

Tesi doctoral presentada per En/Na

Noemi SALVADOR SOLER

amb el títol

**"El gènere *Bonnemaisonia* (Bonnemaisoniales,
Rhodophyta) a la Península Ibèrica i les illes Balears:
taxonomia, cicles vitals, corologia i aplicacions"**

per a l'obtenció del títol de Doctor/a en

FARMÀCIA

Barcelona, 23 d'octubre de 2009.

**Facultat de Farmàcia
Departament de Productes Naturals,
Biologia Vegetal i Edafologia**



UNIVERSITAT DE BARCELONA



1cm



Coppejans (1983)

INTRODUCCIÓ

INTRODUCCIÓ

1. Posició taxonòmica del gènere *Bonnemaisonia*

Actualment, d'acord amb estudis moleculars recents (Saunders & Hommersand 2004, Le Gall & Saunders 2007), el gènere *Bonnemaisonia* C. Agardh pertany a la divisió *Rhodophyta* Wettstein (1901), classe *Florideophyceae* Cronquist (1960), subclasse *Rhodymeniophycidae* Saunders & Hommersand (2004), ordre *Bonnemaisoniales* Feldmann & Feldmann (1942) i família *Bonnemaisoniaceae* Schmitz (1892).

1.1. Ordre *Bonnemaisoniales* Feldmann & Feldmann (1942): 163

L'ordre *Bonnemaisoniales* presenta gametòfits de tal·lus filamentós, cilíndric o comprimit, d'estructura uniaxial, amb cèl·lules subapicals que produeixen filaments periaxials; branques carpogonials formades per tres cèl·lules (carpogoni, cèl·lula basal i cèl·lula hipògina); espècies procàrpiques amb desenvolupament directe del gonimoblast a partir del carpogoni fecundat o de la cèl·lula hipògina; presència de carposporangis terminals.

Referències: Desikachary *et al.* (1990) i Womersley (1996).

L'ordre *Bonnemaisoniales* va ser segregat de l'ordre *Nemaliales* Schmitz *in* Engler 1892 (com a *Nemalionales*) a partir del descobriment de l'alternança heteromòrfica de les generacions gametòfit i esporòfit observada en algunes de les seves espècies (Feldmann & Feldmann 1942). En aquella època, la taxonomia de les florideofícies es basava principalment en les estructures reproductores femenines, en el desenvolupament del carposporòfit (presència o absència de la cèl·lula auxiliar i la seva posició) i en aspectes relacionats amb l'evolució d'aquest grup, com per exemple els tipus de cicles vitals (Saunders & Hommersand 2004). No obstant això, l'estudi del cicle en altres espècies d'algues vermelles va demostrar que n'hi havia d'altres d'heteromòrfiques (Dixon 1982) i també algunes bonnemaisoniales isomòrfiques, com per exemple *Delisea pulchra* (Greville) Montagne, *Delisea plumosa* Levring i *Leptophyllis conferta* (Brown *ex* Turner) J. Agardh (Womersley 1996). El reconeixement definitiu de l'ordre

Bonnemaisoniales clarament separat de les *Nemaliales* es basà en la ultraestructura de les seves sinapsis sense *cap layers* (Pueschel 1989) i dels plastidis discoïdals i sense pirenoïdes (Chihara & Yoshizaki 1972); posteriorment, els estudis moleculars donaren suport a aquesta hipòtesi (Freshwater *et al.* 1994, Le Gall & Saunders 2007).

L'ordre *Bonnemaisoniales* inclou dues famílies, les *Bonnemaisoniaceae* Schmitz i les *Naccariaceae* Kylin, que integren deu gèneres i trenta-una espècies (Guiry & Guiry 2009), que es distribueixen principalment per les regions temperades, tropicals i subtropicals del planeta. Durant molt de temps, les *Bonnemaisoniaceae*, a causa de la seva morfologia, van estar relacionades amb l'ordre *Ceramiales* (Feldmann & Feldmann 1942, Chihara & Yoshizaki 1972). No obstant això, no hi ha més sinapomorfies en comú amb aquest ordre que la germinació bipolar present en alguns dels seus membres (Garbary & Gabrielson 1990). En canvi, Gabrielson & Garbary (1987) suggeriren que les *Naccariaceae* tindrien afinitats més properes amb l'ordre *Gigartinales* que amb les *Bonnemaisoniaceae* (Garbary & Gabrielson 1990).

Les dues famílies de l'ordre es distingeixen principalment perquè a les *Bonnemaisoniaceae* el carposporòfit està protegit per un pericarpi, formant un cistocarp ben definit, mentre que a les *Naccariaceae* el carposporòfit és difós i no està envoltat per un pericarpi (Womersley 1996).

A escala mundial, les *Naccariaceae* estan representades pels gèneres *Ardissonea* J. Agardh, *Atractophora* P. Crouan & H. Crouan, *Naccaria* Endlicher i *Reticulocaulis* Abbott (Guiry & Guiry 2009). Dins les *Bonnemaisoniaceae* s'inclouen els gèneres *Asparagopsis* Montagne, *Bonnemaisonia* C. Agardh, *Delisea* Lamouroux, *Leptophyllis* J. Agardh, *Pleuroblepharidella* Wynne i *Ptilonia* J. Agardh (Womersley 1996, Guiry & Guiry 2009).

1.2. Família *Bonnemaisoniaceae* Schmitz *in* Engler (1892): 20

Gènere tipus: *Bonnemaisonia* C. Agardh.

La família *Bonnemaisoniaceae* presenta gametòfits de tal·lus filamentós, cilíndric o comprimit, amb branques alternades o oposades, fixats al substrat mitjançant un disc

basal, un sistema rizomatós o mitjançant branques modificades espinoses en el cas que siguin epífits; estructura uniaxial, en què cada cèl·lula axial inicia dues cèl·lules periaxials oposades que en algunes espècies poden divergir un quart de volta respecte a la cèl·lula axial adjacent; una cèl·lula periaxial inicia un filament periaxial que es transformarà en un ràmul, mentre que l'oposada pot contribuir directament a la formació del còrtex o donar lloc a un ràmul curt; ràmuls amb tres cèl·lules pericentrals; presència de cèl·lules vesiculars amb concentracions altes de iodur i de bromur que es degraden amb l'acció dels fixadors més utilitzats.

