

## Efectos de la contaminación sobre la diversidad genética de *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq (Gigartinales, Rhodophyta) en bahías

### *Contamination effects on genetic diversity of Mazzaella laminarioides (Bory) Fredericq (Gigartinales, Rhodophyta) on bays*

Mario Palma<sup>1</sup>, Fidelina González<sup>1</sup> (\*), Héctor Romo<sup>2</sup>, Eduardo Ruiz<sup>3</sup>, Carmen Fuentealba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas  
(\* [fgonzale@udec.cl](mailto:fgonzale@udec.cl))

<sup>2</sup>Departamento de Oceanografía.

<sup>3</sup>Departamento de Botánica. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

---

#### RESUMEN

Se determinó y comparó la variabilidad genética interpoblacional de *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq presente en Bahía Coliumo, Bahía San Vicente y Bahía Concepción, las que presentan diversos grados de contaminación. La variabilidad fue evaluada sobre la base del polimorfismo en un locus de la enzima super-óxido dismutasa en 50 ejemplares gametofitos de poblaciones de *M. laminarioides* en cada una de las bahías. Los sectores muestreados fueron 1) cercano al Puerto de la Segunda Zona Naval en Bahía Concepción (Talcahuano), 2) Caleta Lengua en Bahía San Vicente y 3) Dichato en Bahía Coliumo. El locus *sod-1* mostró dos alelos (A y B). De los sectores estudiados, la mayor frecuencia para el alelo B se encontró en la población de Bahía Concepción con valores de 0.24, le sigue la población de Bahía San Vicente con frecuencia alélica B de 0.10 y por último la población de Bahía Coliumo con una frecuencia de 0.04. El estudio reveló que los lugares con mayor grado de contaminación presentan poblaciones con una frecuencia del alelo B significativamente mayor que en Bahía Coliumo, que es el sector menos expuesto a la contaminación por metales pesados o hidrocarburos.

**Palabras claves:** *sod-1*, *Mazzaella laminarioides*, diversidad genética, contaminación.

---

#### ABSTRACT

In the present study, inter-population genetic variability of the intertidal Rhodophyta *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq from Concepción Bay, San Vicente Bay and Coliumo Bay, which show different levels of pollution, was evaluated. The variability was based on the polymorphism exhibited by the superoxide dismutase enzyme in 50 random sampled gametophyte fronds of *M. laminarioides* from each bay. The sampling was carried out at Talcahuano, in Concepción Bay; Lenga Cove, in San Vicente Bay; and Dichato, in Coliumo Bay. The three populations of *M. laminarioides* showed two alleles (A and B). The allele B in the population of Concepción Bay showed the highest frequency corresponding to 0.24, followed by the population of San Vicente Bay with 0.10 and the lowest 0.04 B allelic frequency was found in the population of Coliumo Bay. The study revealed that the two most polluted sites showed high frequency of allele B.

**Keywords:** sod-1, *Mazzaella laminarioides*, genetic diversity, contamination.

---

## INTRODUCCION

Los niveles de variabilidad genética de una especie pueden ser explicados por características del ambiente en el que vive o bien pueden reflejar los eventos ambientales históricos que han sucedido en la región que ocupa. Las poblaciones de organismos que habitan ambientes similares, cuando existe un elevado intercambio génico se mantienen genéticamente homogéneas (Zink & Dittmann 1993). En otro caso, si las características ambientales entre poblaciones son heterogéneas, tienen diferentes niveles de estrés por contaminación o presentan un reducido intercambio génico entre sí (O'Reilly *et al.* 1993), presentarán diferencias en su estructuración genética. Estudios realizados en *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq basados en marcadores moleculares dominantes (RAPD) han demostrado estructuración y diferenciación genética en poblaciones naturales libres de contaminación muestreadas a gran escala en el litoral central de Chile, encontrándose que el flujo genético es escaso entre las poblaciones que se encuentran separadas por una distancia de 60 km (Faugeron *et al.* 2001).

Puede considerarse que los organismos de la zona costera de la región del Biobío presentes en Bahía San Vicente (36°44' S; 73°09' W) y Bahía Concepción (36°40' S; 73°02' W) han estado sometidos a niveles de estrés ambiental crecientes desde los inicios del desarrollo industrial en la región que comenzó en la década de los años cincuenta con la puesta en marcha de la industria siderúrgica. Luego, la instalación de la industria refinadora de petróleo, la petroquímica y, posteriormente, el auge de la actividad pesquera en el último tercio del siglo pasado unido al creciente aumento de la población humana que en la actualidad es de alrededor de medio millón de habitantes en torno a ambas bahías (INE, 2006), convierte al litoral en un área que constantemente recibe vertidos que contienen materiales contaminantes.

