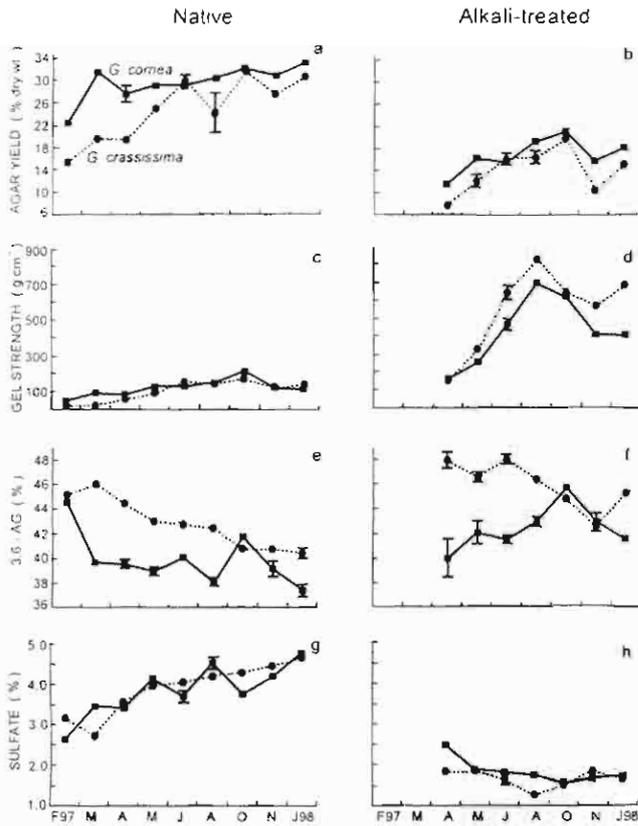


Figure 5. Agar yield (% dry weight), gel strength ( $\text{g cm}^{-2}$ ) of 10% agar solution, 3,6-anhydrogalactose content (%) and sulfate content (%) of native and alkali-treated agar from *Gracilaria cornea* (filled squares) and *G. crassissima* (filled circles). Mean values  $\pm$  standard error of pooled agar determination of two reproductive categories.

Figura 5. Rendimiento de agar (% de peso seco), fuerza de gel ( $\text{g cm}^{-2}$ ) de agar 1.0%, y contenido de 3,6-anhidrogalactosa (%) y sulfatos (%) de agar nativo y con tratamiento alcalino de *Gracilaria cornea* (cuadrados) y *G. crassissima* (círculos). Valores promedio  $\pm$  error estándar de determinaciones agrupadas en cada especie del agar de dos fases reproductivas.

## Discussion

### Agar yield

In the following paragraphs, agar properties are discussed separately, when possible. Our results on native (20.8–34.6%) and alkali-treated (10.1–21.2%) AY from *G. cornea* (20.8–34.6%) were comparable to the ranges of native (17.6–42.1%) and alkali-treated (14.5–31.6%) values of AY reported by other authors (Humm and Williams, 1948; Díaz-Piferrer and Caballer-de-Pérez, 1964; Hong *et al.*, 1969; Rincónes-León, 1990; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997b; Marinho-Soriano *et al.*, 2001). However, those values are much lower than the 50.2%, 52.0% and 75.7% values of AY reported by Díaz-Piferrer and Caballer-de-Pérez (1964), Durairatnam (1980) and Garza-Barrientos and González-Alanis (1981), respectively. The 50.2% and 52.0% AY figures

## Discusión

### Rendimiento de agar

Las propiedades del agar se discutieron por separado, cuando fue posible. Nuestros resultados de RA nativo (20.8–34.6%) y con tratamiento alcalino (10.1–21.2%) de *G. cornea* fueron comparables a los rangos de valores (17.6–42.1% y 14.5–31.6%, respectivamente) reportados por otros autores (Humm y Williams, 1948; Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez, 1964; Hong *et al.*, 1969; Rincónes-León, 1990; Freile-Pelegrín y Robledo, 1997b; Marinho-Soriano *et al.*, 2001). Sin embargo, estos valores son mucho menores que los valores de RA reportados por Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964), Durairatnam (1980) y Garza-Barrientos y González-Alanis (1981), de 50.2%, 52.0% y 75.7%, respectivamente. Los dos primeros valores se obtuvieron de plantas que se enjuagaron y secaron repetidamente antes de la extracción. El último valor (75.7%) parece ser irregular, puesto que las otras mediciones difieren mucho de ese valor solitario. Los valores medios de RA nativo de plantas de *G. crassissima* obtenidos en nuestro estudio (13.2–35.7%) fueron comparables a los valores (28.2–44.6%) registrados por Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964) y Lahaye *et al.* (1988).

Las correlaciones positivas significativas que se encontraron en este estudio entre RA y S, a niveles intraespecífico e interespecífico de agar nativo y con tratamiento alcalino fueron similares al estudio de Friedlander (1991). En cuatro ocasiones se encontraron correlaciones positivas entre RA y S, a niveles intraespecífico e interespecífico, similar a lo reportado por Sasikumar *et al.* (1997). Sin embargo, también se encontró una correlación negativa significativa entre las dos últimas características del agar a nivel interespecífico (tabla 5).

