

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



DETERMINACIÓN DE CONDICIONES ÓPTIMAS PARA  
EL CULTIVO EN LABORATORIO DE TRES ESTADIOS DEL CICLO  
DE VIDA DE *Callophyllis variegata* (Bory) Kützing 1843 EN LA  
REGIÓN DE MAGALLANES

Nombre: Paula Úrsula Ocaranza Barrera

Director de Tesis: Dr. Andrés Mansilla Muñoz

Co-Director de Tesis: Marcela Ávila Lagos

2014

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



DETERMINACIÓN DE CONDICIONES ÓPTIMAS PARA EL  
CULTIVO EN LABORATORIO DE TRES ESTADIOS DEL CICLO DE  
VIDA DE *Callophyllis variegata* (Bory) Kützing 1843 EN LA REGIÓN  
DE MAGALLANES

Nombre Paula Úrsula Ocaranza Barrera

Director de Tesis: Dr. Andrés Mansilla Muñoz

Co-Director de Tesis: Marcela Ávila Lagos

2014

DETERMINACIÓN DE CONDICIONES ÓPTIMAS PARA EL CULTIVO  
EN LABORATORIO DE TRES ESTADIOS DEL CICLO DE VIDA DE  
*Callophyllis variegata* (Bory) Kützing 1843 EN LA REGIÓN DE  
MAGALLANES

Por: Paula Úrsula Ocaranza Barrera

Departamento de Ciencias y Recursos Naturales

Fecha: 2014

Orlando Dollenz Álvarez

Decano Facultad de Ciencias

Javier Díaz Ochoa

Jefe de Carrera

Aprobado por Comisión de Calificación

Andrés Mansilla Muñoz

Director de Tesis

Marcela Ávila Lagos

Co-director

Evaluador 1: Dr. Pablo Gallardo

Evaluador 2: Dra. Silvia Murcia

Evaluador 3: Msc. María Eliana Ramírez

Tesis entregada como requerimiento para obtener el Título de  
Biólogo Marino en la Facultad de Ciencias

2014

## **AGRADECIMIENTOS**

La presente tesis no podría haber visto la luz ni llegar a buen término, de no ser por el apoyo y ayuda de muchas personas desde mis compañeros de laboratorio, mis amigos, a la mi familia. Pero quisiera realizar un agradecimiento especial a Sebastián Rosenfeld por su apoyo con la estadística, a Alejandra Beattie quien intento leer y entender mis primeros borradores de tesis. A mi profesor guía el Dr. Andrés Mansilla, gracias por su paciencia y apoyo. A la insistencia de mi madre y a sus veces molestos inicios de conversación con...“y la tesis cuando la terminas, no crees que ya te has demorado mucho”. A la profesora Marcela Ávila por la posibilidad de desarrollar esta tesis en el marco del proyecto FONDEF D08I1067.

Sé que queda gente sin nombrar pero son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que les encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Para todos ellos de verdad muchas gracias.

## **DEDICATORIA**

*Esta Tesis está dedicada a mis padres Marta y Pablo quienes me apoyaron a seguir mis sueños y desarrollar lo que me gusta. A mi Tía Marina y Naqui por abrirme las puertas de su hogar, permitirme ser una más de su familia y disfrutar de tener hermanas aunque un poco pesotes pero hermanas a fin de cuentas.*

*A mi novio Guillermo Por su apoyo y cariño incondicional además de su paciencia inagotable. A sus padres Lucia y Lalo por esos almuerzos, cenas y onces porque haber tenido el placer de conocerlos fue una bendición.*

*Finalmente pero no menos importante a mi tía Sylvia (Oli) por su apoyo financiero y en muchos casos emocional.*