De esta forma, Bahía San Vicente es un área costera de múltiples usos, que ha experimentado altas cargas de metales pesados, entre los que se destacan el Cu y Zn (Encina 1993, Riveros *et al.* 1996a,b) y altos niveles de fenoles, Lindano, Aldrin - Dieldrin, DDT - DDE y aceite y grasa disueltos (Riveros *et al.* 1996a). Esta bahía presenta áreas con sedimentos finos y alto contenido de materia orgánica proveniente de residuos de la producción pesquera y desechos urbanos, la cual no alcanza a ser oxidada, dando como resultado ambientes hipóxicos y

aún anóxicos en los casos más extremos (Ahumada 1992, Ahumada & Rudolph 1987). Por otra parte, Bahía Concepción recibe efluentes de las industrias pesqueras, principalmente de empresas ubicadas en la marisma de Rocuant (Ahumada & Rudolph 1987, Pradenas & Rudolph 1989) y aguas de desecho de instalaciones de la Armada de Chile y de la actividad portuaria (Ahumada & Rudolph 1987). Los aportes urbanos corresponden a Talcahuano y Concepción en el fondo de la bahía y a Penco y Tomé en el margen oriental de ella. En esta bahía los niveles de lindano, aceites y grasas disueltos, así como el cadmio y mercurio, fueron también reportados como anormalmente altos por Riveros *et al.* (1996a). En cambio, los organismos costeros de Bahía Coliumo (36°31'S; 72°55'W) se pueden considerar como menos expuestos a factores de estrés por contaminación, pues las actividades humanas en torno a esta pequeña bahía han sido tradicionalmente la pesca artesanal, actividad forestal el turismo y navegación deportiva durante el verano y la carga residuos urbanos de una población humana residente reducida (Conejeros 1993).

Frente a estos antecedentes, y tomando en cuenta que el grado de contaminación puede actuar como presión selectiva (Elmgren 1989) en este caso sobre poblaciones de *M. laminarioides*, se postula que al comparar distintas bahías con distintos grados de contaminación es posible evaluar diferencias genéticas interpoblacionales. Una buena forma de evaluar el efecto de la contaminación sobre las poblaciones de macroalgas sería considerar individuos adultos haploides. La ventaja es que al ser todo el genoma haploide, se expresa toda la información genética en el fenotipo, de esta forma puede ser posible evaluar "a priori" lo que puede suceder con las poblaciones en el corto y mediano plazo, ya que la presión selectiva estaría actuando más fuertemente sobre los individuos haploides que los diploides. En estos últimos ocurre enmascaramiento de la información genética en el fenotipo cuando se considera la expresión genética del individuo como un todo. En este caso el objeto de estudio es el componente gametofítico de poblaciones de una macroalga roja, *Mazzaella laminarioides*, a través del análisis del polimorfismo que presenta un locus de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en individuos de esta especie en cada una de las bahías.

En relación a lo anterior, es posible plantear tres enfoques posibles. El primer enfoque es la posibilidad que exista alguna relación entre frecuencias alélicas y el aumento de nivel de contaminación de las bahías. El segundo enfoque considera el aumento de la heterocigosidad en las poblaciones más expuestas a la contaminación como ha sido observado en vegetales superiores como en angiospermas de la familia Asteraceae como *Helianthus annuus* L. (Palomo *et al.* 1999), de la familia Poaceae (*Poa annua* L.) (Chen *et al.* 2003). En el caso de *P. annua*, se demostró el aumento de la frecuencia de los heterocigotos en la zona cercana a la fuente de polución (Chen *et al.* 2003). De esta forma el nivel de variabilidad genética puede ser un buen índice del estado de estrés al cual están sometidos los organismos en ambientes con diferente grado de contaminación. Un tercer enfoque es considerar si la existencia de diversidad genética observada en *M. laminarioides* en las distintas bahías es producto de la selección gatillada por la contaminación o el aislamiento por interrupción del flujo genético o ambos factores.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Recolección de muestras**

Los muestreos fueron realizados en: Bahía San Vicente (36°44'S; 73°09'W), instalaciones de la Segunda Zona Naval del Puerto de Talcahuano Bahía

Concepción ( $36^{\circ}40'S$ ;  $73^{\circ}02'W$ ) y en sectores rocosos de la localidad de Dichato, Bahía Coliumo ( $36^{\circ}31'S$ ;  $72^{\circ}55'W$ ) (Fig 1). Los muestreos se realizaron durante enero 2003.