### Fuerza de gel

Los registros de FG del agar 1.5% nativo (13–130  $\text{g cm}^{-2}$ ) y algunos del agar con tratamiento alcalino (335–447  $\text{g cm}^{-2}$ ) de *G. cornea* encontrados por otros autores (Humm y Williams, 1948; Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez, 1964; Hong *et al.*, 1969; Durairatnam, 1980; Rincónes-León, 1990; Freile-Pelegrín y Robledo, 1997a) se encuentran dentro del rango o son menores a nuestros resultados de FG del agar 1.0%, nativo (40–213  $\text{g cm}^{-2}$ ) y con tratamiento alcalino (97–722  $\text{g cm}^{-2}$ ), indicando que el agar de *G. cornea* del Caribe mexicano es más resistente. Además, Freile-Pelegrín y Robledo (1997a, 1997b) reportaron valores máximos de FG del agar 1.5% de 1653 y 1758  $\text{g cm}^{-2}$ , respectivamente, los cuales son mayores que el valor máximo medio registrado en el presente estudio, para el agar 1.5% (1020  $\text{g cm}^{-2}$ ). Freile-Pelegrín y Robledo (1997a) también encontraron valores más altos de RA (35.6–42.1%) que los nuestros. Su sitio de trabajo y el nuestro se encuentran en la Península de Yucatán, pero uno en el litoral del Golfo de México y el otro en el del Caribe, respectivamente. Las aguas frías de surgencia, ricas en nutrientes, en

**Table 4.** Correlation coefficient matrix of the native (top diagonal) and alkali-treated (bottom diagonal) agar yield, gel strength (GS), 3,6-anhydrogalactose content (3,6-AG) and sulfate content (SO<sub>4</sub>) from carposporic and undetermined reproductive category plants of *Gracilaria cornea* and *G. crassissima*.

**Tabla 4.** Matriz de coeficientes de correlación entre el rendimiento, fuerza de gel (GS), y contenido de 3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG) y sulfatos (SO<sub>4</sub>) de agar nativo (diagonal superior) y con tratamiento alcalino (diagonal inferior), de plantas carpospóricas y categoría reproductiva indeterminada de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*.

	Carposporic				Undetermined			
	Yield	GS	3,6-AG	SO <sub>4</sub>	Yield	GS	3,6-AG	SO <sub>4</sub>
<i>Gracilaria cornea</i>								
Yield	–	0.20	–0.80*	0.40	–	0.78*	–0.61	0.84**
GS	0.78	–	–0.49	0.85*	0.90**	–	–0.27	0.45
3,6-AG	–0.88*	–0.85	–	–0.63	0.32	0.64	–	–0.66
SO <sub>4</sub>	–0.71	–0.88*	0.91*	–	–0.64	–0.65	–0.37	–
<i>Gracilaria crassissima</i>								
Yield	–	–0.01	0.53	–0.81	–	0.83**	–0.85**	0.81**
GS	0.11	–	–0.85	0.59	0.85*	–	–0.86**	0.83**
3,6-AG	0.61	0.86	–	–0.93	–0.34	–0.61	–	–0.98**
SO <sub>4</sub>	–0.40	–0.95	–0.97	–	–0.65	–0.65	0.48	–

\*\* Highly significant ( $P < 0.01$ ), \* significant ( $P < 0.05$ ).

ere obtained when plant material was repeatedly rinsed and ed prior to extraction. The latter value (75.7%) seems regular since the other measurements differ greatly from this itary value. Mean values of AY from native *G. crassissima* ants obtained in our study (13.2–35.7%) were comparable to e values (28.2–44.6%) registered by Díaz-Piferrer and aballer-de-Pérez (1964) and Lahaye *et al.* (1988).

Significant positive correlations found in this study between AY and GS at the intraspecific and interspecific levels in native and alkali-treated agar were similar to the results of edlander (1991). On four occasions, AY and S were also sitively correlated at the intraspecific and interspecific evels, similar to that reported by Sasikumar *et al.* (1997). owever, in contrast, a significant negative correlation was o found between the last two agar properties at the inter- ectic level (table 5).

**Gel strength**

Gel strength records for native (13–130 g cm<sup>-2</sup>) and some ali-treated (335–447 g cm<sup>-2</sup>) 1.5% agar solutions from *G. cornea* found by other authors (Humm and Williams, 1948; az-Piferrer and Caballer-de-Pérez, 1964; Hong *et al.*, 1969; airatnam, 1980; Rincones-León, 1990; Freile-Pelegriñ and bleo, 1997a), are within the range or lower than our % agar solution, native (40–213 g cm<sup>-2</sup>) and alkali-treated (7–722 g cm<sup>-2</sup>), indicating that agar from *G. cornea* from the exican Caribbean is stronger. In addition, using 1.5% agar utions, Freile-Pelegriñ and Robledo (1997a, 1997b) rted maximum mean GS values of 1653 and 1758 g cm<sup>-2</sup>,

el litoral del Golfo de México de la península (Merino, 1997) pueden incrementar el nitrógeno en el tejido de *G. cornea*, con un concomitante incremento en la FG del agar (Patwary y van der Meer, 1983a; Craigie *et al.*, 1984; Bird, 1988; Martínez y Buschmann, 1996). Por el contrario, las aguas relativamente más cálidas en el litoral del Caribe de la península pudieron causar en el agar de las plantas de nuestro sitio de estudio una disminución en la FG (Craigie y Wen, 1984) y en el RA (Christiaen *et al.*, 1987; Bird, 1988; Castro, 1996).

Díaz-Piferrer y Caballer-de-Pérez (1964) reportaron valores de FG de *G. crassissima* comparables (103–132 g cm<sup>-2</sup>) a nuestros resultados para el agar 1.0% (22–185 g cm<sup>-2</sup>). También registramos valores medios de FG del agar 1.5% de *G. crassissima* entre 1266 y 1281 g cm<sup>-2</sup>, los cuales son mayores ( $P < 0.006$ ) que el valor medio (1020 g cm<sup>-2</sup>) obtenido para *G. cornea*. Lahaye *et al.* (1988) mencionaron que la FG de *G. crassissima*, que midieron en N cm<sup>-2</sup>, era comparable o mejor que la del agar comercial o agarosa. De esta manera, los valores de FG encontrados en este estudio indican que las dos especies de *Gracilaria* son una fuente potencial de agar para uso comercial.

