



**Magíster en  
Ecología Marina UCSC**  
Universidad Católica de la Santísima Concepción

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE *Mazzaella laminarioides*  
(BORY) FREDERICQ (RHODOPHYTA, GIGARTINALES)  
EN ROQUERÍOS INTERMAREALES**

Por

**YUGREISY DEL CARMEN POLANCO**

TESIS PARA OPTAR AL

**GRADO DE MAGÍSTER EN ECOLOGÍA MARINA**

Director de Tesis: RICARDO DANIEL OTAÍZA O'RYAN

Concepción, Chile

2020



Universidad Católica de la Santísima Concepción

## ACTA DE EXAMEN DE GRADO

En Concepción de Chile, a 24 de JULIO de 2020 , vista y revisados los requisitos de Título/Grado presentados por:

Doña **YUGREISY DEL CARMEN POLANCO** .

RUT 26330398-9

Alumna de la Carrera de **MAGÍSTER EN ECOLOGÍA MARINA**

Sede **CONCEPCIÓN** Jornada **DIURNO**

De la Universidad Católica de la Santísima Concepción, la Comisión Examinadora ha otorgado las siguientes calificaciones:

**VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE MAZZAELLA LAMINARIOIDES (BORY) FREDERICQ  
(RHODOPHYTA, GIGARTINALES) EN ROQUERÍOS INTERMAREALES.**

Nombre	Calificación
ANTONIO BRANTE RAMIREZ MIEMBRO INTERNO COMISIÓN DE TESIS	7,00 (SIETE )
ERASMO MACAYA HORTA MIEMBRO EXTERNO COMISIÓN DE TESIS	7,00 (SIETE )
RICARDO OTAÍZA O RYAN DIRECTOR DE TESIS	7,00 (SIETE )
IVAN HINOJOSA TOLEDO MINISTRO DE FE	7,00 (SIETE )
<b>CALIFICACION FINAL DE EXAMEN</b>	<b>7,00 (SIETE )</b>

  
SECRETARIA ACADÉMICA

  
DECANO



**Magíster en  
Ecología Marina UCSC**

Universidad Católica de la Santísima Concepción

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

# **VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE *Mazzaella laminarioides* (BORY) FREDERICQ (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) EN ROQUERÍOS INTERMAREALES**

Por

**YUGREISY DEL CARMEN POLANCO**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ecología Marina

Director de Tesis: RICARDO DANIEL OTAÍZA O'RYAN

El autor y el Director de Tesis certifican que la investigación presentada es original y cumple con las normas establecidas para todo aspecto relativo a su ejecución.

Concepción, Chile

2020

## **AGRADECIMIENTOS**

Ante todo, agradezco el apoyo brindado por mi familia que a distancia y con miedo a mis decisiones han estado presentes y forman parte de cada proyecto que me proponga.

Al profesor Ricardo Otaíza quién aceptó ser mi tutor y tuvo la paciencia necesaria para apoyarme para llevar a cabo este trabajo de grado. Sin duda, agradezco enormemente el tiempo dedicado y todo el conocimiento brindado para mi formación profesional. Finalmente, mantener firme mi elección de elegirlo como tutor fue una buena decisión.

Al programa de Magíster por aportar las herramientas y el conocimiento necesario para obtener el grado y por el apoyo económico brindado para la ejecución de la tesis.

Al postgrado UCSC por el apoyo económico para los análisis moleculares.

Al CIBAS por el apoyo económico brindado para las actividades académicas

A la Dra. Florence Tellier y Lic. Karla Pérez por facilitarme sus laboratorios y por el apoyo en la ejecución de los análisis moleculares.

Al Dr. Iván Vera por su apoyo y dedicación en el análisis de datos moleculares y en la interpretación de los resultados.

Al Dr. Hugo Benítez por su asesoría en morfometría geométrica y por aceptarme en su laboratorio.

A mis compañeros y amigos Mayra, Luis, Eduardo y Nashira por su apoyo incondicional durante el Magíster y por su brindar su apoyo en actividades de terreno.

A Geremi por su compañía, paciencia y apoyo durante estos dos años de estudio.

A Mabel Marcó, quién con amabilidad ha brindado su caluroso apoyo desde el inicio del programa. Sin duda ha sido importante.

A David Castillo por su colaboración con datos de muestras de la especie en estudio y por su apoyo en terreno.

## TABLA DE CONTENIDOS

Resumen .....	4
Abstract.....	5
Introducción.....	6
Hipótesis .....	13
Hipótesis General.....	13
Hipótesis Específicas .....	13
Objetivos.....	14
Objetivo General.....	14
Objetivos Específicos .....	14
Métodos .....	15
Sitios de estudio.....	15
<i>Colecta de láminas</i> .....	18
Muestreos complementarios .....	19
<i>Evaluación de la altura intermareal y pendiente de los sitios</i> .....	20
Análisis molecular .....	21
Comparación morfológica de láminas de <i>M. laminarioides</i> .....	22
<i>Análisis morfométrico tradicional</i> .....	22
<i>Análisis de Morfometría Geométrica (MG)</i> .....	25
Descripción de la composición de especies de zonas bajas de roqueríos con y sin arena .....	27
Experimento de trasplante recíproco de discos de <i>M. laminarioides</i> .....	28
Experimento de raspado de discos basales de <i>M. laminarioides</i> .....	29
Descripción de la histología del disco basal de <i>M. laminarioides</i> .....	29
Resultados.....	31
Análisis molecular .....	31
Comparación de la morfología de las láminas <i>M. laminarioides</i> de roqueríos con y sin presencia de arena.....	34

<i>Morfometría tradicional</i> .....	34
<i>Morfometría Geométrica (MG)</i> .....	49
<i>Comparación de láminas de M. laminarioides de otoño-primavera e invierno-verano</i> .....	54
<i>Comparación de las láminas del nivel superior, medio e inferior de la banda de M. laminarioides</i> .....	59
<i>Evaluación de la altura intermareal</i> .....	62
Descripción de la composición de especies de zonas bajas de roqueríos con y sin arena .....	63
Experimento de trasplantes de discos de <i>M. laminarioides</i> .....	68
Experimento de raspado de discos de <i>M. laminarioides</i> .....	69
Descripción del disco de <i>M. laminarioides</i> .....	70
Discusión .....	78
Comparación de la morfología de las láminas de <i>M. laminarioides</i> de roqueríos con y sin presencia de arena .....	78
Análisis molecular .....	80
Comparación entre los tipos de individuos de vida libre de <i>M. laminarioides</i> .....	81
Comparación de láminas de <i>M. laminarioides</i> de otoño-primavera e invierno-verano... 82	
Comparación de láminas del nivel superior, medio e inferior de la banda de <i>M. laminarioides</i> .....	83
Comparación de las láminas entre los sitios con y sin arena .....	84
Composición de especies de zonas bajas de roqueríos con y sin arena .....	85
Posibles explicaciones .....	88
Conclusiones.....	93
Referencias bibliográficas .....	94
Anexo 1: .....	110
Anexo 2 .....	111
Anexo 3 .....	113