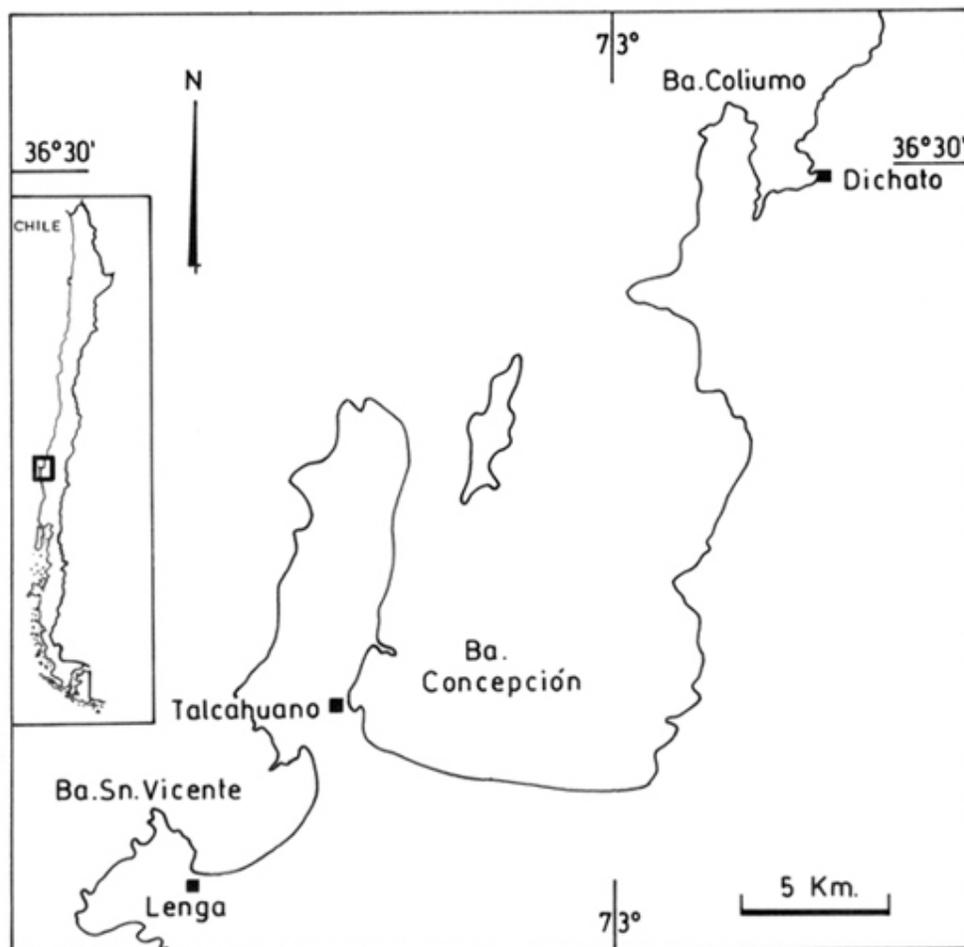


Figura 1. Localización geográfica de las poblaciones de *Mazzaella laminarioides* estudiadas. Los puntos de muestreo están indicados con un cuadrado negro ( ).

Figure 1. Geographic location of sampling of *M. laminarioides* indicated by black square dots ( ).

El método de muestreo utilizado consistió en extraer una fronda juvenil de *Mazzaella laminarioides* inmediatamente adyacente a carposporofitos femeninos reconocibles por tener cistocarpos desarrollados. Con esto existe una muy alta probabilidad de seleccionar un individuo gametofito haploide de *M. laminarioides* por la propiedad de estas Gigartinaceae de conformar una unidad genética (genet) consistente en un disco basal del cual emergen muchas frondas con idéntica ploidía genética (en este caso haploidía gametofítica). Bajo estas condiciones se recolectó 100 frondas juveniles (número significativo según Richardson *et al.* 1986) separadas unas de otras por aproximadamente 6-7 m (cada talo consiste en un disco basal más sus frondas y no mide más de 5 cm en su diámetro mayor), por lo tanto el muestreo a esa distancia aseguraba genets

aleatoriamente diferentes. Los ejemplares de *M. laminarioides* se prepararon para el reconocimiento de la fase del ciclo de vida y su selección para la realización de las electroforesis.

### **Análisis de laboratorio**

La fase gametófito del ciclo de vida de cada fronda muestreada se confirmó en laboratorio por medio del test del resorcinol-acetal (Garbary & DeWreede 1988) y mediante el cual se seleccionaron, para el estudio electroforético, 50 frondas efectivamente gametofíticas de cada una de las tres poblaciones.