En dos ocasiones se encontró una correlación negativa común entre FG y S (Yaphe y Duckworth, 1972) a niveles intraespecífico e interespecífico. Sin embargo, también se encontraron correlaciones positivas entre esas propiedades del agar en tres ocasiones, de manera similar a lo reportado por Bird *et al.* (1981) y Castro (1996). Al igual que Bird *et al.* (1981), nosotros también encontramos correlaciones negativas entre FG y AG para *G. crassissima*.

respectively. These values are higher than the mean maximum value recorded in the present study for 1.5% solutions (1020 g cm<sup>-2</sup>). Freile-Pelegrin and Robledo (1997a) also found higher native AY values (35.6–42.1%) than we did. Both studies were carried out in the Yucatan peninsula, but on the Gulf of Mexico and the Caribbean sides, respectively. Upwelled cold and nutrient-rich waters on the Gulf of Mexico side of the peninsula (Merino, 1997) could have increased tissue nitrogen of *G. cornea* with concomitant higher agar GS (Patwary and van der Meer, 1983a; Craigie *et al.*, 1984; Bird, 1988; Martínez and Buschmann, 1996). Conversely, relatively warmer waters along the Caribbean side of the peninsula could have caused lower agar GS (Craigie and Wen, 1984), as well as lower AY (Christiaen *et al.*, 1987; Bird, 1988; Castro, 1996) values for the plants of our study site.

Díaz-Piferrer and Caballer-de-Pérez (1964) reported GS values from native agar of *G. crassissima* comparable (103–132 g cm<sup>-2</sup>) to that of our 1.0% agar gel (22–185 g cm<sup>-2</sup>). Also, we registered mean GS values for 1.5% agar solutions of *G. crassissima* between 1266 and 1281 g cm<sup>-2</sup>, which are higher ( $P < 0.006$ ) than the mean value (1020 g cm<sup>-2</sup>) obtained for *G. cornea*. Lahaye *et al.* (1988) mentioned that the GS of *G. crassissima* they measured (in N cm<sup>-2</sup>) was comparable or better than that of commercial agar or agarose. Thus, the GS values reported herein indicate that the two species are a potential source for commercial use.

A common negative correlation between GS and S (Yaphe and Duckworth, 1972) was found twice in this study at the

### Contenido de 3,6-anhidrogalactosa y sulfatos

Los rangos de los registros de contenido de AG (Hong *et al.*, 1969; Garza-Barrientos y González-Alanis, 1981; Freile-Pelegrin y Robledo, 1997a) del agar nativo (31.6–40.0%) y con tratamiento alcalino (32.6–47.3%), al igual que el S del agar nativo (2.9–5.5%) y del alcalino (1.2–4.25%) de *G. cornea*, son comparables a nuestros resultados (AG de 36.6–44.7% y 39.2–45.9%, y S de 2.6–5.2% y 1.4–2.8%, para agar nativo y con tratamiento alcalino, respectivamente). Sin embargo, registramos uno de los valores más altos de S, de agar nativo (5.2%), conocido para especies tropicales de Gracilariaceae (entre 1.5% y 5.5%; Sasikumar *et al.*, 1997, y Freile-Pelegrin y Robledo, 1997a, respectivamente). Oyieke (1994) sugirió que el agar de especies de Gracilariaceae tropicales generalmente contenía más S que el de las especies de aguas templadas. Esta hipótesis no se sostiene para el agar nativo, del cual se ha medido uno de los valores mayores de S (10.0%) en una especie templada (Whyte *et al.*, 1981). Por su parte, Rebello *et al.* (1997) infirieron que la FG del agar de especies de Gracilariaceae tropicales sería menor que la de especies templadas. Sin embargo, especies tropicales particulares pueden tener agar con FG mayores que especies templadas particulares. Por ejemplo, uno de los valores más altos de FG del agar alcalino de una especie tropical (1758 g cm<sup>-2</sup>), reportado por Freile-Pelegrin y Robledo (1997b), no fue alcanzado por el agar extraído de especies templadas (Abbott, 1980; Christeller y Laing, 1989; Matsuhira y Urzúa, 1990; Martínez y Buschmann, 1996).

La falta de patrones consistentes y las correlaciones contrastantes encontradas en este estudio entre las propiedades del agar nativo y del alcalino a niveles intraespecífico e interespecífico no tienen explicaciones sencillas (Bird *et al.*, 1981; Ekman y Pedersen, 1990) y están fuera de los objetivos de este estudio.

### Diferencias intraespecíficas de agar

El agar nativo y el sujeto a tratamiento alcalino de plantas carpospóricas vs. plantas de CRI de *G. cornea* y *G. crassissima* fueron significativamente diferentes en RA, FG y S. El contenido de AG del agar nativo de ambas categorías reproductivas de *G. crassissima* también fue diferente. Sin considerar que las plantas de CRI están compuestas principalmente de plantas tetraspóricas, nuestros resultados indican claramente que las propiedades del agar de las plantas carpospóricas fueron diferentes a las del resto de las fases reproductivas. Así, existieron diferencias intraespecíficas en el agar de *G. cornea* y en el de *G. crassissima*. Sin embargo, las diferencias en la segunda especie deben tomarse con precaución, ya que se basaron sólo en comparaciones de tres pares de valores medios. En la mayoría de los factores existieron interacciones significativas, indicando que las diferencias se debieron a ciclos desacoplados en las propiedades del agar, más que a los rangos de valores. En otras palabras, los rangos de valores en las propiedades del agar de ambas categorías reproductivas fueron equivalentes,

**Table 5.** Correlation coefficient matrix of the native (top diagonal) and alkali-treated (bottom diagonal) agar yield, gel strength (GS), 3,6-anhydrogalactose content (3,6-AG) and sulfate content (SO<sub>4</sub>) of *Gracilaria cornea* and *G. crassissima*. The two reproductive categories recognized in this study were analyzed together.