Gametòfits monoïcs o dioïcs; branques carpogonials de tres cèl·lules (carpogoni, cèl·lula basal i cèl·lula hipògina), formades sobre una cèl·lula de suport en un ràmul curt o al còrtex intern; desenvolupament directe del gonimoblast a partir del carpogoni fecundat o de la cèl·lula hipògina; filaments nutritius originats per la cèl·lula hipògina; formació d'una cèl·lula de fusió amb filaments gonimoblàstics ramificats que donaran lloc a carposporangis terminals; cistocarps globulars amb pedicel o bé sèssils i immersos en el còrtex d'una branca; espermatangis formant sorus sobre els ràmuls o bé sobre branques espermatangials amb pedicel.

Cicle trigenètic isomòrfic o heteromòrfic, que inclou una generació haploide (gametòfit), un carposporòfit diploide i una segona generació diploide, erecta o prostrada, i que pot ser esporòfitica o no. Tetrasporangis cruciformes en nematecis superficials elongats ovoides (*Leptophyllis*) o bé cruciformes o tetraèdrics en disposició lateral als filaments.

Referències: Sauvageau (1925), Dixon & Irvine (1977) i Womersley (1996).

Els primers estudis sobre el cicle vital de les *Bonnemaisoniaceae* van ser determinants a l'hora de valorar la posició taxonòmica d'aquesta família. Inicialment inclosa dins de l'ordre *Rhodymeniales* (Schmitz 1892), Kylin l'any 1928 la va situar en l'ordre *Nemalionales*, ja que va considerar *Bonnemaisonia asparagoides* (Woodward) C. Agardh com una espècie haplobiòntica (Kylin 1916). Més tard, Feldmann & Feldmann (1939) observaren gametòfits i tetrasporòfits heteromòrfics en algunes espècies d'aquesta família, raó per la qual aquests autors crearen l'ordre nou *Bonnemaisoniales* l'any 1942, per situar aquesta família.

La família *Bonnemaisoniaceae* presenta diverses característiques que l'han fet interessant per estudiar-la, com són la seva capacitat de disseminació (Chemin 1928), el seu cicle vital (Feldmann & Feldmann 1939b, 1942; Chihara 1961, 1962), la presència de cèl·lules vesiculars (Wolk 1968) i la potencial aplicació dels metabòlits secundaris que contenen (McConnell & Fenical 1979, Haslin *et al.* 2001). En els últims anys aquesta família ha estat objecte d'una atenció especial per la bioactivitat d'aquests metabòlits secundaris, en què destaquen especialment les seves propietats antimicrobianes, antifúngiques i antivirals (Haslin *et al.* 2001; vegeu annex 1: Salvador *et al.* 2007). La seva potencial aplicació industrial ha quedat demostrada amb l'aparició de dues patents de tècniques per a l'obtenció dels compostos actius d'*Asparagopsis armata* (Seguin *et al.* 1995, Moigne 2002), una espècie d'aquesta família, de cara a utilitzar-los en productes cosmètics com a conservants naturals.

La família *Bonnemaisoniaceae* inclou sis gèneres amb vint-i-tres espècies (Guiry & Guiry 2009). Segons Garbary & Gabrielson (1990), encara que aquesta família semblaria monofilètica (Chihara & Yoshizaki 1972), les relacions entre els gèneres i les espècies inclosos encara estan per resoldre.

Els gèneres *Leptophyllis* i *Pleuroblepharidella* inclouen una sola espècie cadascun: *Leptophyllis conferta* (Brown *ex* Turner) J. Agardh, citada a Austràlia i Nova Zelanda, i *Pleuroblepharidella japonica* (Okamura) Wynne, citada a Rússia i Amèrica del Nord (Womersley 1996, Guiry & Guiry 2009). *Delisea* i *Ptilonia* inclouen sis espècies cadascun que es distribueixen principalment a l'hemisferi sud, amb l'excepció de *Delisea pulchra* (Greville) Montagne, citada també al Japó, i *Ptilonia okadae* Yamada, de distribució asiàtica (Womersley 1996, Guiry & Guiry 2009).

El gènere *Asparagopsis*, amb només dues espècies, *Asparagopsis armata* Harvey i *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Trevisan, és el gènere que ha suscitat més interès, tant pels seus metabòlits secundaris (McConnell & Fenical 1977), com per les seves aplicacions potencials (Haslin *et al.* 2001). A més, al Mediterrani ambdues espècies es consideren introduïdes i de caràcter invasiu (Boudouresque & Verlaque 2002, Ribera 2002). Així mateix, *A. armata* va ser la primera espècie algal en què es va observar un cicle heteromòrfic (Feldmann & Feldmann 1939a, 1939b). *Asparagopsis armata*, originària del sud d'Austràlia i Nova Zelanda, es va citar per primer cop al Mediterrani el 1923 (Sauvageau 1925) i està naturalitzada a les costes europees des de 1925

(Cabioc'h *et al.* 1995). Actualment, es troba també des de les illes Britàniques fins al Senegal (Dixon & Irvine 1977, Guiry & Guiry 2009). *Asparagopsis taxiformis* té una distribució àmplia i és present tant als mars temperats càlids com en la pràctica totalitat de les regions tropicals i subtropicals (Taylor 1960, Lawson & John 1987, Andreakis *et al.* 2004). Segons Dixon (1964), als anys seixanta aquestes dues espècies ja eren considerades vàlides i no simples formes de creixement de la mateixa espècie com pensava Schiffner (1931). No obstant això, durant molt temps alguns autors van creure que les dues espècies d'aquest gènere no eren diferents (Lawson & John 1987). Tanmateix, Schiffner (1931) va considerar la presència d'espines a les branques d'*A. armata* com l'única diferència aparent entre els gametòfits de les dues espècies. Així mateix, la manca de diferències morfològiques entre els esporòfits (tipus "Falkenbergia") de les dues espècies (Feldmann & Feldmann 1942, Dixon 1964, Dixon & Irvine 1977) fa que sigui difícil determinar-les.

Finalment, el gènere *Bonnemaisonia* inclou set espècies i és un gènere distribuït a les regions temperades dels dos hemisferis. Encara que és el que integra més espècies, probablement és un dels menys estudiats. La majoria de treballs corresponen a les espècies *Bonnemaisonia hamifera* Hariot i *Bonnemaisonia asparagoides* (Chemin 1928, Svedelius 1933, Feldmann & Feldmann 1942, Chihara 1961, Dixon & Irvine 1977, Breeman *et al.* 1988).