La obtención del macerado de la fronda se realizó añadiendo arena estéril de grano fino (Merck) a la molienda de la fronda. El buffer de extracción consiste de 0.1 M Tris- HCl pH 7.5, 14 mM mercaptoetanol, 1 mM EDTA (sal tetrasódica), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1% de polivinilpirrolidona (PVP), usado por Crawford *et al.* (2001) en la extracción de enzimas desde meristemas de plantas vasculares, al cual se agregó una solución 1M de NaCl para permitir la mejor precipitación de los geles que componen la pared celular del alga al momento de la centrifugación. El rompimiento de las células del alga se verificó por la liberación de los contenidos celulares (por rompimiento de las células del talo) observando bajo el microscopio óptico, lo que fue comprobado al hacer la molienda usando ultrasonido en un baño a baja temperatura (4°C). Posterior al proceso de molienda la mezcla obtenida contenida en tubos Eppendorf fue centrifugada a 12.200 rpm por 10 min. Con el sobrenadante se impregnaron trozos de papel filtro Whatmann N° 3 de 0.5 x 0.8 cm, los que fueron sembrados en gel de almidón (12,5 %). Se aplicó un potencial de 256 V y una intensidad de corriente de 50 mA, por media hora (empuje). La corrida del gel duró 5 horas. Los análisis de variabilidad genética SOD se hicieron en un gel de almidón (12,5%), con buffer gel Tris-borato pH 8.8 y buffer electrodo 8.8. Los geles fueron teñidos realizando la precipitación del formazán usando MTT y PMS.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el uso del programa computacional TFGA ver. 1.3 (Miller 1997) para datos de genomas haploides, a partir de la introducción de datos individuales por locus. En este análisis se estimó frecuencia alélica, índice útil para este caso ya que se trabajó con individuos gametófitos (n), y presentan una copia del alelo por locus. La estructuración genética fue evaluada usando los estadísticos de Weir & Cockerham (1984) e informada usando la terminología usada por Weir (1990, 1996), donde el valor de theta corresponde a la estimación de los estadísticos *f* y *Fst* de Wright que pueden ser definidos como la deficiencia de heterocigotos entre poblaciones y representa una buena medida de diferenciación genética. Este análisis incluye acuchillamiento de datos para la obtención de estimaciones de varianza y "bootstrap" para generar intervalos de confianza. Cabe señalar que usando 1000 repeticiones se generan intervalos de 95% de confianza. Los números de pseudo-aleatorización usados en las rutinas de "bootstrap" fueron originados por el algoritmo MLCG (Lécuyer 1988), incluido en el programa.

La distancia genética no sesgada de Nei (1978) realizados fue calculada sobre la base de los datos de genomas haploides a partir de los valores de las frecuencias génicas observadas.

## **RESULTADOS**

La enzima SOD resultó ser polimórfica para los individuos de *Mazzaella laminarioides* en las 3 bahías en estudio. La SOD presentó con un locus, *sod-1*,

en los zimogramas no hubo presencia de homocigotos y heterocigotos debido a que se trabajó con un estado de desarrollo gametofito (n), con la presencia de un alelo por locus en cada individuo de *M. laminarioides*. Fue posible detectar un total de 2 alelos, el alelo A tiene migración más anódica que el alelo B. El alelo más frecuente en todas las localidades estudiadas resultó ser el alelo A y el alelo B fue el de menor frecuencia en todas las localidades. Los valores de las frecuencias alélicas de *M. laminarioides* dentro de las bahías fueron las siguientes: para Bahía Concepción la frecuencia del alelo A fue 0.76, para bahía San Vicente fue 0.90 y para bahía Coliumo la frecuencia del alelo A fue de 0.96.

La heterocigosidad esperada no sesgada para cada caso fue de 0.37 para Bahía Concepción, 0.18 para Bahía San Vicente y de 0.077 para Bahía Coliumo. Cabe señalar que esta heterocigosidad no corresponde a la observada puesto que se muestreó la fase haploide del ciclo de vida de *M. laminarioides*, este dato es entregado por el programa TFPGA usado en el análisis de los datos.

Los mayores valores de la frecuencia intrapoblacional del alelo B de *M. laminarioides* en las bahías bajo estudio se presentaron en aquellas donde el grado de contaminación es mayor (Bahía Concepción y Bahía San Vicente). Por el contrario Bahía Coliumo presenta los menores valores de contaminación de las bahías bajo estudio junto al menor valor de la frecuencia del alelo B.

Las distancias génicas no sesgadas de Nei (1978) se entregan en la [Tabla I](#), siendo el valor de Theta, que indica estructuración genética, de 0.0738. El valor de los test de diferenciación poblacional (Raymond & Rousset 1995) fue significativo al comparar todas las poblaciones ( $P= 0.015 \pm 0.0028$ ). Al hacer las comparaciones entre pares de poblaciones separadamente, si se compara Bahía Concepción con Dichato la diferencia es altamente significativa ( $P= 0.0088 \pm 0.0023$ ), pero no es significativo cuando se compara San Vicente con Dichato ( $P= 0.4331 \pm 0.0077$ ) o San Vicente con Bahía Concepción ( $P= 0.1108 \pm 0.0075$ ).

Tabla I. La distancia no sesgada de Nei (1978) en el locus *sod-1* de *Mazzaella laminarioides* en las tres localidades analizadas está indicada bajo la diagonal y sobre la diagonal se entregan los valores de significancia (P).

Table I. Unbiased Nei's genetic distance of locus *sod-1* in *Mazzaella laminarioides* from sampling location is indicated below diagonal, and statistical significance value (P), upper diagonal.