## 1. RESUMEN

En los últimos 20 años se ha ido diversificando notoriamente la actividad de la extracción de algas, ya sea para la elaboración de diferentes ficocoloides, como agar y carrageninas de algas rojas, como los alginatos de las algas pardas. Además, su consumo directo en gastronomía, por ejemplo *Callophyllis variegata*, especialmente cotizada en la mesa japonesa por su forma y colorido que la hacen un atractivo componente para la elaboración de platos y ensaladas. La extracción de este recurso es estacional, permitido en los meses de noviembre hasta marzo en la región de los Lagos, cuya extracción coincide con crecimiento y reproducción, convierte la sustentabilidad del recurso en improbable. Por ende, se ha demostrado en algunos trabajos que el disco de esta especie tiene una alta capacidad regeneradora. El presente estudio de tesis desarrolló tres ensayos con plantas provenientes de Punta Santa Ana en la región de Magallanes. Los cuales corresponden a: (1) un cultivo de explantes provenientes de frondas gametófitas inmaduras, otro (2) con carpósporas de frondas maduras cistocárpicas y, (3) un cultivo con esporofitos juveniles obtenidos a partir de carpósporas.

Cada uno de los experimentos se llevó a cabo por un periodo de dos meses en los cuales se realizaron mediciones semanales. Los resultados mostraron la tasa de crecimiento diario (DGR en inglés) para la zona basal del talo 0,10% y para la zona apical 0,18% bajo el fotoperiodo de invierno (8:16, luz: oscuridad) mientras que para el fotoperiodo control (12:12) las tasas fueron de 0,21 % para los explantes del talo y 0,27 y para la zona apical, sin diferencia significativas en biomasa ni en DGR. Por otra parte, en el cultivo de carpósporas se observó que en su primera fase, es decir en los primeros 30 días de cultivo donde la tasa de crecimiento fue de un 10% semanal y con una sobrevivencia de un 5% bajo un fotoperiodo de 12:12, o control. En las plantas erectas formadas a partir del día 35 aproximadamente la sobrevivencia fue de un 38% y presentó una tasa de crecimiento de un 6,8% para el

fotoperiodo de invierno (8:16), con tamaños finales de entre los 4 a 5 milímetros de largo.

En el cultivo desarrollado con hormonas, se pudo observar que la hormona AIA en su concentración de 0,5  $\mu\text{M}$  resultó en una sobrevivencia de 44%. La tasa de crecimiento fue negativa y en la formación de nuevos ápices en diferentes zonas del esporofitos observamos que el mayor número de ápices nuevo se presentó en la concentración de 5,0  $\mu\text{M}$  donde se formaron en promedio 110 ápices nuevos por esporofito. La hormona BA presento una tasa de sobrevivencia de 31% y la mayor formación de ápices fue para la concentración de 50  $\mu\text{M}$  con 107 nuevos ápices en promedio.

El desarrollo de explantes de frondas gametofitos vegetativas no presentó diferencias estadísticamente significativas. La disminución de los cortes aumenta el tamaño, y el utilizar explantes de la zona apical asegura cultivos viables en el tiempo, ya sea con un fotoperiodo de invierno o control. El cultivo de carpósporas en laboratorio mostró que para los primeros estadios es preferente usar una baja intensidad de luz con una concentración de nutrientes media (PES a 10 ml/L) y bajo un fotoperiodo control (12:12). Mientras que para la fase de planta erecta se debe cultivar bajo una intensidad de luz PAR baja, con una concentración media de nutrientes y un fotoperiodo de invierno (8:16). El regulador de crecimiento más beneficioso, el cual favoreció el desarrollo de nuevos ápices, fragmentando y dando origen a nuevos esporofitos, es la Auxina AIA en una concentración de 5,0  $\mu\text{M}$ .

Estos resultados son relevantes para la industria ficogastronómica, farmacéutica y productiva, que requieren de alternativas e innovadoras técnicas de cultivo y producción algar (recursos, temporalidad, costo-beneficio, entre otros).