**Tabla 5.** Matriz de coeficientes de correlación entre el rendimiento, fuerza de gel (GS), y contenido de 3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG) y sulfatos (SO<sub>4</sub>) de agar nativo (diagonal superior) y con tratamiento alcalino (diagonal inferior) de *Gracilaria cornea* y *G. crassissima*. Las dos categorías reproductivas reconocidas en este estudio se analizaron en conjunto.

	Yield	GS	3,6-AG	SO <sub>4</sub>
<i>Gracilaria cornea</i>				
Yield	–	0.67	–0.71*	0.76*
GS	0.84*	–	–0.25	0.51
3,6-AG	0.85*	0.73	–	–0.87**
SO <sub>4</sub>	–0.86*	–0.74	–0.76*	–
<i>Gracilaria crassissima</i>				
Yield	–	0.93**	–0.88**	0.84**
GS	0.77*	–	–0.87**	0.87**
3,6-AG	–0.08	–0.34	–	–0.97**
SO <sub>4</sub>	–0.71	–0.79*	–0.07	–

\*\* Highly significant ( $P < 0.01$ ), \* significant ( $P < 0.05$ ).

raspecific and interspecific levels. However, positive relations between those agar properties were also found on three occasions, as also reported by Bird *et al.* (1981) and Castro (1996). Like Bird *et al.* (1981), we also found negative relations between GS and AG for *G. crassissima*.

#### 5-anhydrogalactose and sulfate content

Ranges of recorded AG (Hong *et al.*, 1969; Garzarrientos and González-Alanís, 1981; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997a) from native (31.6–40.0%) and alkali-treated (2.6–47.3%) agar, as well as S from native (2.9–5.5%) and alkali-treated (1.2–4.25%) agar of *G. cornea*, are comparable to our results (AG of 36.6–44.7% and 39.2–45.9%, and S of 5–5.2% and 1.4–2.8%, for native and alkali-treated agar, respectively). Nonetheless, we measured one of the highest S values from native agar (5.2%) known for a tropical species of Gracilariaceae (ranging from 1.5% to 5.5%; Sasikumar *et al.*, 1997, and Freile-Pelegrín and Robledo, 1997a, respectively). Wieke (1994) suggested that agar from tropical Gracilariaceae generally contained more sulfates than species from temperate waters. This hypothesis was not supported for native agar, for which one of the largest values of S (10.0%) has been measured for a temperate species (Whyte *et al.*, 1981). Rebello *et al.* (1997) inferred that agar GS from tropical Gracilariaceae could be lower than those from temperate species. However, particular tropical species may contain stronger agar gels than particular temperate ones. Thus, one of the largest GS values for alkali-treated agar from a tropical species (1758 g cm<sup>-2</sup>), reported by Freile-Pelegrín and Robledo (1997b), was not equaled by agars extracted from temperate species (Abbott, 1980; Christeller and Laing, 1989; Matsuihiro and Urzúa, 1990; Martínez and Buschmann, 1996).

The lack of consistent patterns and the contrasting correlations found in the present study within the native and alkali-treated agar properties at the intraspecific and interspecific levels have no simple explanations (Bird *et al.*, 1981; Ekman and Pedersen, 1990) and are beyond the aims of this study.

#### Intraspecific agar differences

Native and alkali-treated agar of carposporic vs URC plants of *G. cornea* and *G. crassissima* were significantly different in AY, GS and S. Native AG was also different between reproductive category plants of *G. crassissima*. Despite the fact that URC plants were mainly composed of tetrasporic plants, our results clearly indicate that the agar properties from carposporic plants were different from the rest of the reproductive phases. Thus, intraspecific agar differences existed within *G. cornea* and *G. crassissima*. The difference for the second species must be taken with caution since it was based only on three pairs of mean value comparisons. Significant interactions existed in most factors, indicating that the differences were more a matter of uncoupled cycles in agar properties rather than in the range values. In other words, range values of agar properties of both reproductive categories were equivalent, but

pero sus valores menores y mayores no coincidieron necesariamente. Estos resultados son similares a los de Whyte *et al.* (1981), quienes reportaron diferencias en las características del agar entre fases reproductivas, las cuales dependieron de fluctuaciones estacionales, no en los valores absolutos. También se encontraron diferencias intraespecíficas en crecimiento y biomasa en *G. cornea* y *G. crassissima* (datos no publicados), lo mismo que en otras especies de Gracilariaceae (Whyte *et al.*, 1981; Pickering *et al.*, 1990; Gerung *et al.*, 1997). De esa manera, las diferencias en la biología propia del nivel intraespecífico pudieron originar diferencias en las propiedades del agar a ese nivel.