	B. Concepción	B. San Vicente	B. Dichato
B. Concepción	*****	0.1108	0.0088
B. San Vicente	0.0152	*****	0.4331
B. Dichato	0.0320	0.0009	*****

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

La información disponible sobre estudios de variabilidad genética interpoblacional en macroalgas usando isoenzimas es escasa (Sosa & García-Reina 1992; Sosa & Lindstrom 1999; Sosa *et al.* 1998), y además tiene poca variabilidad (Valero *et al.* 2001), por lo que el proceso de búsqueda de un buen sistema para evaluar la

polución entre bahías tuvo una duración que abarcó desde agosto del 2002 a enero del 2003. Se logró mejorar el proceso de extracción de las isoenzimas, agregando el uso del ultrasonido, obteniendo mayor ruptura de las paredes celulares de las macroalgas.

Las frecuencias génicas del locus *sod-1* presentaron concordancia con los niveles de contaminación dados por diversos autores en cada una de las bahías (Ahumada 1992, Ahumada & Rudolph 1987, Pradenas & Rudolph 1989), respondiendo así al primer enfoque planteado. Así, se constató diferencias de variabilidad genética interpoblacional en las localidades donde se realizaron los muestreos, los mayores valores de la frecuencia del alelo B se registraron en las poblaciones de *Mazzaella laminarioides* que están sometidas a mayores niveles de contaminación (bahía Concepción y bahía San Vicente), no así en bahía Coliumo, donde la frecuencia del alelo B es menor, coincidiendo con el bajo nivel de contaminación de la bahía.

Respecto al segundo enfoque postulado en este trabajo, los valores de heterocigosidad esperada en la siguiente generación encontrados indican un aumento en áreas más contaminadas como ha sido observado para otras especies vegetales (Palomo *et al.* 1999, Chen *et al.* 2003).

El valor de la distancia no sesgada de Nei (1978) se encuentra en el rango dado para otras especies de Rhodophyta: *Gelidium* J.V.Lamour. y *Gracilaria* Grez (Sosa & García-Reina 1992; Sosa *et al.* 1998, Sosa & Lindstrom 1999). En el caso de la especie *Gelidium arbuscula* Bory ex Børgesen, muestreada en Islas Canarias, al comparar en una misma isla, las poblaciones vecinas de gametofitos separadas por menos de 10 km tienen valores de distancia genética de 0.019, y de 0.023 a 0.036 en poblaciones de distintas islas, separadas por más de 60 km.

Las localidades muestreadas en este estudio están situadas a más de 60 km una de la otra en orientación norte-sur, por lo tanto corresponden a poblaciones bien definidas desde un punto de vista genético como lo ha establecido Faugeron *et al.* (2001) para esta especie, sobre la base de la información dada por marcadores dominantes (RAPD). Esta idea también se encuentra reforzada por la existencia de playas arenosas intercaladas con sustratos rocosos donde se encuentra *M. laminarioides* y donde además hay presencia de desembocaduras de ríos. Ambos factores son causa de aislamiento de las poblaciones. Se debe considerar que las macroalgas en general son dispersadas pobremente, las esporas y los gametos tienen una corta vida (Santelices 1990), siendo posible la diferenciación genética en distancias muy cortas, alrededor de 1 km (Faugeron *et al.* 2004). Experimentos "in vitro" han demostrado que las esporas haploides tienen mayor capacidad de dispersión que las diploides (Destombe *et al.* 1992), pero la dispersión efectiva "in situ" es mejor en las diploides que haploides (Engel *et al.* 2004). Como agentes dispersores se han sugerido a anfipodos en el caso de *M. laminarioides* (Buschmann & Vergara 1993). Por lo tanto, no habría flujo génico entre las poblaciones y las diferencias de frecuencia alélica se deberían al efecto de la contaminación sobre los gametofitos.

En nuestro trabajo se constató que la estructuración poblacional es intermedia, de acuerdo a los valores de theta (Sosa & Lindstrom 1999) pero estas diferencias se hacen evidentes cuando comparamos las frecuencias en los distintos puntos de muestreos entre Bahía Concepción y Dichato pero no con Bahía San Vicente. Probablemente esto tenga relación con las condiciones físicas oceanográficas de las bahías, específicamente, el recambio de la masa de agua, dado los valores encontrados para el tiempo de residencia de la masa de agua sobre el fondo. Se ha estimado que en Bahía San Vicente el tiempo de residencia de la masa de

agua es de un día promedio (Ahumada *et al.* 1989; Brito & Figueroa 1993), en Bahía Concepción es mayor, de al menos 2 a 3 días, y en la época de otoño alcanza los 22 días (Arcos *et al.* 1995). A diferencia de las anteriores, la masa de agua de Bahía Coliumo tiene un activo recambio con el mar abierto, debido a su menor tamaño (Sobarzo *com. pers.*). El efecto de la masa de agua sobre el litoral rocoso y por lo tanto sobre las algas estaría determinado por la dinámica del tiempo de recambio, lo que determinaría el nivel de exposición a los contaminantes contenidos en el agua de mar.