## RESUMEN

Muchas especies de macroalgas marinas presentan alta variabilidad morfológica, dificultando la identificación especialmente de especies morfológicamente simples. En la región del Biobío, *Mazzaella laminarioides* es común en sectores medios y bajos de roqueríos expuestos a la acción del oleaje. Tiene un ciclo de vida espórico isomórfico con tres tipos de individuo de vida libre (gametofitos femeninos y masculinos, y esporofitos), y las láminas son foliosas, de longitud y ancho variables. Se ha observado que en zonas bajas de roqueríos intermareales afectados por arena los individuos presentan láminas notoriamente largas (hasta más de 50 cm de longitud) que aquellos individuos que se encuentran en los roqueríos sin influencia de arena, donde alcanzan una longitud máxima de 30 cm siendo las láminas comunes. Se propuso que las láminas largas se originarían como rebrotes de regiones abradidas de los discos. Se colectaron láminas de *M. laminarioides* de sitios con y sin arena de la región del Biobío. La morfología de las láminas se evaluó a través de morfometría tradicional y morfometría geométrica (MG). Los resultados de morfometría tradicional mostraron que las láminas de sitios con y sin influencia de arena fueron largos y anchos que los sitios sin arena. La MG indicó que la forma de las láminas en cada condición no cambia. El análisis molecular confirmó que las láminas largas corresponden a *M. laminarioides*. Además, las láminas largas ocurren independientemente de la fase del ciclo de vida, ya que la forma larga se encontró tanto en gametofitos femeninos como en esporofitos. Los análisis complementarios indicaron que la estacionalidad y la altura intermareal no explicaron la ocurrencia de las láminas largas. Por otra parte, los resultados indicaron que los individuos de láminas largas ocurren en un microhábitat que difieren en la composición de especies de los sitios donde se encuentran los individuos de tamaño común, particularmente debido a la mayor abundancia de especies tolerantes a la arena. Experimentos de terreno de trasplantes recíprocos y de simulación de abrasión por arena fueron realizados para evaluar la morfología de las nuevas láminas, sin embargo, el tamaño alcanzado durante el estudio fue pequeño y evitó las comparaciones. Las comparaciones histológicas de discos basales no mostraron claras diferencias sobre los tejidos de los discos obtenidos de sitios con y sin arena. Aunque los resultados experimentales no fueron concluyentes, las láminas largas de *M. laminarioides* podría ser explicada por el origen del rebrote, como fue propuesto para explicar las dos formas en *Chondracanthus chamissoi*. En esta especie, la lámina ancha podría ser originada de discos normales, donde las láminas angostas se originan de discos secundarios. En *M. laminarioides* las láminas largas y anchas podrían ser originadas de discos abradidos luego de un daño en el tejido. Esto explicaría la ocurrencia de láminas largas en los sitios abradidos por arena. Futuros estudios son necesarios para confirmar si el origen de los rebrotes explica el origen de las láminas largas

**Palabras clave:** abrasión, disco basal, morfometría, regeneración, trasplantes recíprocos.

## ABSTRACT

Many marine macroalgal species tend to have a high morphological variation, which makes identification difficult, especially for those morphologically simple species. In the Biobío Region, *Mazzaella laminarioides* is a common species in the mid and low rocky intertidal zone exposed to wave action. *M. laminarioides* has an isomorphic, sporic life cycle with three types of free-living individuals (sporophytes, and female and male gametophytes), and the fronds are foliose with variable length and width. In low intertidal rocky zones exposed to high sand abrasion, individuals tend to have longer fronds (exceeding 50 cm in length) than those individuals inhabiting rocky shores with no sand effect, which attain a maximum of 30 cm in length. Here, it was proposed that the longer fronds would originate as shoots from sand-abraded portions of the discs. Fronds were collected in four sites with and four sites without the scouring of sand on the substrata in the Biobío Region. The morphology of fronds was evaluated using traditional morphometry and geometric morphometry (GM). Results of traditional morphometrics showed that fronds from sand-influenced rocky patches were longer and wider than those with no sand effects. The GM indicated that the shape of the fronds in each condition did not change. Molecular analyses confirmed that the long-frond individuals correspond to *M. laminarioides*. Furthermore, long-frond individuals occur regardless of the phase of the life cycle, since the long form was found in both female gametophytes and sporophytes. Complementary analyzes indicated that seasonality and intertidal height did not explain the occurrence of long fronds. On the other hand, results indicated that the long-frond individuals occur in microhabitats that differ in the species composition from sites where the common-sized individuals are found, particularly due to the greater abundance of sand-tolerant species in the former. Reciprocal transplant and abrasion simulation, field experiments were performed to evaluate the morphology of the new fronds, however, the size reached during the study was small and prevented comparisons. Histological comparisons showed no clear differences in tissues of disks obtained from sites with and without sand abrasion. Although the experimental results were not conclusive, long blades of *M. laminarioides* could be explained by the origin of the shoots, as it was proposed to explain the two forms found in *Chondracanthus chamissoi*. In this species, the wider fronds would originate from normal discs, whereas narrow blades would originate from secondary disks. In *M. laminarioides*, the larger fronds would originate from sand-abraded disks after tissue damage. This would explain the occurrence of long fronds in sand abraded sites. Further studies are necessary to confirm if the origin of the shoots explains the origin of the long fronds.

**Key words:** basal disks, reciprocal transplant, regeneration, sand abrasion, morphometric

## INTRODUCCIÓN

Las macroalgas rojas son un grupo grande de especies usualmente comunes en roqueríos intermareales y submareales alrededor del mundo. La morfología de este grupo es variable, se encuentran desde diversos tipos de filamentos, láminas y hasta organismos crustosos (South & Whittick, 1987).