Nuestros resultados indican que no es apropiado atribuir valores mayores o menores de todas las propiedades del agar a una fase reproductiva particular. Por ejemplo, las plantas carpospóricas de una especie de Gracilariaceae pueden tener contenido de S mayor (fig. 3g) o menor (Marinho-Soriano *et al.*, 1999), mientras que las plantas tetraspóricas pueden tener agar con FG mayor (Kim y Henríquez, 1979) o igual (Pickering *et al.*, 1990) que otras fases reproductivas. También, el número de propiedades del agar que es diferente entre fases nucleares depende de la especie. Por ejemplo, algunas especies presentan diferencias en RA y/o FG (tablas 1, 2), mientras que otras no las presentan (Yao *et al.*, 1984; Marinho-Soriano *et al.*, 1999). En consecuencia, no existe un patrón general aparente en cuanto a las diferencias en las propiedades del agar entre fases reproductivas de especies Gracilariaceae.

El potencial de uso comercial de las fases reproductivas de especies Gracilariaceae, dependiendo de las propiedades de su agar, es muy limitado: cuando se han reportado diferencias, los rangos de valores son comparables. En mutantes, se han obtenido diferencias mayores que las registradas entre fases reproductivas. Los valores de FG para el agar nativo y el alcalino del mutante MP40 fueron un orden de magnitud mayores que los de otros mutantes y tipos silvestres de *Gracilaria tikvahiae* (Patwary y van der Meer, 1983b). Por ello, hasta ahora el beneficio comercial de las diferencias de agar puede busearse más bien examinando especies diferentes o mutantes, que entre fases reproductivas de especies Gracilariaceae. Por otro lado, las diferencias en las mediciones de agar (y biológicas) entre fases reproductivas, cuando se presenten, pueden tener una relevancia más ecológica que económica.

#### Diferencias interespecíficas de agar

*Gracilaria cornea* y *G. crassissima* tuvieron diferencias significativas en RA, FG y AG en su agar nativo y con tratamiento alcalino. También el contenido de S de agar alcalino fue diferente entre las dos especies. Diferencias interespecíficas similares en características del agar se han reportado entre otras especies Gracilariaceae coexistentes (Pondevida y Hurtado-Ponce, 1996; Falshaw *et al.*, 1999). Como ya se mencionó, las dos especies de *Gracilaria* incluidas en este trabajo igualmente presentaron diferencias en aspectos fenológicos y ecológicos (Espinoza-Avalos, no publicado). De manera

their low and high values were not necessarily coincident. These findings are similar to those of Whyte *et al.* (1981), who reported differences in agar properties between life stages depending upon seasonal fluctuations, but not in absolute values. Growth and biomass differences at the intraspecific level have been found between *G. cornea* and *G. crassissima* (data not shown), as has also been found for several species of Gracilariaceae (Whyte *et al.*, 1981; Pickering *et al.*, 1990; Gerung *et al.*, 1997). Thus, differences in underlying biology at the intraspecific level may have lead to inequalities in agar properties at this level.

Our results indicate that it is not appropriate to attribute generally higher or lower values for all agar properties of a particular reproductive stage. For example, carposporic plants of a given Gracilariaceae species may have higher (Fig. 3g) or lower S (Marinho-Soriano *et al.*, 1999), while tetrasporic plants may have harder (Kim and Henríquez, 1979) or equal strength (Pickering *et al.*, 1990) agar gels than other life stages. Also, the number of agar properties that is different between nuclear phases depends on the particular species. For example, some species present differences in AY and/or GS (tables 1, 2), but not other species (Yao *et al.*, 1984; Marinho-Soriano *et al.*, 1999). Thus, no general pattern is apparent for agar property differences between reproductive stages of Gracilariaceae species.

The potential for economic use of different reproductive stages of Gracilariaceae species depending on its agar properties is very limited. When differences have been reported, range values have been comparable. Larger differences than those registered between reproductive phases have been obtained from particular mutants. Values from both native and alkali-treated agar GS from the MP40 mutant were one order of magnitude greater than those from other mutants and wild types of *G. tikvahiae* (Patwary and van der Meer, 1983b). Therefore, up to now, commercially meaningful agar differences can better be researched by examining different species or various mutants rather than within the various reproductive stages of Gracilariaceae. Thus, differences in agar (and biological) measurements between reproductive phases, when present, may have more ecological than economic relevance.

#### Interspecific agar differences

Native and alkali-treated agar of *G. cornea* and *G. crassissima* were significantly different in AY, GS and AG. Sulfate in alkali-treated agar was also different between the two species. Similar interspecific differences in agar characteristics have also been reported for other coexisting Gracilariaceae species (Pondevida and Hurtado-Ponce, 1996; Falshaw *et al.*, 1999). As mentioned above, the two *Gracilaria* species included in this study also exhibited differences in phenological and ecological aspects (Espinoza-Avalos, unpublished). Similarly, Marinho-Soriano *et al.* (1998) reported different phenologies for two coexisting Gracilariaceae species from the Mediterranean. Thus, biological differences reflect unequal

similar, Marinho-Soriano *et al.* (1998) reportaron diferencias fenológicas de dos especies de Gracilariaceae coexistentes en el Mediterráneo. De esta manera, diferencias biológicas reflejan respuestas fisiológicas desiguales, las que pueden ayudar a explicar las divergencias en la cantidad y calidad del agar entre ambas especies de *Gracilaria* medidas aquí. Bengtsson *et al.* (1994) sugirieron que las diferencias fenológicas entre especies de plantas terrestres pudieran explicar su habilidad de coexistir en simpatria (Huntly *et al.*, 1996; Pickering *et al.*, 1996). Esta hipótesis se ha fortalecido con especies de plantas congénicas terrestres (Pyke, 1990; Shibata y Nakashizuka, 1995). Así, las dos especies congénicas de *Gracilaria* analizadas aquí pueden coexistir debido a sus respuestas fenológicas y ecológicas diferentes al ambiente de Bajo Pepito. Eventualmente, esas diferencias fenológicas se registran como diferencias en las propiedades del agar, ambas a nivel interespecífico e intraespecífico. Se concluye que las divergencias en las propiedades del agar entre *G. cornea* y *G. crassissima* son consecuencia de divergencias biológicas entre los dos taxones.