Frente a esto se podría reforzar la idea que la frecuencia del alelo B está influenciada por el grado de contaminación, éste presenta sus mayores valores en las bahías de mayor contaminación (San Vicente y Concepción), el cual tendría probablemente un valor adaptativo para las poblaciones de *M. laminarioides* allí presentes, esto no ocurre en Bahía Coliumo, que es un ambiente libre de contaminación, donde la frecuencia del alelo B es la menor. Por tratarse de una especie que presenta un obligado cruzamiento entre gametofitos para la reproducción y donde no existe evidencias de reproducción clonal (sensu Faugeron *et al.* 2001), las frecuencias encontradas en las distintas bahías son un reflejo de la presencia de agentes contaminantes disueltos en el agua de mar que baña el litoral rocoso. Se puede intentar una hipótesis relacionada con la presencia del alelo B como sistema de defensa del alga en respuesta a una posible disminución de la tasa de fotosíntesis que pudiera estar afectando a las algas, dado que la presencia de metales pesados modifica la tasa de crecimiento del alga al disminuir la tasa fotosintética. Así, metales pesados como el cobre interfieren con los ficobilisomas, estructuras proteicas que canalizan la luz en las algas rojas, disminuyen la presencia de clorofila y carotenoides (Xia *et al.* 2004) y estimulan la producción de metalotioneinas (Moenne 2001). Se debe señalar además que el cadmio induce la oxidación de lípidos e induce el daño oxidativo a proteínas, y el cobre es aún más dañino en este sentido que el cadmio (Collen *et al.* 2003). El cobre iónico se une a las clorofilas de las antenas fotosintéticas, formando complejos, accesibles en plantas acuáticas estresadas en la penumbra (Küpper *et al.* 1996). En un estudio reciente Ratkevicius *et al.* (2003) demostraron la influencia del cobre sobre la macroalga verde *Enteromorpha compressa* (L.) Nees en muestras tomadas en zonas afectadas por la contaminación producida por la actividad minera cuprífera del norte de Chile, encontrando que el alga activaba sus sistemas de defensa celular en relación a la presencia de cobre disuelto en el agua y bioacumulado por el alga.

Se ha demostrado que la fase gametofítica de *Caloglossa leprieurii* (Mont.) G.Martens tiene menor crecimiento y eficiencia fotosintética que la fase esporofítica (Zuccarello *et al.* 2001). Es probable que este estrés pueda favorecer la presencia del alelo B en la fase gametofítica de la población de *M. laminarioides* más expuesta a la polución.

La enzima superóxido dismutasa cataliza la reducción de los radicales superóxidos libres, produciendo oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno y constituyéndose en un factor crucial en los mecanismos antioxidantes de defensa al estrés celular causado por múltiples agentes no sólo en vegetales sino también animales. Es sabido que los radicales libres alteran proteínas, membranas celulares, por lo tanto a organelos celulares. Estos radicales libres pueden ser originados por situaciones de estrés ambiental tal como exposición a metales pesados como se ha visto específicamente las algas rojas *Gracilaria tenuistipitata* Zhang et Xia (Collen *et al.* 2003), compuestos hidrocarburos derivados del petróleo en especies animales tales como moluscos: *Perna viridis* (L. 1758) (Cheung *et al.* 2004), *Nacella concinna* (Strebel 1908) (Ansaldi *et al.* 2005). Lo mismo ocurre en algunos invertebrados como *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758,

donde se demostró inducción de la actividad enzimática en branquias y hepatopáncreas en áreas con alta polución en comparación a sitios control (Manduzio *et al.* 2004) y variaciones en la intensidad de la luz en las macroalgas *Mastocarpus stellatus* (Stackh.) Guiry y *Chondrus crispus* (L.) Stackh. (Lohrman *et al.* 2004).

Por lo anteriormente señalado, es probable que *M. laminarioides* en estas bahías haya sido inicialmente una sola gran población, pero que está siendo diferenciada por efectos de la contaminación y mantenido por aislamiento geográfico.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los revisores anónimos las sugerencias positivas que contribuyeron a mejorar el manuscrito. Este trabajo fue financiado con aportes del Proyecto DIC- U de C 200.031.085-1.0; 97.031.075-1.0. Grupo de Investigación Genética de Poblaciones Vegetales y Animales 03.C1.01.

## BIBLIOGRAFIA

Ahumada, R. 1992. Patrones de distribución espacial de Cr, Ni, Cu, Zn, Cd, y Pb en sedimentos superficiales de la Bahía San Vicente. Chile. Revista de Biología Marina, Valparaíso 27(2): 265-282 [ [Links](#) ]

Ahumada, R., & A. Rudolph. 1987. Un problema crítico de contaminación por orgánicos. Marisma Rocuant en Talcahuano. Revista Ciencia y Tecnología del Mar. CONA 11: 45-59 [ [Links](#) ]

Ahumada, R., Rudolph, A. Madariaga, S. & F. Carrasco. 1989. Descripción de las condiciones oceanográficas de Bahía San Vicente y antecedentes sobre efectos de la contaminación. Revista de Biología Pesquera 18: 37-52. [ [Links](#) ]