La variabilidad morfológica en macroalgas puede encontrarse tanto entre especies, como dentro de una misma especie. En *Mazzaella*, la morfología de algunas de estas especies es muy sencilla, siendo descritas como láminas lanceoladas que surgen desde un disco basal (Abbott, 1976) y usualmente no presentan ramificaciones u otros caracteres visibles o notorios. La distinción entre *Mazzaella splendens* y *M. linearis*, por ejemplo, puede realizarse en base al grosor de la lámina y la longitud del estipe (Shaughnessy, 1996). Sin embargo, estos dos caracteres varían en respuesta al grado de exposición al oleaje, dificultando la identificación (Shaughnessy, 1996; Ross et al., 2003). Por otro lado, la variabilidad en la morfología de los talos se puede presentar dentro de una especie y se puede reconocer a partir de diferentes caracteres morfológicos del talo (e.g. grado de ramificación, número de dicotomías, ancho y grosor) (Gutierrez & Fernández, 1992; Chopin et al., 1996; Brodie et al., 1997; Rodríguez & Otaíza, 2020). Esta variabilidad intraespecífica puede generar problemas en la identificación taxonómica. Por ejemplo, *Chondrus crispus* en el Atlántico Norte muestra una alta variabilidad morfológica de las formas del talo, aún cuando estudios moleculares corroboran la existencia de una sola especie (Chopin et al., 1996).

*Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq (Rhodophyta, Gigartinales), es una especie con una amplia distribución en las costas de Chile, reportada desde Coquimbo (Santelices, 1989) a Magallanes (54°03'S 71°58'W) (Montecinos et al., 2012). Montecinos et al. (2012) determinaron la existencia de tres clados distribuidos parapátricamente a lo largo de la costa de Chile, correspondientes a la zona norte (28°55'S - 32°37'S), centro (34°05'S - 37°38'S) y sur (39°40'S hasta 54°03'S). *M. laminarioides* junto con otras especies de la familia Gigartinaceae es de importancia económica, siendo cosechada como materia prima para la extracción de carragenanos (Hannach & Waaland, 1986; Santelices, 1989; Buschmann et al., 1999; Norambuena et al., 2001).

Localmente, esta especie es abundante en roqueríos intermareales, extendiéndose desde la zona inferior de la banda de cirripedios (*Jehlius cirratus*) (Santelices, 1990) en la zona media-alta del intermareal, hasta el margen superior de la banda de *Lessonia spicata* en la zona baja del intermareal, formando una distintiva franja horizontal (Santelices, 1989; Santelices, 1990). Lateralmente, es abundante en roqueríos desde medianamente expuestos a muy expuestos al oleaje y también está presente en playas de bolones (Obs. Pers.). Además, esta especie es abundante en sitios soleados que sombríos y en superficies de baja a mediana pendiente, que en aquellas de alta pendiente (Obs.Pers.). También pueden crecer en superficies rocosas que se ven afectadas por la influencia de arena (Santelices, 1990). Jara & Moreno (1984) (citada como *Iridaea boryana*) mencionan que son abundantes en los mantos de *Perumytilus purpuratus* y también Hannach & Santelices (1985) mencionan que se pueden encontrar creciendo en superficies cubiertas por cirripedios (*J. cirratus*) y sobre roca.

*Mazzaella laminarioides* presenta un ciclo de vida espórico trifásico tipo *Polysiphonia*, con una fase gametofítica haploide y una esporofítica diploide, ambas de vida libre e isomórficas, y una fase carposporofítica diploide que se desarrolla dentro del gametofito femenino (Santelices, 1989). Los gametofitos son dioicos (Hommensard et al., 1993) y son más abundantes que los esporofitos (Hannach & Santelices, 1985; Sanhueza, 2005). Se ha mencionado que esta dominancia gametofítica puede deberse a la mayor tolerancia de los gametofitos a condiciones ambientales extremas (Luxoro & Santelices, 1989). Los esporofitos tienden a ser abundantes en la zona intermareal baja (Luxoro & Santelices, 1989; Hannach & Santelices, 1985) mientras que los gametofitos están verticalmente más uniformemente distribuidos, con mayor abundancia en niveles superiores de su distribución (Hannach & Santelices, 1985).

El talo de *M. laminarioides* está conformado por un disco basal a partir del cual emergen numerosas frondas erectas (Westermeier et al., 1987; Santelices, 1989; Gómez & Westermeier, 1991; Hoffmann & Santelices, 1997). El disco basal es una estructura de forma circular, aunque algo irregular, que crece adherido al sustrato. A pesar de haber sido descrito como “esférico” (Santelices, 1989) o “semiesférico” (Hoffmann & Santelices, 1997), este disco es una estructura basal incrustante (Vera et al., 2008) de sólo unos pocos milímetros de grosor (Obs. pers.). Cuando crece sobre choritos, su contorno tiende a ser redondeado, y el centro es más levantado que los

márgenes probablemente influenciado por la forma de ese sustrato. En la literatura la estructura interna del disco basal ha sido poco detallada. En el estudio de Santelices & Alvarado (2011) muestran la histología de discos de *M. laminarioides*, indicando el crecimiento inicial de los ejes erectos. En otras especies de la familia *Gigartina pistillata* (Hommersand et al., 1992) indican que el disco está formado por filamentos horizontales y filamentos que se arquean hacia la superficie externa. En cuanto al crecimiento del disco, se ha evaluado que el crecimiento del margen del disco presenta procesos de expansión y retracción (Beneventi, 2012).

Las frondas tienen un estipe alargado y canaliculado y una lámina delgada de forma lanceolada (Santelices, 1989), aunque no es raro encontrar láminas con dicotomías. La longitud de las frondas es variable. Se ha reportado que las frondas pueden llegar a medir hasta 30 cm de longitud y 5 cm de ancho (Santelices 1989; Hoffmann & Santelices, 1997), aunque en estudios cuantitativos se reportan valores de hasta solo 20 cm de longitud en Chile central (Hannach & Santelices, 1985). En la zona sur se reportan valores de hasta 16 cm (Gómez & Westermeier, 1991), no obstante este último caso se refiere a recrecimiento de láminas luego de un experimento de cosecha. Por otra parte, en un estudio del potencial reproductivo de *M. laminarioides*, se reportaron láminas de hasta 160 cm<sup>2</sup> de superficie (Santelices & Martínez, 1997). Debido a que *M. laminarioides* es una lámina lanceolada, presenta pocos caracteres aparte de la longitud y ancho de la fronda, que pueden ser medidos.