1.3. Gènere *Bonnemaisonia* C. Agardh (1822): 196

Espècie tipus: *Bonnemaisonia asparagoides* (Woodward) C. Agardh 1822: 197.

Gametòfit erecte, filamentós, molt ramificat, cilíndric o lleugerament comprimit; ramificació dística, irregularment dística o espiralada; fixació al substrat mitjançant un disc basal, un sistema rizoïdal o mitjançant branques modificades amb forma d'hams en el cas que sigui epífit; estructura uniaxial, de creixement apical, amb petites però prominents cèl·lules apicals en què cada cèl·lula subapical inicia dues cèl·lules periaxials oposades que en algunes espècies poden divergir un quart de volta respecte a les de la cèl·lula axial adjacent; una cèl·lula periaxial donarà lloc a un ràmul llarg i l'oposada en formarà un de curt, que pot ser substituït per una branca de creixement

indefinit, per una estructura reproductora o per una branca modificada amb forma d'ham; les dues cèl·lules periaxials originaran també entre 3-4 cèl·lules allargades (cèl·lules estrellades) que iniciaran la formació del còrtex; còrtex intern separat del filament axial per l'espai originat per les cèl·lules periaxials; còrtex extern format per cèl·lules petites i arrodonides, generalment amb disposició en roseta, on s'intercalen cèl·lules vesiculars; ràmul·ls constituïts per tres cèl·lules pericentrals que formen un còrtex, amb o sense cèl·lules espinoses apicals.

Gametòfits monoics o dioics; branques carpogonials de tres cèl·lules (carpogoni, cèl·lula basal i cèl·lula hipògina) formades sobre una cèl·lula de suport en els ràmul·ls curts; desenvolupament directe del gonimoblast a partir del carpogoni fertilitzat; presència de filaments nutritius originats per la cèl·lula hipògina; la fusió de les cèl·lules de la branca carpogonial donarà lloc a una cèl·lula de fusió mentre que la cèl·lula de suport i la cèl·lula periaxial adjacent començaran a formar un pericarpi; els filaments gonimoblàstics ramificats donaran lloc a carposporangis terminals; cistocarps globulars amb pedicel i ostíol; branques espermatangials pedicel·lades en forma de clava o allargades.

Cicle trigenètic que inclou una generació haploide gametofítica, un carposporòfit diploide i una segona generació diploide heteromòrfica (esporofítica o no), erecta tipus "Trailliella" o prostrada tipus "Hymenoclonium". Generació tipus "Trailliella" filamentosa, uniseriada i fixada al substrat mitjançant hapteris pluricel·lulars; ramificació irregular i altament variable, fins i tot en diferents parts del mateix tal·lus; nombroses cèl·lules vesiculars localitzades en posició lateral entre dues cèl·lules adjacents; tetrasporangis també en disposició lateral, cruciformes o tetraèdrics. Generació tipus "Hymenoclonium" crostosa, generalment amb una sola capa de cèl·lules; formada per filaments uniseriats densament ramificats, i freqüentment anastomosats; nombroses cèl·lules vesiculars localitzades sobre les cèl·lules dels filaments principals; tetrasporangis desconeguts.

Referències: Dixon & Irvine (1977) i Womersley (1996).

El gènere *Bonnemaisonia* és pròxim al gènere *Asparagopsis*, del qual es diferencia per la ramificació, que generalment és dística a *Bonnemaisonia* (exceptuant *B. hamifera*) i helicoïdal a *Asparagopsis*, per l'inici dels filaments gonimoblàstics, que a

Bonnemaisonia té lloc a partir del carpogoni, mentre que a *Asparagopsis* és a partir de la cèl·lula hipògina, i finalment pel nombre de cèl·lules que integren el filament periaxial que dona lloc al cistocarp, que a *Bonnemaisonia* té entre 5-8 cèl·lules mentre que *Asparagopsis* en té entre 9-11 (Hudson & Wynne 1969, Womersley 1996).

El gènere *Bonnemaisonia* inclou set espècies: *B. asparagoides* (Woodward) C. Agardh, *B. australis* Levring, *B. californica* Buffham, *B. clavata* Hamel, *B. geniculata* Gardner, *B. hamifera* Hariot i *B. spinescens* Womersley. *Bonnemaisonia californica* i *B. geniculata* estan citades només a Amèrica del Nord; *B. australis* i *B. spinescens* són presents a Austràlia i Nova Zelanda; *B. clavata* i *B. asparagoides* estan principalment distribuïdes per les costes europees i mediterrànies; i finalment *B. hamifera*, que és l'espècie de distribució més àmplia, està citada tant a les costes europees com a Amèrica del Nord, Àfrica i Àsia (Guiry & Guiry 2009).

2. El gènere *Bonnemaisonia* a la península Ibèrica

A la península Ibèrica, el gènere *Bonnemaisonia* està representat per *B. hamifera*, *B. asparagoides* i *B. clavata*. Encara que *B. hamifera* és originària del Japó, actualment està naturalitzada a les nostres costes.

2.1. *Bonnemaisonia asparagoides* (Woodward) C. Agardh (1822): 197

≡*Fucus asparagoides* Woodward (1794): 29

=*Bonnemaisonia adriatica* Zanardini (1847): 20

=*Callithamnion serpens* P. Crouan et H. Crouan (1859): 259

=*Hymenoclonium serpens* (P. Crouan et H. Crouan) Batters (1895): 307-321

En absència de material original, la il·lustració original de Woodward (1794, pl. 6) va ser designada com a lectotipus (vegeu annex 2). Localitat tipus: Norfolk (Anglaterra).

Gametòfit erecte, de color vermell, de fins a 40 cm, fixat per un disc, amb un eix principal d'aproximadament 1 mm d'ample, molt ramificat, de ramificació oposada i

dística, amb un desenvolupament desigual de les branques, una correspon a un ràmul llarg mentre que l'oposada serà un ràmul curt que pot ser substituït per una branca de creixement indefinit o per les estructures reproductores; planta monoica; cistocarps amb forma d'urna i presència de pedicel i ostíol, carposporangis terminals; espermatangis agrupats en branques espermatangials allargades i amb forma de clava.

Generació prostrada tipus "Hymenoclonium", generalment amb una sola capa de cèl·lules; formada per filaments uniseriats, densament ramificats i freqüentment anastomosats; nombroses cèl·lules vesiculars localitzades sobre les cèl·lules dels filaments principals; tetrasporangis desconeguts.