Ansaldo, M., Najle, R & C.M. Luquet. 2005. Oxidative stress generated by diesel seawater contamination in the digestive gland of the Antarctic limpet *Nacella concinna*. Marine Environmental Research 59: 381-390. [ [Links](#) ]

Arcos, D.F, Núñez, Urrutia S.A & L. Chuecas. 1995. Shelf-embayment water exchange and residence times within Concepcion Bay, Chile. Gayana Oceanologia 3 (2): 75-87. [ [Links](#) ]

Brito, F. & D. Figueroa. 1993. Estudio de la circulación de las aguas de la Bahía de San Vicente para la estimación del tiempo de residencia. Onceavo Congreso Chileno de Ingeniería Hidráulica. Editorial Aníbal Pinto, Concepción, Chile, 120 pp. [ [Links](#) ]

Buschmann, A.H. & P.A. Vergara. 1993. Effect of rocky intertidal amphipods on algal recruitment: a field study. Journal of Phycology 29: 154-159. [ [Links](#) ]

Chen, X.-Y., Li, N., Shen L., & Y.-Y. Li. 2003. Genetic structure along gaseous organic pollution gradient: a case study with *Poa annua* L. Environmental Pollution 124 (3): 449- 455. [ [Links](#) ]

Cheung CC, WH Siu, BJ Richardson, SB De Luca-Abbott & PK Lam. 2004. Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Aroclor 1254 exposure in the

green-lipped mussel, *Perna viridis*. Environ Pollut. 128(3):393-403. [ [Links](#) ]

Collen J., E. Pinto, M. Pedersen & P. Colepicolo. 2003. Induction of oxidative stress in the red macroalga *Gracilaria tenuistipitata* by pollutant metals. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 45(3): 337-342. [ [Links](#) ]

Conejeros, M.I. 1993. Bahía Coliumo: posibilidad de uso integrado. Tesis EULA. Universidad de Concepción. Concepción, Chile, 78 pp. [ [Links](#) ]

Crawford, D.J., E. Ruiz, T.F. Stuessy, E. Tepe, P. Aqueveque, F. González, R.J. Jensen, G.J. Anderson, G. Bernardello, C.M. Baeza, U. Swenson & M.J. Silva. 2001. Allozyme diversity in endemic flowering plant species of the Juan Fernández Archipelago, Chile: ecological, and historical factors with implication in conservation. American Journal of Botany 88 (12): 2195- 2203. [ [Links](#) ]

Destombe, C., J. Godin, C. Lefebvre, O. Dehorter & P. Vernet. 1992. Differences in dispersal abilities of diploid and haploid spores of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta). Botanica Marina 35: 93-98. [ [Links](#) ]

Elmgren, R. 1989. Man's impact on the ecosystem of the Baltic: energy flow today and the turn on the century. AMBIO 18 (6): 326-332. [ [Links](#) ]

Encina, F. 1993. Estudio de metales pesados (Cu, Zn, Pb, Cd y Hg) en *Iridaea laminarioides*, *Iridaea ciliata* y *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta, Gigartinales) en las bahías San Vicente, Coliumo y Quidico (Octava Región: Chile). Tesis Doctorado (EULA) Universidad de Concepción, 75 pp. [ [Links](#) ]

Engel, C.R., C. Destombe & M. Valero. 2004. Mating system and gene flow in the red seaweed *Gracilaria gracilis*: effect of haploid-diploid life history and intertidal rocky shore landscape on fine-scale genetic structure. Heredity 92: 289-298. [ [Links](#) ]

Faugeron S., M. Valero, C. Destombe, E.A. Martínez & J.A. Correa. 2001. Hierarchical spatial structure and discriminant analysis of genetic diversity in the red alga *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales. Rhodophyta). Journal of Phycology 37: 705- 716. [ [Links](#) ]

Faugeron, S., Martínez, E.A., Correa, J.A., Cárdenas, L., Destombe, C. & M. Valero. 2004. Reduced genetic diversity and increased population differentiation in peripheral and overharvested population of *Gigartina skottsbergii* (Rhodophyta, Gigartinales) in southern Chile. Journal of Phycology 40: 454-462. [ [Links](#) ]

Garbary, D.J. & R.E. Dewreede. 1988. Life history phases in natural populations of Gigartinaceae (Rhodophyta): quantification using resorcinol. In: Experimental Phycology. A Laboratory Manual. (Eds C.S. Lobban, D.J. Chapman & B.P. Kremer) pp. 174-178. Cambridge University Press, Cambridge UK. [ [Links](#) ]

Ine, 2006. Censo 2002. <http://www.ine.cl/cd2002> (20 de septiembre de 2006). [ [Links](#) ]

Küpper, H., F. Küpper & M. Spiller. 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. Journal of Experimental Botany 47: 259-266. [ [Links](#) ]