Como muchas macroalgas intermareales, la morfología de *M. laminarioides* es variable. La longitud de las láminas aumenta leve pero claramente desde las zonas intermareales altas a las zonas bajas (Obs. Pers). Sin embargo, se ha observado que en algunos lugares es posible encontrar láminas de longitud notoriamente mayor (FIGURAS 1 y 2). En las zonas intermareales bajas de roqueríos afectados por arena individuos de *M. laminarioides* con láminas que pueden alcanzar una longitud de más de 50 cm y hasta 9 cm de ancho (Obs. pers.) en comparación a las de roqueríos sin influencia de arena (Fuentealba, 2006). Estos roqueríos ocurren adyacentes a playas de arena y estacionalmente algunas superficies pueden quedar parcial o completamente cubiertos por arena (Jaramillo, 1978; Lobban & Harrison, 1997). Al mismo tiempo, las superficies rocosas en la zona del límite del banco de arena están expuestas a abrasión por este sedimento, dependiendo de la exposición al oleaje y la estación del año (Jaramillo, 1978). De hecho, existen especies que

comunmente pueden encontrarse en estas condiciones y que pueden tolerar el efecto de la arena (Daly & Mathieson, 1977; Anderson et al., 2008).



FIGURA 1:

Láminas de *M. laminarioides* observadas en roqueríos con arena (a y b) y sin influencia de arena (c).

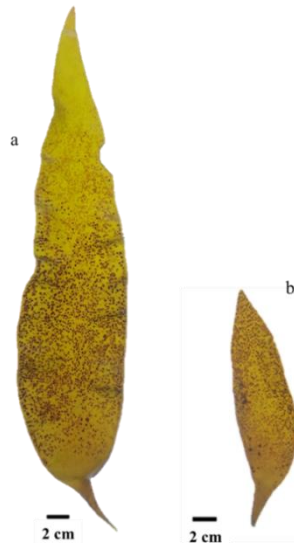


FIGURA 2:

Láminas de *M. laminarioides* provenientes de zonas bajas de roqueríos con arena (a) y sin influencia de arena (b).

Varias explicaciones pueden ser propuestas para explicar la ocurrencia de láminas largas de *M. laminarioides* en roqueríos con influencia de arena. Una primera explicación es que las láminas

largas que crecen en roqueríos con arena y las láminas de menor longitud de sitios sin arena corresponden a especies diferentes. Como se indicó más arriba, en un estudio amplio de la estructuración genética de *M. laminarioides*, Montecinos et al. (2012) encontraron tres clados parapátricos distribuidos a lo largo de la costa de Chile. No obstante, si los talos largos de *M. laminarioides* están presente sólo en las áreas con ocurrencia de arena, formando pequeños parches marginales, es probable que no hayan sido incluidos en ese estudio. Por lo tanto, es necesario comparar que las muestras de morfologías distintas y provenientes de roqueríos con y sin influencia de arena corresponden a la misma especie (ver Hipótesis 1).

Otras explicaciones para dar cuenta de la existencia de individuos de láminas largas de *M. laminarioides* en roqueríos con arena podrían resultar del efecto de factores externos al individuo los cuales pueden ser físicos o biológicos. (Shibneva & Skriptsova, 2015). Entre los factores físicos más examinados se encuentran la luz (e.g., (D'Antonio & Gibor, 1985; Perrone & Felicini, 1993; Felicini & Perrone, 1970; Lobban & Harrison, 1997; Haring & Carpenter, 2007), la temperatura (Buschmann et al., 2004), la desecación (Bell, 1995; Flores-Molina et al., 2014), la salinidad (Rietema, 1995; Buschmann et al., 2004) y la exposición al oleaje (Gutierrez & Fernández; 1992; Buschmann et al., 2004; D'Amours & Scheibling, 2007). Otro factor físico que podría estar relacionado con la ocurrencia de parches de láminas largas es el efecto de la arena. En los roqueríos que son invadidos periódicamente por arena, la acumulación de la arena está dada principalmente por las olas, las mareas y la topografía (Short, 1996). Los talos que crecen en superficies rocosas con influencia de arena, podrían ser afectados de dos maneras. Por una parte, está el efecto de enterramiento, que sigue el ritmo estacional del movimiento de los sedimentos (Aubrey, 1979; Little & Kitching, 1996). En verano, el nivel de la arena tiende a aumentar, mientras que, en otoño y primavera, es menor (Daly & Mathieson, 1977), siendo removida en invierno (Aubrey, 1979). Por otra parte, los talos pueden ser abradidos por la acción conjunta de la arena y el oleaje (Daly & Mathieson, 1977; Lobban & Harrison, 1997).

Adicionalmente a las condicionantes físicos, factores biológicos también podrían afectar la morfología de macroalgas, como por ejemplo, la herbivoría (Lewis et al., 1987; Diaz-Pulido et al., 2007), el efecto de epifitos y endófitos (Apt, 1984; Correa et al., 1993; Correa et al., 1997; Ogandaga et al., 2016), así como también la competencia (Carpenter, 1990; Piazzi & Ceccherelli, 2002). Entonces, si los factores físicos y/o biológicos afectan la morfología de las láminas de *M. laminarioides*, se esperaría que al transplantar talos en forma recíproca entre roqueríos con y sin arena la morfología resulte modificada (ver Hipótesis 4).

Aparte de los factores biológicos externos, algunos factores propios de estos organismos, también pueden afectar la morfología, como lo son las fases del ciclo de vida y el sexo (Lubchenco & Cubit, 1980; Littler & Littler, 1980; Bessho & Iwasa, 2009; Schagerström & Kautsky, 2016). El ciclo de vida de *M. laminarioides* incluye tres tipos de individuos de vida libre con similar morfología, los tetraesporofitos y los dos tipos de gametofitos (masculinos y femeninos) (Santelices, 1989). No obstante, a pesar de que el ciclo de vida es descrito como isomórfico, se han reportado leves diferencias en la longitud entre los talos de las dos fases (Hannach & Santelices, 1985). Entonces, para descartar que la fase o sexo (i. e., el tipo de individuo de vida libre) esté relacionada con la diferencia en longitud de las láminas en sitios con arena, se muestrearon tanto láminas esporofíticas como gametofíticas en roqueríos con o sin influencia de arena (ver Hipótesis 2).