Referències: Hamel (1930), Kylin (1956), Dixon & Irvine (1977), Athanasiadis (1987).

Bonnemaisonia asparagoides és una espècie anual. Les dues generacions creixen a la zona infralitoral superior. Present a l'Atlàntic des d'Escandinàvia fins al Marroc (Noruega, Suècia, Irlanda, Gran Bretanya, França, Portugal i Espanya), al Mediterrani (França, Grècia, Itàlia, Espanya, Algèria i Tunísia; vegeu annex 3) (Guiry & Guiry 2009). Citada a la península Ibèrica a l'Atlàntic per Seoane (1965), Ardré (1970), Weber-Peukert & Schnetter (1982) i Casares (1989), i al Mediterrani per Ribera Siguan & Gómez Garreta (1984), Soto Moreno (1987), Ballesteros (1990) i Conde *et al.* (1996).

Bonnemaisonia asparagoides inicialment es va descriure com a *Fucus asparagoides* Woodward (1794). Posteriorment aquesta espècie va ser transferida al gènere *Bonnemaisonia* per C. Agardh (1822). Respecte a la seva generació prostrada, inicialment fou descrita com a *Callithamnion serpens* P. Crouan & H. Crouan (1859), i més tard Batters (1895) creà el gènere *Hymenoclonium* per a aquesta alga. Finalment, Feldmann & Mazoyer (1937) van ser els primers a reconèixer que aquesta alga corresponia en realitat a la generació prostrada de *B. asparagoides* i, per tant, *Hymenoclonium serpens* no té fonament taxonòmic.

2.2. *Bonnemaisonia clavata* Hamel (1930): 104

≡ *Ceramium alternum* var. *clavatum* Schousboe *nomen nudum*

Dixon (1962) designà com a lectotipus el plec TA22350 (vegeu annex 2) conservat a l'herbari del Museu d'Història Natural de París (PC). Localitat tipus: Marsella (França).

Gametòfit erecte, vermell rosat, de fins a 15 cm, fixat al substrat mitjançant un disc, amb un eix principal d'aproximadament 1 mm d'ample, molt ramificat, de ramificació oposada i generalment dística, amb un desenvolupament desigual de les branques, una correspon a un ràmul llarg mentre que l'oposada serà un ràmul curt que pot ser substituït per una branca de creixement indefinit o per una estructura reproductora; planta dioica; cistocarps amb forma d'urna i presència de pedicel i ostíol, carposporangis terminals; espermatangis agrupats en branques espermatangials allargades i en forma de clava.

Generació prostrada tipus "Hymenoclonium" constituïda per una sola capa de cèl·lules, filaments uniserials, densament ramificats i freqüentment anastomosats; nombroses cèl·lules vesiculars localitzades sobre les cèl·lules dels filaments principals; tetrasporangis desconeguts.

Referències: Dixon & Irvine (1977) i Athanasiadis (1987).

Bonnemaisonia clavata és una espècie anual. Les dues generacions creixen a la zona infralitoral superior. Present a l'Atlàntic (Gran Bretanya, França, Espanya i Marroc), al Mediterrani (França, Grècia, Itàlia, Espanya, Algèria i Tunísia; vegeu annex 3) (Guiry & Guiry 2009). Citada a la península Ibèrica a l'Atlàntic per Gallardo *et al.* (1985) i al Mediterrani per Ballesteros (1990).

Espècie inicialment anomenada *Ceramium alternum* var. *clavatum* per Schousboe (Bornet 1892), més tard Derbès & Solier (1856) i P. Crouan & H. Crouan (1867) la consideraren una forma dioica de *B. asparagoides*, i Chemin (1928) una forma anòmala de la mateixa espècie fins que finalment Hamel (1930) li va donar categoria d'espècie.

Discussió taxonòmica

Bonnemaisonia clavata és una espècie que presenta una gran semblança morfològica amb *B. asparagoides*, tant pel que fa al seu gametòfit com a la generació tipus "Hymenoclonium" i una distribució mundial molt similar. Generalment, els principals caràcters taxonòmics utilitzats per distingir aquestes espècies es basaven en les

estructures reproductores, com ara la forma dels cistocarps (Svedelius 1933, Dixon & Irvine 1977), les dimensions dels cistocarps, carpòspores i branques espermatangials (taula 1), i, finalment, el caràcter monoic (*B. asparagoides*) o dioic (*B. clavata*) de la planta, que va ser el més utilitzat (Hamel 1930, Feldmann & Feldmann 1942, Dixon & Irvine 1977). L'absència d'aquestes estructures reproductores, juntament amb l'escassa informació descriptiva sobre l'estructura vegetativa d'ambdues espècies, especialment de *B. clavata* (Feldmann & Feldmann 1942, Dixon & Irvine 1977), ha ocasionat que durant molt de temps aquestes espècies sovint s'hagin confós. Dixon & Irvine (1977) van considerar indistingibles tant els seus gametòfits en estat estèril com les seves generacions "Hymenoclonium". Més recentment, Guiry (2002) considerarà el caràcter monoic/dioic com l'única diferència observable entre aquests tàxons i suggerí que podrien ser dues entitats de la mateixa espècie, com succeeix en *Mastocarpus stellatus* (Stackhouse) Guiry, és a dir, les entitats monoiques tindrien un cicle vital directe (sense esporòfit), mentre que les entitats dioiques tindrien un esporòfit heteromòrfic.

Referència	Taxa	Cistocarp	Branques espermatangials	Carpòspores
Hamel (1930)	<i>B. asparagoides</i> <i>B. clavata</i>		60-100 µm (diàmetre) 1 mm x 300 µm	50-60 µm (longitud)
Feldmann & Feldmann (1942)	<i>B. asparagoides</i> <i>B. clavata</i>	300-400 µm (diàmetre) 800 x 550 µm		100 x 40-60 µm 50-55 x 20-25 µm
Dixon & Irvine (1977)	<i>B. asparagoides</i> <i>B. clavata</i>	300-400 µm (diàmetre) 700-800 x 500-600 µm	100 µm (diàmetre) 1 mm x 300 µm	100 x 40-50 µm 50-60 x 20-25 µm

Taula 1. Comparació dels principals caràcters taxonòmics utilitzats per distingir *B. asparagoides* i *B. clavata*.

2.3. *Bonnemaisonia hamifera* Hariot (1891): 223

≡ *Asparagopsis hamifera* (Hariot) Okamura (1921): 183-184

= *Spermothamnion turneri* forma *intricata* Holmes et Batters (1890):?