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	4
DEDICATORIA.....	5
1. RESUMEN.....	5
1.1 ABSTRACT.....	8
ÍNDICE GENERAL.....	10
2. INTRODUCCIÓN.....	17
2.1 Generalidades de las algas.....	17
2.2 Explotación y desarrollo de cultivos.....	18
2.3 Cultivo de algas.....	19
2.4 Mejoras en cultivos.....	19
2.5 El género <i>Callophyllis</i> .....	21
2.6 <i>Callophyllis variegata</i> .....	22
2.7 Ciclo de vida de <i>Callophyllis variegata</i> .....	23
2.8 Antecedentes previos.....	25
3. HIPÓTESIS.....	26
3.1 Hipótesis de investigación.....	26
3.2 Hipótesis nula.....	26
4. OBJETIVOS.....	27
4.1 Objetivo generales.....	27
4.2 Objetivos específicos.....	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
5.1 Obtención de material.....	28



5.2 Preparación de material .....	29
5.3 Cultivo de explantes gametófitos vegetativos .....	30
5.3.1 Pre ensayos de fase vegetativa.....	30
5.3.2 Cultivo de explantes ensayo .....	31
5.3.3 El análisis de datos .....	33
5.4 Cultivo de Carpósporas .....	34
5.4.1 El análisis de datos .....	36
5.5 Cultivo con reguladores de crecimiento en tetrasporofitos .....	37
5.5.1 Análisis de datos.....	38
6. RESULTADOS .....	39
6.1. Cultivo de explantes vegetativos .....	39
6.2 Cultivo de carpósporas .....	42
6.2.1 Sobrevivencia del cultivo .....	42
6.2.2 Cultivo de Esporas.....	43
6.2.3 Cultivo de Plántula erecta.....	45
6.2.4 Descripción del ciclo .....	47
6.3 Cultivo con reguladores de crecimiento en tetrasporofitos .....	49
6.3.1 Sobrevivencia del cultivo .....	49
6.3.2 Desarrollo de nuevos ápices y crecimiento .....	50
7. DISCUSIÓN .....	60
7.1 Cultivo vegetativo.....	60
7.2 Cultivo de Carpósporas .....	61
7.3 Cultivo de tetrasporofitos con reguladores de crecimiento. ....	63

8. CONCLUSIONES PRELIMINARES.....	65
9. FINANCIAMIENTO.....	66
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de <i>Callophyllis variegata</i> , colectada en Punta Santa Ana, ejemplar herborizado.....	22
Figura 2. Ciclo de vida trifásico isomórfico de <i>Callophyllis variegata</i> , Extraído de Alcapan, 2012.....	23
Figura 3. Secciones de <i>Callophyllis variegata</i> . A) Fronda en fase cistocárpica, B) Acercamiento de las estructuras reproductivas, C: cistocarpos; Os: ostiolos.....	24
Figura 4. Localización de la praderas de <i>Callophyllis variegata</i> en Región de Magallanes, punto rojo marca lugar de extracción.....	28
Figura.5. Fotografía de pradera donde fueron colectas las frondas de <i>Callophyllis variegata</i> .....	29
Figura.6. Muestra de explantes de 0,5cm, considerados como muertos.....	30
Figura 7. Esquema de regiones en <i>Callophyllis variegata</i> , donde RA: Región apical, RBT: Región Basal del Talo.....	32
Figura.8. Diseño experimental con explantes de gametofitos vegetativos de <i>Callophyllis variegata</i> , con una temperatura de 6,8°C, una intensidad de luz par de 4,9μE/m <sup>2</sup> S y provasoli (PES) con una concentración de 20ml/L.g .....	33
Figura.9. Diseño experimental de carpósporas de <i>Callophyllis variegata</i> , con una temperatura de 6,8°C, una intensidad de luz par de 4,9μE/m <sup>2</sup> S, donde A1, B1 y C1 corresponden a el fotoperiodo control (12:12) con tres concentraciones de Provasoli (PES): alta (20ml/L), media (10ml/L) y control respectivamente y A2, B2, C2 corresponde al fotoperiodo de invierno (8:16) con tres concentraciones de Provasoli (PES): alta (20ml/L), media (10ml/L) y control respectivamente.....	35
Figura.10. Ejemplo de medición de área y diámetro de la espora de <i>Callophyllis variegata</i> .....	36