Otra alternativa ha sido sugerida recientemente para explicar las formas de *Chondracanthus chamissoi*. En esta especie se reconocen las formas *lessonii* y *chauvinii*, que se distinguen por caracteres morfométricos del talo como el grosor, el ancho y el número de espinas (Rodríguez & Otaíza, 2020). La explicación propuesta se relaciona con el origen del talo, ya sea primario (desde esporas) o secundario (desde estructuras de adhesión secundaria) (Rodríguez, 2018; ver también Perrone & Felicini, 1972; Felicini & Perrone, 1972; Perrone-Pesola & Felicini, 1981; Perrone & Cecere, 1997). Esta explicación alternativa se refiere al origen de los primordios que crecen a láminas. En un trabajo experimental hecho en *Schottera nicaeensis* (= *Petroglossum nicaeense*) en el cual se realizaron diferentes tipos de secciones en distintas partes de las láminas, se describieron dos tipos de rebrotes: las proliferaciones y las regeneraciones (Perrone & Felicini, 1972; Perrone & Felicini, 1976; Perrone & Cecere, 1997). Las proliferaciones se definen como brotes corticales

exógenos que crecen como resultado de la reanudación de la actividad meristemática de algunas células terminales de ramas de crecimiento limitado. En cambio, las regeneraciones son brotes a partir de de-diferenciación de células de la médula, donde no hay corteza. Las regeneraciones se producen en respuesta a un daño o herida causada en el talo y generan estructuras de morfología diferente (Perrone & Felicini, 1972; Perrone & Cecere, 1997). Es decir, en *S. nicaeensis*, la morfología de los rebrotes resultó dependiente del tejido desde el cual crecieron. Mientras las proliferaciones se originaron desde tejido cortical produciendo estructuras con morfología similar al talo erecto, las regeneraciones crecieron desde tejido medular produciendo estructuras más cilíndricas y alargadas, afines a ejes rizomatozos (Perrone & Felicini, 1972).

En *M. laminarioides*, la estructura que producen los rebrotes no es la lámina sino el disco basal (Santelices & Norambuena, 1987; Gómez & Westermeier, 1991; Westermeier et al., 1987; Beneventi, 2012). Entonces, los discos que crecen en roqueríos afectados por arena pueden ser abrasidos o permanecer enterrados por un tiempo suficiente como para producir daño en sus tejidos. En esta tesis se propone que los rebrotes producidos desde los discos que crecen sin influencia de arena producirían láminas de morfología y longitud comúnmente visibles en los roqueríos. Estos rebrotes corresponderían a “proliferaciones” ya que generarían estructuras con morfología similar a la lámina. En cambio, los rebrotes que crecen a partir de tejidos cicatrizados en discos afectados por la arena, corresponderían a “regeneraciones” y producirían las láminas largas. Es decir, los discos que no han sufrido abrasión producirían láminas “comunes” mientras que los que han regenerado tejidos luego de abrasión producirían láminas “largas” (ver Hipótesis 5). Este sería el mismo argumento propuesto por (Rodríguez & Otaíza, 2020) para explicar las dos formas de *C. chamissoi*. (ver más arriba).

## HIPÓTESIS

### Hipótesis General

En zonas bajas de roqueríos intermareales influenciados por abrasión por arena, las láminas de *Mazzaella laminarioides* presentan una morfología diferente a las láminas de roqueríos sin influencia de arena debido a que se producen como rebrotes a partir de discos con sectores regenerados luego de abrasión por arena.

### Hipótesis Específicas

- H1: Las láminas provenientes de zonas con y sin influencia de arena corresponden a la misma especie.
- H2: La morfología de las láminas de los tipos de individuos de vida libre *M. laminarioides* difiere entre las zonas bajas de roqueríos con y sin influencia de arena.
- H3: Los roqueríos con y sin influencia de arena donde crece *M. laminarioides* difieren en la composición de especies.
- H4: Las condiciones ambientales presentes en el lugar donde crece *M. laminarioides* afecta la morfología de las láminas.
- H5: Láminas de *M. laminarioides* que rebrotan desde tejidos regenerados luego de abrasión presentan una morfología diferente a las que crecen desde tejido sin abrasión.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Explicar la causa de la diferencia en la morfología de las láminas de *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinaceae) en zonas bajas de roqueríos con y sin influencia de arena.

### Objetivos Específicos

- O1: Determinar mediante análisis molecular si las láminas provenientes de zonas con y sin influencia de arena corresponden a la misma especie.
- O2: Comparar la morfología de las láminas de los tipos de individuos de vida libre de *M. laminarioides* en zonas bajas de roqueríos con y sin influencia de arena.
- O3: Comparar la composición de especies que ocurren como biota acompañante de *M. laminarioides* en zonas bajas de roqueríos intermareales con y sin influencia de arena.
- O4: Comparar la morfología de las nuevas láminas que han crecido desde discos sometidos a trasplantes recíprocos entre zonas con y sin arena.
- O5: Comparar la morfología de las nuevas láminas que han crecido desde zonas no abrasadas del disco y zonas sometidas experimentalmente a abrasión.
- O6: Comparar la histología de discos basales de individuos de láminas largas y de individuos de láminas comunes.

## MÉTODOS

### Sitios de estudio

Los sitios de muestreo fueron ubicados en cinco localidades dentro de la Región del Biobío: Desembocadura del río Biobío, Merquiche, Chome, Coliumo y Playa Negra de Coronel (FIGURA 3; TABLA 1). Todos estos sitios presentaban roqueríos, y algunos de ellos también presentaban playas de arena. Los sitios abarcaban roqueríos intermareales desde expuestos a semi-protégidos del oleaje y con exposición directa al sol (TABLA 2).