= *Trailliella intricata* Batters (1896): 10

Holotipus d'una col·lecció del Dr. Savatier (vegeu annex 2), conservat a l'herbari del Museu d'Història Natural de París (PC). Localitat tipus: Yokosuka (Japó).

Gametòfit erecte, vermell cirera, de fins a 20 cm, amb un eix principal de fins a 1 mm d'ample, molt ramificat, de ramificació oposada i helicoïdal, amb un desenvolupament desigual de les branques, en què una correspon a un ràmul llarg mentre que l'oposada és un ràmul curt que pot ser substituït per una branca de creixement indefinit, una estructura reproductora, o per una branca modificada amb forma d'ham; a la península Ibèrica no s'han observat estructures de fixació al substrat a la base de la planta perquè generalment es troba fragmentada; planta dioica; cistocarps amb pedicel i forma d'urna amb ostíol, carposporangis terminals; espermatangis agrupats en branques espermatangials allargades.

Tetrasporòfit tipus "Trailliella"; filamentós uniseriat que es fixa al substrat mitjançant hapteris pluricel·lulars; ramificació irregular i altament variable, fins i tot en diferents parts del mateix tal·lus; nombroses cèl·lules vesiculars en posició lateral entre dues cèl·lules adjacents; tetrasporangis també en disposició lateral, cruciformes o tetraèdrics.

Referències: Hamel (1930), Gayral (1966), Dixon & Irvine (1977).

Bonnemaisonia hamifera és una espècie anual. Les dues generacions creixen a la zona infralitoral. És una espècie d'àmplia distribució, es troba al Pacífic oriental i occidental (Rússia, Japó, Corea, Califòrnia i Mèxic), a l'Atlàntic oriental al llarg de les costes d'Europa (Islàndia, illes Fèroe, Noruega, Països Baixos, Gran Bretanya, Irlanda, França i Espanya), al Marroc, les illes Canàries i Sud-àfrica, a l'Atlàntic occidental (Quebec, Maine, New Hampshire, Massachusetts, Connecticut, Long Island i Virgínia) i al Mediterrani (vegeu annex 3) a Espanya (com a *Trailliella intricata*), França (com a *T. intricata*), Marroc (com a *T. intricata*), Algèria (com a *T. intricata*), Tunísia (com a *T. intricata*), Turquia (com a *T. intricata*), Itàlia i Sicília (Guiry & Guiry 2009). Citada a la península Ibèrica a l'Atlàntic per Casares (1987) i al Mediterrani per Ballesteros (1982, com a *T. intricata*) i Soto Moreno (1987, com a *T. intricata*).

La generació gametofítica fou descrita al Japó, on es trobaren tal·lus femenins i masculins (Dixon 1970). En general, es considera una espècie originària del Japó, ja que s'han trobat en aquesta regió tant tetrasporòfits, gametòfits com carposporòfits fèrtils (Chihara 1961, Koch 1949), encara que no hi ha cap evidència directa que corrobori aquesta afirmació (McLachlan *et al.* 1969). La seva aparició a l'Atlàntic, a les costes europees, fou constatada per Buffham l'agost del 1893 en recol·lectar-la a Falmouth

(Anglaterra). Més tard, el 1898, va ser citada per Holmes a Cherbourg (Feldmann & Feldmann 1942). A les costes occidentals de l'Atlàntic va ser citada per primera vegada el 1927 a Massachusetts, EUA (Feldmann & Feldmann 1942).

Respecte a la generació tetrasporofítica de *B. hamifera*, la seva aparició a les costes atlàntiques europees (1890) i americanes (1927) coincideix amb l'aparició del seu gametòfit i, per tant, es pot dir que les dues generacions van ser naturalitzades en aquestes costes simultàniament (Feldmann & Feldmann 1942). No obstant això, a l'inici va ser determinada com a *Spermothamnion turneri* forma *intricata* Holmes et Batters (1890); posteriorment, Holmes & Batters a l'any 1891 va reconèixer que aquesta espècie es diferenciava bastant de *Spermothamnion* (Feldmann & Feldmann 1942) i creà per a ella el gènere *Trailiella* (Batters 1896). Aquest nou gènere es basà en els caràcters de branques oposades, presència de vesícules i l'estructura dels hapteris (Chihara 1961).

Actualment, la generació *Trailiella* presenta una distribució més àmplia que la generació *Bonnemaisonia* (McLachlan *et al.* 1969, Breeman *et al.* 1988).

Discussió taxonòmica

Okamura utilitzà inicialment en el seu llibre *Nippon Sorui Meii* (Enumeració de les algues japoneses) el nom de *B. hamifera* proposat per Hariot, però després ell mateix (1921) va transferir aquesta espècie al gènere *Asparagopsis* d'acord amb la seva organització helicoïdal i les seves branques penicil·lades i filiformes (Feldmann & Feldmann 1942, Chihara 1961). Kylin (1956) i Taylor (1957) també acceptaren el nom *Asparagopsis hamifera*. No obstant això, Feldmann & Feldmann (1942) investigaren en detall la família *Bonnemaisoniaceae* i van incloure aquesta espècie novament en el gènere *Bonnemaisonia* basant-se en diferents característiques. Segons aquests autors, els caràcters que aproximen aquesta espècie al gènere *Bonnemaisonia* serien: 1) els ràmuls curts no presenten tres cèl·lules pericentrals com en *Asparagopsis*, 2) la presència d'hams no és exclusiva d'aquesta espècie sinó que *Bonnemaisonia californica* també en presenta, 3) el contingut refringent incolor i la posició de les cèl·lules vesiculars, 4) la disposició de les estructures reproductores, 5) la formació de cèl·lules nutritives a partir de la cèl·lula hipògina, i 6) el reduït nombre de carpòspores, sense omplir tot el cistocarp.

No obstant això, Chihara & Yoshizaki (1972) també destacaren les similituds de *B. hamifera* amb el gènere *Asparagopsis* i la diversitat del gènere *Bonnemaisonia* en separar les *Bonnemaisoniaceae* del seu estudi en dos grups. *Bonnemaisonia hamifera* es va agrupar amb *Asparagopsis armata*, *Asparagopsis taxiformis* i *Bonnemaisonia nootkana* (Esp.) Silva basant-se en la petita mida de les carpòspores, la germinació tipus bipolar de les carpòspores i el tetrasporòfit tipus “Trailliella”, mentre que *B. asparagoides* es va agrupar amb *Delisea pulchra* (Greville) Montagne i *Ptilonia magellanica* (Montagne) Agardh (com *Delisea fimbriata* (Lamouroux) Montagne i *Ptilonia okadai* Yamada, respectivament) per la gran mida de les carpòspores, la seva germinació tipus disc i perquè presentava una generació diploide prostrada tipus “Hymenoclonium”.