- Lécuyer, P. 1988. Efficient and portable combined random number generators. *Communications of the ACM* 31: 742-749. [ [Links](#) ]
- Lohrmann, N.L., B.A. Logan & A.S. Johnson. 2004. Seasonal acclimatization of antioxidants and photosynthesis in *Chondrus crispus* and *Mastocarpus stellatus*, two co-occurring red algae with differing stress tolerance. *Biological Bulletin* 207 (3): 225. [ [Links](#) ]
- Manduzio, H., T. Monsinjon, C. Galap, F. Leboulenger & B. Rocher. 2004. Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquatic Toxicology* 70 (1): 83-93. [ [Links](#) ]
- Miller, M.P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA). 1.3. A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Utah State University, Logan, Utah. [ [Links](#) ]
- Moenne, A. 2001. Eucaryotic metallothioneins: protein, gene regulation and copper homeostasis. *Cahiers de Biologie Marine* 42: 125- 135. [ [Links](#) ]
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590. [ [Links](#) ]
- O' Reilly, P., T. Reimchent, R. Beech & C. Strobeck. 1993. Mitochondrial DNA in *Gasterosteus* and Pleistocene glacial refuge on the Queen Charlotte Island, British Columbia. *Evolution* 47(2): 678-684. [ [Links](#) ]
- Palomo, P.J., R. López-Valbuena, & M. Tena. 1999. Sunflower (*Helianthus annuus*) variability in antioxidant enzyme defences. *Free Radical Research. Supplement S* 227-233. [ [Links](#) ]
- Pradenas, E. & A. Rudolph. 1989. Comparación del impacto ambiental en la Bahía de Concepción producido por los residuos de las plantas de harina, aceite y congelados. *Biología Pesquera* 18: 115-122. [ [Links](#) ]
- Ratkevicius, N, J.A. Correa & A. Moenne. 2003. Copper accumulation, synthesis of ascorbate and activation of ascorbate peroxidase in *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. (Chlorophyta) from heavy metal-enriched environments in northern Chile. *Plant, Cell and Environment* 26: 1599- 1608. [ [Links](#) ]
- Raymond, M.L. & F. Rousset. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283. [ [Links](#) ]
- Richardson, B.J. P.R. Baverstock & M. Adams. 1986. Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies. Academic Press. Australia. 409 pp. [ [Links](#) ]
- Riveros, A., L. Troncoso, J. Silva, E. Soto, A. Cifuentes, H. Gaete, E. Bay-Schmith & A. Larraín. 1996a. Calidad ecotoxicológica de aguas receptoras de efluentes de industrias pesqueras, un análisis sinóptico de efectos sobre varias especies, con aguas de Coronel, San Vicente y Rocuant (Región del Bío-Bío, Chile). *Gayana Oceanología* 4 (2): 77-91. [ [Links](#) ]
- Riveros, A., M. Zúñica, A. Larraín & J. Becerra. 1996b. Relationships between

fertilization of the Southeastern Pacific sea urchin *Arbacia spatuligera* and environmental variables in polluted coastal waters. *Marine Ecology Progress Series*. 134: 159-169. [ [Links](#) ]

Santelices, B. 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanography and Marine Biology* 28: 177-276. [ [Links](#) ]

Sosa, P.A. & G. García-Reina. 1992. Genetic variability and differentiation of sporophytes and gametophytes in populations of *Gelidium arbuscula* (Gelidiales: Rhodophyta) determined by isozyme electrophoresis. *Marine Biology* 113: 679-688. [ [Links](#) ]

Sosa, P.A. & S.C. Lindstrom. 1999. Isozymes in macroalgae (seaweeds): genetic differentiation, genetic variability and application in systematics. *European Journal of Phycology* 34: 427-442. [ [Links](#) ]

Sosa, P.A., M. Valero, F. Batista & M.A. González-Pérez. 1998. Genetic structure of natural populations of *Gelidium* species: A re-evaluation of results. *Journal of Applied Phycology* 10 (3): 279-284. [ [Links](#) ]

Valero, M, C. Engel, C. Billot, B. Kloareg & C. Destombe. 2001. Concepts and issues of population genetics in seaweeds. *Cahiers de Biologie Marine* 42: 53- 62. [ [Links](#) ]

Weir, B.S. 1990. *Genetic Data Analysis: Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 377 pp. [ [Links](#) ]

Weir, B.S. 1996. *Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 445 pp. [ [Links](#) ]

Weir, B.S. & C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370. [ [Links](#) ]

Xia, J.R., Y.J. Li, J. Lu & B. Chen. 2004. Effects of copper and cadmium on growth, photosynthesis, and pigment content in *Gracilaria lemaneiformis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 73: 979-986. [ [Links](#) ]

Zink, R. & D. Dittmann. 1993. Gene flow, refugia and evolution of geographic variation in the song sparrow (*Melospiza melodia*). *Evolution* 47(3): 717-729. [ [Links](#) ]

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

Recibido: 04.08.06, Aceptado: 12.10.06

© 2011 *Universidad de Concepción*

Casilla 160 - C  
Concepción, Chile



[gayanabot@udec.cl](mailto:gayanabot@udec.cl)