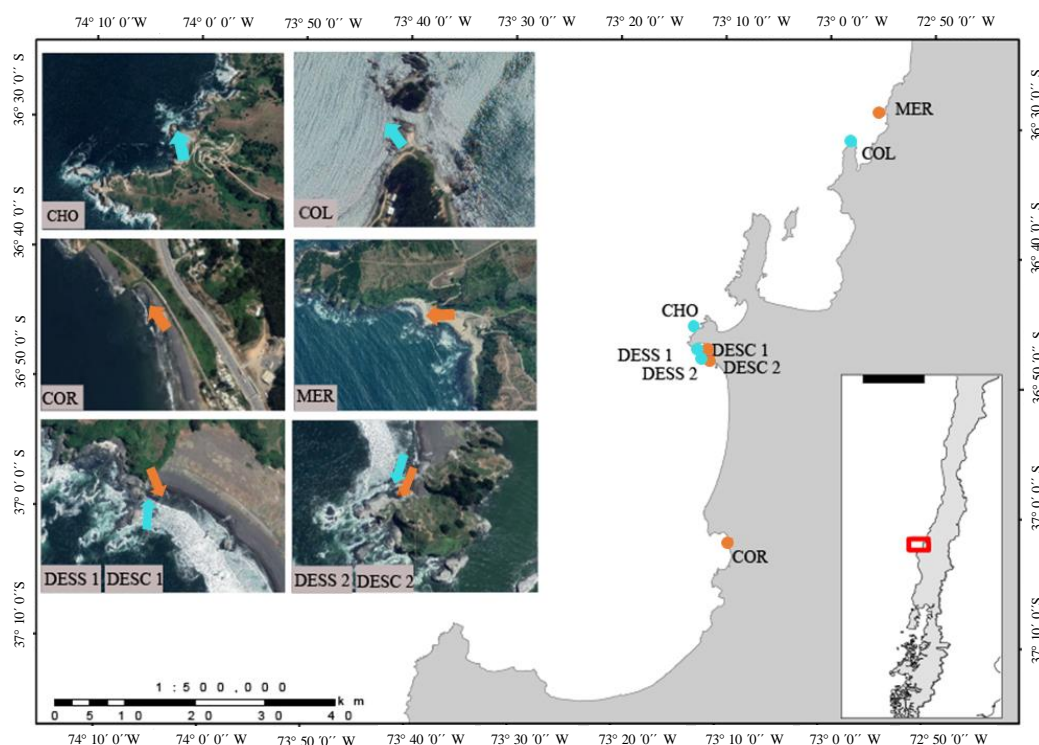


FIGURA 3:

Sitios de muestreo ubicados en la región del Biobío. Se indica la ubicación de Merquiche (MER), Coliumo (COL), Chome (CHO), Coronel (COR) y los Sitios 1 y 2 de la Desembocadura del río Biobío con arena (DESC 1 y DESC 2) y sin arena (DESS 1 y DESS 2). Las flechas y puntos de color azul y naranja indican los sitios sin arena y con arena, respectivamente.

Los muestreos fueron realizados en roqueríos en dos tipos de condiciones: roqueríos comunes sin arena y roqueríos afectados por arena. Los sitios sin arena (Chome, Coliumo y Sitios 1 y 2 de la Desembocadura) correspondían a roqueríos intermareales los cuales no tenían presencia de arena en forma directa en sus superficies. Estos roqueríos se encontraban a una distancia de al menos 10 m desde los bordes de los bancos de arena intermareales más cercanos y, cuando la arena estaba más cerca del roquerío, esos eran bancos de arenas submareales. Estos roqueríos presentaban una franja intermareal con organismos típicos de las zonas intermareales rocosas descritas para Chile central. La zona superior estaba dominada por el cirripedio *Jehlius cirratus*, mientras que la zona media estaba dominada por la banda de *Perumytilus purpuratus*. La zona baja se caracterizaba por la presencia de algas coralináceas crustosas y frecuentemente presentaba la típica banda de *Lessonia spicata* y *Durvillaea incurvata*, con la presencia ocasional de *Sarcothalia crispata*. La presencia de roca desnuda fue frecuente solo en la zona alta, mientras que en la zona media y baja, diversos organismos cubrían casi la totalidad de la superficie.

En estos roqueríos, *Mazzaella laminarioides* era abundante en una banda que se extendía desde la zona inferior de la banda de *J. cirratus* hasta la zona inferior de la banda de *P. purpuratus*. Junto con *M. laminarioides*, otras algas eran también frecuentes, como *Ulva* spp, *Pophyra/Pyropia* sp., *Gelidium lingulatum* y Ceramiales. La presencia de estos organismos en estas zonas es similar a lo que ha sido descrito (Guiler, 1959; Durán & Castilla, 1989; Santelices, 1990; Alvarado & Castilla, 1996; Ramírez & Osorio, 2000).

Los sitios con arena (Merquiche, Sitios 1 y 2 de la Desembocadura y Coronel) correspondían a roqueríos intermareales flanqueados por playas de arena. Las superficies afectadas por la abrasión o enterramiento por arena se distinguían como una banda angosta en la zona intermareal baja de algunos roqueríos. En estos roqueríos el principal organismo sésil en la zona alta era *J. cirratus*, con abundante presencia de roca desnuda. En estos roqueríos *Lessonia spicata* o algas coralináceas crustosas estaban ausentes.

TABLA 1

Lista de los sitios con y sin arena muestreados en este estudio y sus coordenadas geográficas.

Condición	Sitio	Código	Coordenadas
Sin arena	Coliumo	COL	36°31'35" S, 72°57'21" O
	Chome	CHO	36°46'24" S, 73°12'43" O
	Desembocadura S1	DESS 1	36°48'25" S, 73°10' 34" O
	Desembocadura S2	DESS 2	36°48'44" S, 73°10' 29" O
Con arena	Merquiche	MER	36°29'03" S, 72°54'30" O
	Desembocadura S1	DESC 1	36°48'24" S, 73°10' 33" O
	Desembocadura S2	DESC 2	36°48'44" S, 73°10' 29" O
	Coronel	COR	37°03'13" S, 73°08'30" O
<b>Muestreo complementario</b>			
Sin arena	Desembocadura S3	DESS 3	36°48'23" S, 73°10' 37" O

TABLA 2

Características físicas y época de colecta de las láminas de los sitios muestreados en este estudio para cada condición (con y sin arena).

Sitio	Época de colecta	Orientación	Exposición al oleaje	Exposición al sol	Tipo de roca	Pendiente (°) ( $\pm$ DE)
Coliumo	primavera	oeste	semi-protégido	directa	bolones, roca madre (granito)	48 $\pm$ 14,48
Chome	invierno [verano]	noreste	expuesto	directa	roca madre (arenisca)	17,2 $\pm$ 9,48
Desembocadura S1	primavera	oeste	expuesto	directa	roca madre (pizarra)	6,6 $\pm$ 2,47
Desembocadura S2	primavera	noroeste	expuesto	directa	planchón de roca (pizarra)	16 $\pm$ 4,41
Merquiche	invierno	oeste	expuesto	directa	canalones en roca madre (pizarra)	19 $\pm$ 8,38
Desembocadura S1	primavera	suroeste	semi-protégido	intermedio	roca madre (pizarra)	14 $\pm$ 4,58
Desembocadura S2	primavera	noroeste	semi-protégido	directa	roca madre, bolones (pizarra)	16 $\pm$ 1,96
Coronel	[otoño] primavera	oeste	expuesto	directa	roca madre (arenisca)	9 $\pm$ 2,24
<b>Muestreo complementario</b>						
Desembocadura S3	[otoño]	noroeste	expuesto	dierecta	roca madre (pizarra)	5,7 $\pm$ 0,7