3. Cicle vital de les espècies ibèriques del gènere *Bonnemaisonia*

Un cicle vital es defineix com la seqüència recurrent de les fases somàtiques i nuclears característiques d’una espècie (Drew 1949). Les primeres aproximacions a l’estudi del cicle vital d’algunes espècies de la família *Bonnemaisoniaceae* van ser determinants per avaluar la seva posició taxonòmica. Inicialment inclosa dins l’ordre *Rhodymeniales*, Kylin l’any 1928 la va situar en l’ordre *Nemalionales* en considerar *Bonnemaisonia asparagoides* com una espècie haplobiòntica (Kylin 1916).

Feldmann & Feldmann (1939b) observaren un dimorfisme entre les generacions gametofítiques i esporofítiques d’alguns membres de la família *Bonnemaisoniaceae*, raó per la qual ells mateixos van crear l’ordre *Bonnemaisoniales* el 1942. Aquests autors van ser els primers a relacionar *B. hamifera* amb *Trailliella intricata* (fins aleshores inclosa dins les *Ceramiaceae*), *A. armata* amb *Falkenbergia rufolanosa* (Harvey) Schmitz (anteriorment inclosa dins les *Rhodomelaceae*) i *B. asparagoides* amb *Hymenoclonium serpens* (anteriorment dins les *Ceramiaceae*).

El descobriment dels cicles vitals trigenètics heteromòrfics a les *Bonnemaisoniaceae* (Feldmann & Feldmann 1939a, 1939b, 1942) suscità un gran interès per aquesta família. Els treballs posteriors dels cicles vitals de les *Bonnemaisoniaceae* presents al

Japó (Chihara 1961, 1962) i a Nova Zelanda (Bonin & Hawkes 1987, 1988a, 1988b), en serien un bon exemple.

3.1. *Bonnemaisonia hamifera*

El cicle vital d'aquesta espècie ha estat molt estudiat per diversos autors (Harder & Koch 1949, Koch 1949, Chihara 1961, Breeman *et al.* 1988). Harder & Koch (1949) van ser els primers a cultivar les tetràspores de *Trailliella intricata* a partir de material recollit a les costes europees. Posteriorment, Chihara (1961) completà tot el cicle amb material japonès mitjançant el cultiu de les carpòspores i les tetràspores. Els resultats obtinguts en aquests dos treballs van ser similars (Chihara 1961).

Bonnemaisonia hamifera és una espècie dioica, i encara que al Japó estaven citats simultàniament tant individus femenins com masculins (Dixon 1970), durant molt de temps només es van citar individus femenins que no produïen gonimoblast a la costa atlàntica europea i americana (Feldmann & Feldmann 1942) i rarament es van citar tetrasporòfits amb esporangis (Feldmann & Feldmann 1942, Dixon 1970). Feldmann & Feldmann (1942) consideraren que la meiosi tenia lloc després de la formació del zigot, basant-se en els estudis de Svedelius (1933) sobre *B. asparagoides* i que, per tant, les carpòspores podrien ser masculines o femenines, mentre que les tetràspores serien totes del mateix sexe. Per aquesta raó, durant algun temps es considerà que la naturalització d'aquesta espècie a l'Atlàntic s'efectuà a partir d'un individu de *T. intricata* que produïa gametòfits femenins, on les dues generacions es mantenien per multiplicació vegetativa (Feldmann & Feldmann 1942). Aquesta capacitat l'han referit posteriorment diversos autors tant a *T. intricata* (Koch 1949, Chihara 1961) com a *B. hamifera* (Chemin 1928, Breeman *et al.* 1988). D'altra banda, Chen *et al.* (1970) van obtenir gametòfits a partir del cultiu de filaments estèrils de *T. intricata*. Breeman *et al.* (1988) van interpretar aquest fet com que els gametòfits podien persistir com a filaments poc organitzats semblants a *Trailliella* capaços de regenerar nous gametòfits.

Amb aquestes observacions, durant molt de temps s'assumí que el cicle sexual de *B. hamifera* rarament era completat a l'oceà Atlàntic nord, on les dues generacions persistien independentment mitjançant la seva propagació vegetativa (McLachlan *et al.*

1969, Dixon & Irvine 1977, West & Hommersand 1981). No obstant això, a la dècada dels seixanta es reportà a l'Atlàntic (Helgoland, França) la presència de gametòfits masculins per primera vegada (Kornmann & Sahling 1962, Bichard-Bréaud & Floc'h 1966). Més tard, Simon-Bichard-Bréaud (1970), revisant uns plecs d'herbari de *B. hamifera* recollits a l'Atlàntic entre els anys 1897 i 1905, confirmà la presència de gametòfits masculins i, per tant, sospità que a l'Atlàntic probablement sí que es tancava el cicle vital de *B. hamifera*. Segons Breeman *et al.* (1988), la confusió generada durant tant de temps s'hauria degut a la manca d'observacions periòdiques i d'estudis fenològics al llarg de l'any.

El primer estudi sobre la fenologia de *B. hamifera* (Breeman *et al.* 1988) va proporcionar informació sobre els requeriments de temperatura i irradiància per a la reproducció d'aquesta espècie amb la intenció d'aclarir els factors que regulaven el cicle vital de *B. hamifera* a la natura. Segons aquests autors, els gametòfits haurien estat citats a les regions on fos possible la inducció a la tetrasporogènesi (on la temperatura mínima de l'aigua no fos inferior a 11 °C abans de l'equinocci de la tardor) i, per tant, serien originats a partir d'espores. Per altra banda, l'escassa presència de tetrasporangis seria deguda al fet que només apareixerien en un curt període de temps durant la tardor (Breeman *et al.* 1988). La presència de cistocarps sense carpòspores als dos costats de l'Atlàntic seria deguda a una manca de sincronització en la formació de les estructures reproductores, en què apareixerien primer les masculines i després les femenines (Breeman *et al.* 1988); contràriament al Japó, l'aparició de les estructures reproductores d'aquesta espècie estarien ben sincronitzades (Chihara 1961). Diversos autors confirmaren que els gametòfits masculins desapareixien abans que els femenins en diverses localitats (Bichard-Bréud & Floc'h 1966, Breeman *et al.* 1988, Kornmann & Sahling 1962, Simon-Bichard-Bréud 1970). Freqüentment, hi hauria només un lleuger solapament en l'aparició de plantes fèrtils masculines i femenines a Helgoland (Kornmann & Sahling 1962) i a la badia de Galway (Breeman *et al.* 1988), mentre que en algunes localitats com Halifax (Atlàntic oest), la presència de gametòfits fèrtils dels dos sexes d'aquesta espècie es trobaria completament separada en el temps (Breeman *et al.* 1988). Les respostes fisiològiques observades per Breeman *et al.* (1988) demostren que aquesta espècie està més adaptada a les condicions del Japó que a l'oceà Atlàntic nord. Aquest fet semblaria una nova evidència sobre l'origen japonès de les poblacions