#### Agradecimientos

Agradecemos a M.A. Díaz-Martín, L.I. Quan-Young y R.A. Herrera-Solís su ayuda en el trabajo de campo, y a H. Bahena-Basave por proporcionar el fotomontaje. Isai Pacheco-Ruiz, Alberto Gálvez y José Guzmán brindaron su hospitalidad a uno de nosotros (J.E.A.) en su estancia en Ensenada, Baja California. Oscar Pedrín-Osuna facilitó la participación de E.H.G. Un agradecimiento especial a Scott Monks por sus valiosos comentarios a dos versiones preliminares del manuscrito y por su revisión del inglés. Este trabajo forma parte de los requisitos doctorales de J.E.A. en la Universidad Autónoma Metropolitana. El estudio fue posible gracias al apoyo financiero de CONACYT, a través del proyecto 0418P-T.

Traducido al español por los autores.

physiological responses, which may explain the divergences in quantity and quality of agar between both species of *Gracilaria* measured herein. Bengtsson *et al.* (1994) suggested that different phenological and demographic processes between terrestrial plant species could explain their ability to coexist in sympatry (Huntly *et al.*, 1996; Pickering *et al.*, 1996). This hypothesis has been supported for some congeneric terrestrial plant species (Pyke, 1990; Shibata and Nakashizuka, 1995). Thus, the two congeneric species of *Gracilaria* examined herein may be able to coexist because of species-specific differences in phenological and ecological responses to the environment at Bajo Pepito. In turn, those phenological differences are registered as differences in agar properties, both at the interspecific and the intraspecific level. We conclude that divergences in agar properties between *G. cornea* and *G. crassissima* are a consequence of biological divergence of the two taxa.

## acknowledgements

We thank M.A. Díaz-Martín, L.F. Quan-Young and R.A. Herrera-Solís for their help with the field work, and H. Ahena-Basave for providing the photomontage. Isai Pacheco-Aiz, Alberto Gálvez and José Guzmán provided warm hospitality to one of us (J.E.A.) while staying at Ensenada Baja California. Oscar Pedrín-Osuna facilitated the participation of E.H.G. Very special thanks to Scott Monks for his valuable comments on two drafts of the manuscript and for correcting the English. This work is part of a Ph.D. thesis (J.E.A.) at the Universidad Autónoma Metropolitana. This study was made possible with financial support from CONACYT, project 0418P-T.