Los sitios muestreados presentaban algunas diferencias en cuanto a varias características abióticas, independiente de si se trataban de sitios con o sin arena (TABLA 2). Por ejemplo, el tipo de roca podía ser sedimentaria (pizarra o arenisca), o ígnea (granito). En cuanto a la exposición a las marejadas dominantes del suroeste, algunos sitios eran más protegidos mientras que otros estaban más directamente expuestos a éstas (FIGURA 3). Estas diferencias dependían de la posición del sitio a lo largo de la línea de costa, particularmente si estaban dentro de una bahía. En cuanto a exposición al oleaje, diferían en relación a la presencia de roqueríos cercanos a la costa que actuaban como rompeolas. Incluso, algunos sitios tenían una banda de bolones hacia la zona del mar. Todos los sitios presentaban amplia exposición a la radiación solar directa, aunque en algunos casos, los sitios podían recibir sombra más temprano que otros.

#### *Colecta de láminas*

Para evaluar la morfología, se colectaron las láminas fueron colectadas en la zona baja de roqueríos con y sin arena. En Chome, Coliumo, Coronel y Merquiche, los roqueríos correspondían sólo a una condición cada uno. En cambio, cada uno de los dos sitios de la Desembocadura presentaba roqueríos con y sin arena (TABLA 1). Estos dos sitios estaban a una distancia lineal de 600 m entre sí. Las láminas fueron obtenidas entre julio y diciembre de 2019. En Chome y Merquiche el muestreo fue realizado en invierno, y en Coliumo, Coronel y la Desembocadura las muestras fueron obtenidas en primavera (TABLA 2). En cada sitio se colectaron al menos 35 láminas de gametofitos femeninos y una cantidad similar de tetraesporofitos. En el caso del gametofito masculino no fue posible obtener suficientes ejemplares en todos los muestreos ya que eran escasos o las láminas usualmente no estaban completas, por lo tanto, no se incluyeron para los análisis de comparación morfológica. Para asegurar que el muestreo fuera de individuos diferentes, cada lámina fue obtenida desde un disco diferente. Para estandarizar el tamaño y, considerando que muchas láminas desarrolladas de *M. laminarioides* están cortadas, se seleccionó la lámina más larga que estaba completa, i.e., con el ápice completo. Las láminas fueron transportadas en bolsas plásticas rotuladas al Laboratorio de Algas de la Universidad Católica de la Santísima

Concepción (UCSC). Las láminas fueron mantenidas en refrigerador (4°C) hasta ser procesadas, antes de 48 h.

### **Muestreos complementarios**

Aparte de los muestreos ya descritos, se analizaron láminas provenientes de muestreos complementarios. Uno de estos muestreos permitió evaluar el efecto de la altura vertical de la banda sobre el tamaño de las láminas de *M. laminarioides*. Este muestreo fue realizado durante otoño en un nuevo sitio (Sitio 3 sin arena) de la Desembocadura (datos facilitados por Castillo 2019). El muestreo consideró tres niveles (nivel superior, medio e inferior) de la banda de *M. laminarioides*. La técnica de muestreo fue la misma que fue aplicada en los muestreos ya descritos, colectando láminas completas de discos diferentes en cada nivel de la banda de *M. laminarioides*, e incluyendo los tres tipos de individuos de vida libre. En total, se usaron 190 láminas.

Debido a que los muestreos ya descritos no pudieron ser hechos en una misma época, cualquier diferencia encontrada podría estar dada por un efecto de la estacionalidad. Sin embargo, algunos muestreos preliminares o complementarios permitieron comparar el efecto de la estacionalidad. En Coronel, se realizó un muestreo preliminar en otoño 2019, sin embargo, dado que el número de muestras fue bajo en comparación con los otros sitios, no se incorporó en los análisis antes mencionados, pero permitió realizar comparaciones entre otoño-primavera en un mismo sitio. Por lo tanto, se realizó una comparación de las variables longitud total, ancho de lámina y la relación longitud total/ancho de lámina de esporofitos y gametofitos femeninos en ambos muestreos. En total, se utilizaron 86 láminas.

En la Desembocadura, las láminas del nivel inferior de la banda de *M. laminarioides* del muestreo realizado en otoño en el Sitio 3 (complementario) fueron comparadas con el muestreo de primavera del nivel inferior del Sitio 1 sin arena de la Desembocadura dada su cercanía con el Sitio 3. Entonces se realizó una comparación para otoño-primavera con estos datos.

Por otra parte, el muestreo de Chome se realizó en invierno. En verano 2020 se realizó un muestreo complementario en este sitio para comparar el tamaño de las láminas entre invierno-verano.

En resumen, con estos muestreos complementarios se realizaron comparaciones en relación a las estaciones invierno-verano (Chome) y primavera-otoño (Coronel y Desembocadura), y en relación a la altura de la banda (Sitio 1 y 3 de la Desembocadura). Las comparaciones se realizaron a través de ANDEVAs. Para el efecto de la estacionalidad, el análisis de varianza fue de dos vías con los factores Tipo de individuo de vida libre con dos niveles, y el factor Estación del año con dos niveles, ambos de efectos fijos. Para el efecto de la altura vertical de la banda se incluyeron los tres tipos de individuos de vida libre (gametofito masculino y femenino, y el esporofito). El análisis de varianza fue de dos vías, con el factor Nivel con tres niveles y el factor Tipo de individuo con tres niveles, ambos de efectos fijos. Las variables respuesta incluidas para estos análisis fueron la longitud total, ancho de lámina, relación longitud total/ancho de lámina.

#### *Evaluación de la altura intermareal y pendiente de los sitios*

Dado que la altura intermareal podría afectar el tamaño de las láminas de *M. laminarioides*, se evaluó la altura intermareal de la franja muestreada usando el método de Emery (Emery, 1961). Estas mediciones se realizaron en todos los sitios de muestreo. La medición se realizó en tres niveles los cuales fueron, el nivel superior e inferior de la banda de *M. laminarioides* y el nivel superior de la franja colectada. Para cada nivel se realizaron cuatro mediciones de altura, las cuales fueron corregidas a la altura absoluta. Para comparar la altura se realizó un análisis de varianza de dos vías, con el factor Condición como factor de efecto fijo, con dos niveles (con y sin arena), y el factor Sitio como factor de efecto aleatorio, anidado en Condición, y con cuatro niveles (Chome, Coliumo, Sitio 1 y 2 de la Desembocadura sin arena y Coronel, Merquiche y el Sitio 1 y 2 de la Desembocadura con arena). Para cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianza los datos debieron ser transformados (transformación logarítmica (Zar, 2010). Para el análisis se utilizó el programa estadístico STATISTICA 7 (StatSoft, Inc, 2004, OK, Estados Unidos).