atlàntiques de *B. hamifera* (Feldmann & Feldmann 1942, Dixon & Irvine 1977, West & Hommersand 1981).

Es pot dir, per tant, que el cicle vital d'aquesta espècie ha estat completat per diferents investigadors i que tant la generació gametofítica com la tetrasporofítica s'han obtingut a partir de cultius (Chemin 1928, Chihara 1961, Dixon & Irvine 1977, Breeman *et al.* 1988). Per tant, com que és un cicle que han descrit amb detall diversos autors, en aquest treball no ens vam proposar cultivar aquesta espècie, sinó comprovar directament, mitjançant tècniques de citogenètica, l'alternança de fases nuclears entre les seves generacions.

3.2. *Bonnemaisonia asparagoides*

Molts autors van fer cultius de carpòspores de *B. asparagoides* per estudiar el seu cicle (Chemin 1937, Feldmann & Mazoyer 1937, Feldmann & Feldmann 1942, Kylin 1945, Feldmann 1966, Cortel-Breemann 1975, Rueness & Åsen 1982), i tots van obtenir una generació tipus "Hymenoclonium". No obstant això, la interpretació que van fer aquests autors sobre aquesta generació va ser diferent. Els primers autors consideraren aquesta generació com un protonema (Chemin 1937, Feldmann & Mazoyer 1937). Posteriorment, les observacions de Feldmann & Feldmann (1942) indicaren la presència de tetrasporangis a *B. asparagoides* i, per tant, consideraren "Hymenoclonium" com un tetrasporòfit (figura 1a). Més tard, Kylin (1945) també va fer cultius de carpòspores de *B. asparagoides* i va obtenir les mateixes estructures, però amb sinapsis entre les seves cèl·lules (figura 1b). No obstant això, Kylin observà el creixement de joves gametòfits a partir d'aquestes estructures; aquest autor va suggerir que el tal·lus del qual s'originaven els joves gametòfits s'havia d'interpretar com un estadi jove o protonema, més que com un tetrasporòfit. Subseqüentment, la proposta de Kylin primer va ser refutada (Feldmann & Feldmann 1946, Feldmann 1965) i més tard acceptada per Magne (1960) i Feldmann (1966). Dixon (1970) va resumir tota aquesta informació conclouent que «although a mass of additional information on the hitherto undetected phases in the life history has been obtained at the present time, in most respects the situation with regard to the nature of these is as confused as it was twenty-five years ago». Més tard es proposaren noves interpretacions del cicle vital de *B. asparagoides*. Cortel-Breemann

(1975) va suggerir la possible existència de dues vies de desenvolupament del gametòfit, una mitjançant espores i l'altra per desenvolupament directe. Rueness & Åsen (1982) foren els primers a proposar que la generació gametofítica podria ser produïda directament sobre el protalus diploide per meiosi somàtica. Els mateixos autors també destacaren que no s'havia demostrat mai clarament l'existència de tetrasporangis i l' "Hymenoclonium" de *B. asparagoides* malgrat els nombrosos estudis sobre material d'un ampli rang de distribució d'aquesta espècie. Finalment, cal remarcar que els tetrasporangis descrits i il·lustrats per Crouan & Crouan (1859) a la descripció original d'*Hymenoclonium serpens* són poc clars i, com suggeriren Rueness & Åsen (1982), aquestes il·lustracions podrien correspondre a una generació prostrada de qualsevol altra alga vermella amb un cicle vital heteromòrfic.

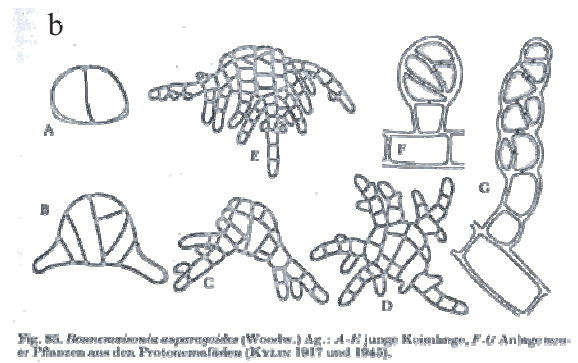
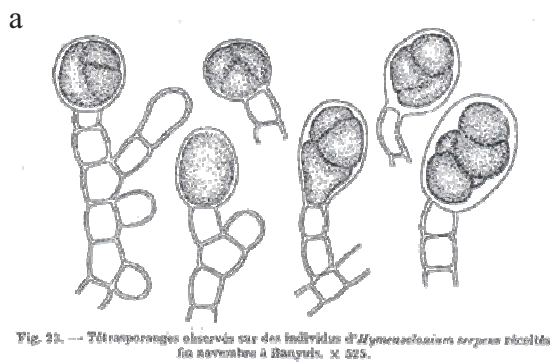


Figura 1. (a) Il·lustració original de Feldmann & Feldmann (1942). (b) Il·lustració original de Kylin (1945).

Per tot el que hem esmentat anteriorment, vam creure necessari aprofundir en l'estudi del cicle de *B. asparagoides*, i especialment de la generació "Hymenoclonium", tant des d'un punt de vista morfoanatòmic com pel que fa a la seva germinació i creixement, així com conèixer el procés de desenvolupament del gametòfit a partir d'aquesta generació.