## References

- Abbott, I.A. (1980). Some field and laboratory studies on colloid-producing red algae in central California. *Aquat. Bot.*, 8: 255–266.
- Arntsen, R. and Galatas, F. (1987). Production, properties and uses of agar. *FAO Fish. Tech. Paper*, 288: 1–57.
- Arntsen, J., Fagerström, T. and Rydin, H. (1994). Competition and coexistence in plant communities. *TREE*, 9: 246–250.
- Arndt, C.J., de Oliveira, E.C. and McLachlan, J. (1986). *Gracilaria cornea*, the correct name for the western Atlantic alga hitherto known as *G. debilis* (Rhodophyta, Gigartinales). *Can. J. Bot.*, 64: 2045–2051.
- Arndt, K.T. (1988). Agar production and quality from *Gracilaria* sp. strain G-16: Effects of environmental factors. *Bot. Mar.*, 31: 33–39.
- Arndt, K.T., Hanisak, M.D. and Ryther, J. (1981). Chemical quality and production of agars extracted from *Gracilaria tikvahiae* grown in different nitrogen enrichment conditions. *Bot. Mar.*, 24: 441–444.
- Arriaga-L., L. and Lemus-C., A.J. (1996). Rendimiento y consistencia del agar de *Gracilaria damaecornis* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta). *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente*, 35: 57–62.
- Arriaga-L., T.R. (1996). Agar yield, gel strength and sulfate content in *Gracilariaopsis heteroclada* farmed in brackishwater canals. *Israeli J. Aquacul. Bamidgeh*, 48: 94–98.
- Arpman, V.J. (1963). The marine algae of Jamaica. Part 2. Phaeophyceae and Rhodophyceae. *Bull. Inst. Jamaica*, 12: 1–201.
- Arriaga-L., J.T. and Laing, W.A. (1989). The effect of environment on the agar yield and gel characteristics of *Gracilaria sordida* Nelson (Rhodophyta). *Bot. Mar.*, 32: 447–455.
- Arriaga-L., D., Stadler, T., Ondarza, M. and Verdus, M.C. (1987). Structures and functions of the polysaccharides from the cell wall of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales). *Hydrobiologia*, 151/152: 139–146.
- Arriaga-L., J.S. and Leigh, C. (1978). Carrageenans and agars. In: J.A. Hellebust and J.S. Craigie (eds.), *Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge Univ. Press, London, pp. 109–131.
- Arriaga-L., J.S. and Wen, Z.C. (1984). Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Can. J. Bot.*, 62: 1665–1670.
- Arriaga-L., J.S., Wen, Z.C. and van der Meer, J.P. (1984). Interspecific, intraspecific and nutritionally-determined variations in the composition of agars from *Gracilaria* spp. *Bot. Mar.*, 27: 55–61.
- Díaz-Martín, M.A. and Espinoza-Avalos, J. (2000). Distribution of brown seaweeds (Phaeophyta) in the Yucatán peninsula, Mexico. *Bull. Mar. Sci.*, 66: 279–289.
- Díaz-Piferrer, M. (1964). Adiciones a la flora marina de Cuba. *Carib J. Sci.*, 4: 353–371.
- Díaz-Piferrer, M. and Caballer-de-Pérez, C. (1964). *Taxonomía, Ecología y Valor Nutricional de Algas Marinas de Puerto Rico*. Inst. Biol. Mar., CAAM, Univ. Puerto Rico, Mayaguez, Puerto Rico, 145 pp.
- Durairatnam, M. (1980). Studies on the agar producing seaweeds and their distribution in northeast Brazil. *Cienc. Cult. (Brazil)*, 32: 1358–1372.
- Durairatnam, M. and Nascimento, H.C. (1985). Agar-agar from vegetative, cystocarpic and tetrasporic plants of *Gracilaria soestedi* Kylin and *Gracilaria cylindrica* Boergesen. *Seaweed Res. Utiln.*, 8: 19–22.
- Ekman, P. and Pedersen, M. (1990). The influence of photon irradiance, day length, dark treatment, temperature, and growth rate on the agar composition of *Gracilaria sordida* W. Nelson and *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Gigartinales, Rhodophyta). *Bot. Mar.*, 33: 483–495.
- Falshaw, R., Fumeaux, R.H., Pickering, T.D. and Stevenson, D.E. (1999). Agars from three Fijian *Gracilaria* species. *Bot. Mar.*, 42: 51–59.
- Frederico, S. and Norris, J.N. (1985). Morphological studies on some tropical species of *Gracilaria* Grev. (Gracilariaceae, Rhodophyta). Taxonomic concepts based on reproductive morphology. *Taxon. Econ. Seaweeds*, 1: 137–155.
- Freile-Pelegrín, Y. and Robledo, D. (1997a). Effects of season on the agar content and chemical characteristics of *Gracilaria cornea* from Yucatán, Mexico. *Bot. Mar.*, 40: 285–290.
- Freile-Pelegrín, Y. and Robledo, D. (1997b). Influence of alkali treatment on agar from *Gracilaria cornea* from Yucatán, Mexico. *J. Appl. Phycol.*, 9: 533–539.
- Friedlander, M. (1991). Growth rate, epiphyte biomass and agar yield of *Gracilaria conferta* in an annual outdoor experiment. I. Irradiance and nitrogen. *Biores. Tech.*, 38: 203–208.
- Garza-Barrientos, M.A. y González-Alanís, R. (1981). Agar procesado de la planta agarofita *Gracilaria debilis* (Forsskål) Boergesen, de Yucatán, México. VII Simposio Latinoamericano de Oceanografía Biológica. Instituto de Biología, UNAM, México, p. 87.
- Gerung, G.S., Kamura, S. and Ohno, M. (1997). Phenology and agar yield of *Gracilaria blodgettii* in the tropical water, Okinawa, Japan. *Bull. Mar. Sci. Fish., Koehi Univ.*, 17: 23–28.
- Hong, K.C., Goldstein, M.E. and Yaphe, W. (1969). A chemical and enzymic analysis of the polysaccharides from *Gracilaria*. *Int. Seaweed Symp.*, 6: 473–482.
- Hoyle, M.D. (1978). Agar studies in two *Gracilaria* species (*G. bursapastoris* (Gmelin) Silva and *G. coronopifolia* J. Ag.) from Hawaii. I. Yield and gel strength in the gametophyte and tetrasporophyte generations. *Bot. Mar.*, 21: 343–345.
- Humm, H.J. and Williams, L.G. (1948). A study of agar from two Brazilian seaweeds. *Am. J. Bot.*, 35: 287–292.
- Huntly, N., Chesson, P. and Pickering, C.M. (1996). Germination phenology and the coexistence of desert annual plants. *Bull. Ecol. Soc. Am.*, 77: 209.
- Kim, D.H. and Henríquez, N.P. (1979). Yields and gel strengths of agar from cystocarpic and tetrasporic plants of *Gracilaria verrucosa* (Florideophyceae). *Int. Seaweed Symp.*, 9: 257–262.
- Lahaye, M., Revol, J.F., Rochas, C., McLachlan, J. and Yaphe, W. (1988). The chemical structure of *Gracilaria crassissima* (P. et H. Crouan in Schramm et Mazé) P. et H. Crouan in Schramm et Mazé