Figura.11. Diseño experimental con plantas tetrasporófitica de <i>Callophyllis variegata</i> utilizando tres sustancias reguladoras de crecimiento en plantas: AIA, 2,4D y BA. Controles: Provasoli sin TRIS buffer, indicados como 0.0 mg/L .....	37
Figura.12. Promedio de la biomasa estandarizada de explantes de <i>Callophyllis variegata</i> para dos fotoperiodos y diferentes zonas de la fronda durante 77 días. Las cruces representa los explantes de la zona del talo y el rombo representa explantes de la zona apical. ....	39
Figura.13. Fotos de explantes del talo de <i>Callophyllis variegata</i> . Donde A es el estado del talo en la 1 semana, B corresponde a la 4 semana, C corresponde a la 8 semana y D corresponde a la 11 semana, para el fotoperiodo control (12:12).....	41
Figura.14. Efecto del fotoperiodo en esporas. A en el diámetro de esporas; B tasa de crecimiento de esporas en dos concentraciones de Provasoli; C en diámetro de esporas; D Tasa de crecimiento de esporas de <i>Callophyllis variegata</i> en diferentes concentraciones de Provasoli.....	43
Figura.15. Efecto del fotoperiodo en plántulas. A Longitud de esporas; B tasa de crecimiento de esporas en dos concentraciones de Provasoli; C Longitud de esporas; D Tasa de crecimiento de esporas de <i>Callophyllis variegata</i> en diferentes concentraciones de Provasoli.....	45
Figura.16. Crecimiento de tetrasporofitos generados a partir de carpósporas de <i>Callophyllis variegata</i> de la Región de Magallanes .....	48
Figura.17. Porcentaje de sobrevivencia de tetrasporofitos juveniles, bajo diferentes tratamientos con hormonas. ....	49
Figura.18. Efecto de diferentes concentraciones de hormonas en tetrasporofitos de <i>Callophyllis variegata</i> en diferentes tipos de hormonas.....	51
Figura.19. Número de nuevos ápices formados en tetrasporofitos de <i>Callophyllis variegata</i> juveniles, bajo diferentes concentraciones y tipos de hormonas.....	53

Figura.20. Fotografías de esporofitos juveniles de *Callophyllis variegata* tratados con 2,4D en distintas concentraciones. A, C y E corresponden a la primera semana y B, D y F a la octava semana. .... 55

Figura.21. Fotografías de esporofitos juveniles tratados con AIA en distintas concentraciones de *Callophyllis variegata*. A, C y E corresponden a la primera semana y B, D y F a la octava semana. .... 57

Figura.22. Fotografías de esporofitos juveniles de *Callophyllis variegata*. A, C y E corresponden a la primera semana y B, D y F a la octava semana. .... 59

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.1. Análisis de medias repetidas (ANOVA), evaluando el efecto del fotoperiodo, en la biomasa en diferentes regiones de la fronda de <i>Callophyllis variegata</i> .....	40
Tabla.2. Porcentaje de sobrevivencia de carpósporas y plántulas en diferentes fotoperiodos y diferentes concentraciones de Provasoli.....	42
Tabla.3. Análisis de medias repetidas (ANOVA), evaluando el efecto del fotoperiodo, en el diámetro de esporas de <i>Callophyllis variegata</i> en diferentes concentraciones de medio Provasoli.....	44
Tabla.4. Análisis de medias repetidas (ANOVA), evaluando el efecto del fotoperiodo, en la longitud de esporas de <i>Callophyllis variegata</i> en diferentes concentraciones de medio Provasoli.....	46
Tabla.5. Análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, evaluando el efecto de la concentración y el tipo de hormona sobre la talla de esporofitos juveniles de <i>Callophyllis variegata</i> .....	52