3.3. *Bonnemaisonia clavata*

Respecte al cicle vital de *B. clavata*, Feldmann & Feldmann (1942) van ser els únics que cultivaren les carpòspores de *B. clavata*, i van obtenir així la seva generació “Hymenoclonium” de característiques molt semblants a la de *B. asparagoides*. No obstant això, no van poder mantenir en cultiu els individus d’“Hymenoclonium” prou temps per observar la formació d’esporangis.

Es pot dir, per tant, que fins ara ningú havia confirmat les observacions de Feldmann & Feldmann (1942), ni s’havien descrit estructures reproductores a la generació “Hymenoclonium” de *B. clavata* ni tampoc s’havia obtingut mai, en cultiu, el gametòfit a partir d’“Hymenoclonium”. D’altra banda, com s’ha esmentat anteriorment, mancava informació sobre la seva estructura vegetativa i nous caràcters taxonòmics per distingir entre les generacions “Hymenoclonium” de *B. clavata* i *B. asparagoides*. Per aquests motius vam fer un estudi comparatiu de la generació “Hymenoclonium” d’ambdues espècies, tant des d’un punt de vista morfoanatòmic com de la seva germinació, creixement i posterior desenvolupament de la generació gametofítica.

3.4. La meiosi

Segons Dixon (1982), tant la informació morfològica com la citològica, incloent els nivells de ploïdia de les diferents fases, són requisits imprescindibles per comprendre un cicle vital. Si bé els cicles de vida de *B. hamifera*, *B. clavata* i *B. asparagoides* s’han establert, en més o menys mesura, a partir de cultius, fins ara es desconeixien els seus cicles nuclears. Com conclou Dixon en el seu treball del 1982 sobre els cicles vitals de les florideofícies, encara que a les últimes dècades hi ha hagut una millora en la determinació de la seqüència de fases morfològiques mitjançant els cultius, aquest avanç no ha arribat als mètodes citològics que podrien ajudar a demostrar la seqüència entre fases nuclears. Aquesta manca d’informació citogenètica és comprensible a causa de la petita mida dels nuclis de les algues en comparació amb altres plantes i a la dificultat de fer els seus recomptes cromosòmics. No obstant això, aquesta és la deficiència més important per a la comprensió dels cicles vitals (Dixon 1982).

Kylin (1916) considerà que *B. asparagoides* era una espècie haplobiòntica i per aquest motiu, encara que desconeixia el seu cicle i la situació de la meiosi, va transferir la família *Bonnemaisoniaceae* a l'ordre *Nemalionales* l'any 1928.

Va ser aleshores quan Svedelius va rebre amb interès la proposta de Sauvageau d'examinar citològicament material d'*Asparagopsis armata* de la costa Atlàntica francesa (Guéthary), una altra espècie de la família *Bonnemaisoniaceae*. A la vegada, i per tal de poder comparar els seus resultats obtinguts amb *A. armata*, aquest autor va decidir reexaminar citològicament *B. asparagoides*. Per dur a terme aquest propòsit Svedelius (1933) va estudiar material fixat tant de Sauvageau (*A. armata*) com del mateix Kylin (*B. asparagoides*), entre d'altres. En considerar haplobiòntiques aquestes espècies, Svedelius va situar erròniament la meiosi just després de la fecundació. No obstant això, en aquest mateix treball, Svedelius va constatar una de les diferències més importants entre els gèneres *Asparagopsis* i *Bonnemaisonia*. A *Asparagopsis*, després de la fecundació, el nucli es mou a la cèl·lula hipògina, el carpogoni desapareix i el gonimoblast s'inicia a partir de la cèl·lula hipògina, mentre que a *Bonnemaisonia* el nucli no es mou del carpogoni i, per tant, el gonimoblast s'inicia a partir d'aquest.

Feldmann & Feldmann (1939) observaren l'alternança heteromòrfica de les generacions gametofítiques i esporofítiques a *A. armata*. No obstant això, influenciats pel treball de Svedelius (1933) de *B. asparagoides*, aquests autors van assumir que les tres generacions de les *Bonnemaisoniaceae* eren haploides i que la meiosi tenia lloc al zigot just després de la fecundació del carpogoni (Feldmann & Feldmann 1942). Per tant, aquests autors consideraren que l'alternança heteromòrfica de generacions en aquesta família era independent d'una alternança de fases nuclears.

Posteriorment, Magne (1960) refutà aquesta hipòtesi en determinar el nombre cromosòmic del carposporòfit ($2n = 36$) i considerar aquesta generació diploide (Cole 1990). Més tard, Rueness & Åsen (1982) corroboraren les observacions de Magne amb els recomptes cromosòmics diploides ($2n = 30$) de la generació "Hymenoclonium" de *B. asparagoides*.

Com a conclusió es pot dir que en el cicle de *B. asparagoides* la majoria d'autors situaren la meiosi just després de la formació del zigot (Kylin 1916, Svedelius 1933, Feldmann & Feldmann 1942, G. Feldmann 1966); només G. Feldmann (1965) suggerí

que la meiosi havia de tenir lloc durant la tetrasporogènesi basant-se en les seves observacions en “Falkenbergia”. També Cortel-Breemann (1975) pensava que en el cicle de *B. asparagoides* s’havia de formar algun tipus d’espores, ja que els gametòfits juvenils que observà presentaven una base independent, però aquest autor no observà espores. Finalment, Rueness & Åsen (1982) indicaren la possibilitat d’una meiosi somàtica en aquesta espècie. No obstant això, tots aquests autors coincidiren en el fet que era necessari estudiar el cicle nuclear de *B. asparagoides* per confirmar la presència de la meiosi.

Respecte a *B. clavata* no hi ha cap informació cariològica.

Pel que fa a *B. hamifera*, Magne (1964) quantificà el nombre de cromosomes d’aquesta espècie en $n = 20-25$, i encara que no va poder determinar el nombre cromosòmic del seu tetrasporòfit (*Trilliella intricata*), suggerí que el gametòfit era haploide i el tetrasporòfit, diploide ($2n > 40$). Magne (1964) proposà que el cicle nuclear havia de ser el mateix que en altres florideofícies, i presentava, per tant, un gametòfit haploide i un carposporòfit i un tetrasporòfit diploides. Per tant, es va assumir que la reducció meiótica en aquesta espècie tenia lloc durant la tetrasporogènesi (McLachlan *et al.* 1969).

En vista del desconeixement de la posició de la meiosi en el cicle vital de les espècies del gènere *Bonnemaisonia* vam decidir determinar el cicle nuclear d’aquestes espècies mitjançant la quantificació del DNA nuclear.