- and *G. tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) cell-wall polysaccharides. *Bot. Mar.*, 31: 491–501.
- Littler, D.S. and Littler, M.M. (1997). An illustrated marine flora of the Pelican Cays, Belize. *Bull. Biol. Soc. Wash.*, 9: 1–149.
- Littler, D.S., Littler, M.M., Bucher, K.E. and Norris, J.N. (1989). Marine Plants of the Caribbean. A Field Guide from Florida to Brazil. Airlife, England, 263 pp.
- Marinho-Soriano, E., Laugier, T. and de Casabianca, M.L. (1998). Reproductive strategy of two *Gracilaria* species, *G. bursa-pastoris* and *G. gracilis*, in a Mediterranean lagoon (Thau, France). *Bot. Mar.*, 41: 559–564.
- Marinho-Soriano, E., Bourret, E., de Casabianca, M.L. and Maury, L. (1999). Agar from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria bursa-pastoris*. *Biores. Technol.*, 67: 1–5.
- Marinho-Soriano, E., Silva, T.S.F. and Moreira, W.S.C. (2001). Seasonal variation in the biomass and agar yield from *Gracilaria cervicornis* and *Hydroputnia cornea* from Brazil. *Biores. Technol.*, 717: 115–120.
- Martínez, L.A. and Buschmann, A.H. (1996). Agar yield and quality of *Gracilaria chilensis* (Gigartinales, Rhodophyta) in tank culture using fish effluents. *Hydrobiologia*, 326/327: 341–345.
- Matsuhiro, B. and Urzúa, C.C. (1990). Agars from *Gelidium rex* (Gelidiales, Rhodophyta). *Hydrobiologia*, 204/205: 545–549.
- McLachlan, J. and Bird, C.J. (1986). *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. *Aquat. Bot.*, 26: 27–49.
- Merino, M. (1997). Upwelling on the Yucatan Shelf: Hydrographic evidence. *J. Mar. Syst.*, 13: 101–121.
- Merino-Ibarra, M. (1992). Afloramiento en la plataforma de Yucatán: Estructura y fertilización. Tesis de doctorado, UNAM, Inst. Cien. Mar Limnol., México, 255 pp.
- Miller, I.J. and Furneaux, R.H. (1987). Chemical characteristics of the galactans from the formos of *Gracilaria secundata* from New Zealand. *Bot. Mar.*, 30: 427–435.
- Minghou, J., Lahaye, M. and Yaphe, W. (1985). Structure of agar from *Gracilaria* spp. (Rhodophyta) collected in the People's Republic of China. *Bot. Mar.*, 28: 521–528.
- Norris, J.N. (1985). *Gracilaria* and *Polycavernosa* from the Caribbean and Florida: Key and list of the species of economic potential. *Taxon. Econ. Seaweeds*, 1: 101–113.
- Oyieke, H.A. (1994). The effect of phenotypic plasticity on agar from *Gracilaria salicornia* (J. Ag.) Dawson (Gracilariales, Rhodophyta) in Kenya. *Biores. Technol.*, 49: 267–271.
- Patwary, M.U. and van der Meer, J.P. (1983a). Growth experiments on morphological mutants of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Can. J. Bot.*, 61: 1654–1659.
- Patwary, M.U. and van der Meer, J.P. (1983b). Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). IX. Some properties of agars extracted from morphological mutants. *Bot. Mar.*, 26: 295–299.
- Penland, C.A. and Mathieson, A.C. (1987). Variation in chemical composition of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. *Bot. Mar.*, 30: 525–534.
- Pickering, T.D., Gordon, M.E. and Tong, L.J. (1990). Seasonal growth, density, reproductive phenology and agar quality of *Gracilaria sordida* (Gracilariales, Rhodophyta) at Mokomoko Inlet, New Zealand. *Hydrobiologia*, 204/205: 253–262.
- Pickering, C.M., Huntly, N. and Chesson, P. (1996). Variation found in the growth phenology of desert winter annual plants indicates that temporal environmental variation within a growing season contributes to species coexistence. *Bull. Ecol. Soc. Am.*, 77: 353.
- Pondevida, H.B. and Hurtado-Ponce, A.Q. (1996). Assessment of some agarophytes from the coastal areas of Iloilo, Philippines. II. Seasonal variations in the agar quality of *Gracilaria changii*, *Gracilaria manilaensis* and *Gracilariopsis bailinae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Bot. Mar.*, 39: 123–127.
- Pyke, D.A. (1990). Comparative demography of co-occurring introduced and native tussock grasses: Persistence and potential expansion. *Oecologia*, 82: 537–543.
- Rebello, J., Ohno, M., Ukeda, H. and Sawamura, M. (1997). Agar quality of commercial agarophytes from different geographical origins. I. Physical and rheological properties. *J. Appl. Phycol.*, 8: 517–521.
- Rincones-León, R.E. (1990). Experimental cultivation of an agarophyte alga: *Gracilaria cornea* in the northwest coast of Venezuela. In: E.C. Oliveira and N. Kautsky (eds.), *Cultivation of Seaweeds in Latin America*. Univ. São Paulo, Brazil, pp. 65–67.
- Roleda, M.Y., Montaño, N.E., Ganzón-Fortes, E.T. and Villanueva, R.D. (1997). Acetic acid pretreatment in agar extraction of Philippine *Gelidiella acerosa* (Forsskaal) Feldmann et Hamel (Rhodophyta, Gelidiales). *Bot. Mar.*, 40: 63–69.
- Sasikumar, C., Rao, V.N.R. and Rengasamy, R. (1997). Effect of alkali treatment of red algae *Gracilaria blodgettii* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta) on agar quality. *Ind. J. Mar. Sci.*, 26: 191–194.
- Shibata, M. and Nakashizuka, T. (1995). Seed and seedling demography of four co-occurring *Carpinus* species in a temperate deciduous forest. *Ecology*, 76: 1099–1108.
- Tabatabai, M.A. (1974). Determination of sulphate in water samples. *Sulphur Inst. J.*, 10: 11–13.
- Taylor, W.R. (1960). *Marine Algae of the Eastern Tropical and Subtropical Coast of the Americas*. Univ. Michigan Press, Ann Arbor, 870 pp.
- Whyte, J.N.C., Englar, J.R., Saunders, R.G. and Lindsay, J.C. (1981). Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria* (verrucosa type). *Bot. Mar.*, 24: 493–501.
- Yao, S.S., Xia, Z.Y., En, L.Z. and Qing, L.W. (1984). The yield and properties of agar extracted from different life stages of *Gracilaria verrucosa*. *Hydrobiologia*, 116/117: 551–553.
- Yaphe, W. and Arsenaull, G.P. (1965). Improved resorcinol reagent for the determination of fructose, and of 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides. *Anal. Biochem.*, 13: 143–148.
- Yaphe, W. and Duckworth, M. (1972). The relationship between structures and biological properties of agars. *Int. Seaweed Symp.*, 7: 15–22.