Para la evaluación de la pendiente de los roqueríos muestreados se cuantificó la diferencia en altura de la banda de *M. laminarioides* que fue efectivamente muestreada utilizando el método de Emery (Emery, 1961). Al mismo tiempo se determinó la distancia horizontal entre los dos puntos evaluados. Con estos valores se determinó la pendiente, en grados, a través de la aplicación del teorema de Pitágoras. La pendiente se evaluó en cuatro puntos en cada sitio muestreado.

## **Análisis molecular**

Para evaluar si las láminas de sitios con y sin arena corresponden a la misma especie, se realizó el análisis genético de muestras provenientes de roqueríos con y sin arena (TABLA 1). Se utilizaron láminas de gametofitos femeninos obtenidas en los muestreos usados para la descripción morfológica, considerando cinco láminas por tratamiento. Para la Desembocadura solo se analizaron láminas del Sitio 1 con y sin arena.

Las láminas fueron limpiadas cuidadosamente para eliminar la fauna acompañante y posibles epifitos. De cada lámina se cortó un trozo de tejido evitando las estructuras reproductivas. Los trozos del tejido de cada lámina fueron colocados en una bolsa plástica hermética con sílica gel para su deshidratación. El análisis molecular fue realizado en el laboratorio de Ecología Molecular de la UCSC. Los trozos se trituraron con una tijera estéril en el interior de un tubo Eppendorf estéril de 1,5 mL, previamente rotulado. Luego, se procedió a realizar la extracción de ADN con el Kit GenJET Genomic DNA Purification (Thermo Scientific™) siguiendo el protocolo del fabricante. Posteriormente, el ADN fue almacenado a -20°C hasta el momento de la amplificación.

Para el análisis se utilizó el marcador del gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI), el cual tiene una sensibilidad adecuada para delimitar especies, particularmente en Gigartinales (Clarkston & Saunders, 2010). La amplificación fue realizada con la reacción de la cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction, PCR). Para esta reacción, se utilizaron los partidores diseñados por Saunders (2005) y utilizados en *M. laminarioides* (Montecinos et al., 2012) (GazF1: 5' TCAACAAATCATAAAGATATTGG 3' y GazR2: 5' ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA 3'), utilizando las siguientes condiciones: 2 min a 94°C, seguido de 40 ciclos a 94°C por 15 s, 45°C por 30 s y 72°C por 1 min y una etapa final a 72°C por 4 min. Los productos PCR amplificados se enviaron a secuenciar usando el partidador GazF1 a Macrogen Inc (Seúl, Corea del Sur). Luego, las secuencias obtenidas fueron editadas y alineadas utilizando el programa Geneious 7.1.3 ([www.geneious.com](http://www.geneious.com), Kearse et al., 2012) para ser analizadas mediante BLAST (Altschul et al., 1990). Esto permitió identificar si las secuencias coincidían con otras secuencias presentes en la base de datos GenBank, determinando la especie a la cual correspondía cada secuencia a través del porcentaje de identidad.

Para caracterizar la diversidad genética del conjunto de las secuencias, se identificó el número de sitios polimórficos (S), la diversidad haplotípica (H), que se refiere a la probabilidad de que los haplotipos elegidos al azar sean diferentes, y la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), que es la probabilidad de que dos sitios de nucleótidos elegidos al azar sean diferentes (Nei, 1987). Estos parámetros se determinaron con el programa DNA Sequence Polymorphism ver. 5.10.01 (DnaSP) (Librado & Rozas, 2009). Con las secuencias obtenidas en este estudio y las de Montecinos et al. (2012) se determinó el número de haplotipos. Estos haplotipos fueron visualizados a través de una red de haplotipos realizada con el programa PopART (Leigh & Bryant, 2015). Dado que los haplotipos obtenidos en este estudio mostraron corresponder al clado Centro de Montecinos et al. (2012), la red se realizó considerando únicamente este clado, es decir, incorporando los haplotipos C9, C10, C11, C12, C13 y C14.

Asimismo, para comparar las secuencias obtenidas en este estudio junto con las de Montecinos et al. (2012) se realizó un árbol filogenético. Para la construcción filogenética se incluyeron todos los haplotipos descritos por Montecinos et al. (2012) desde el norte hasta el sur de Chile. El modelo de sustitución fue elegido usando al Criterio de Información Akaike a través de jModelTest ver. 2.1.10 (Darriba et al., 2012), resultando TrN + I. El árbol fue realizado con el método Máxima Verosimilitud (ML) a través de IQtree (Trifinopoulos et al., 2016) utilizando el modelo determinado en el jModelTest. Para el soporte de los nodos se realizaron 1000 pseudoréplicas bootstraps (Hoang et al., 2018). Para el análisis se incluyó una muestra de *M. membranacea* proveniente de los roqueríos con arena, dado que es una especie que está presente en el parche donde se encuentran las láminas largas de *M. laminarioides* en los sitios con arena. Como grupos externos, se incluyeron secuencias de las especies *M. affinis* (AY970577) y *M. splendens* (AY970623) obtenidas del GenBank (ver ANEXO 1).

### **Comparación morfológica de láminas de *M. laminarioides***

#### *Análisis morfométrico tradicional*

En el laboratorio, las láminas colectadas fueron separadas según el tipo de individuo reconociéndolas a través de las estructuras reproductivas visibles a ojo desnudo (soros

tetrasporangiales y cistocarpos). Estas fueron y limpiadas con agua de mar para ser fotografiadas, descartando aquellas que presentaban cortes o deformaciones anómalas. Cada lámina fue fotografiada individualmente sobre una mesa de luz orientando el canal del estipe hacia arriba manteniendo la lámina aplanada con una fuente de vidrio, e incluyendo también una regla a modo de escala para la estandarización de la evaluación del tamaño. Para las fotografías se usó una cámara digital (SONY, DSC-TF1, China). A partir de las imágenes digitales se realizaron las siguientes mediciones (FIGURA 4). (1) longitud total, considerando la longitud de la lámina y el estipe; (2) longitud del estipe, medido desde la base del estipe hasta donde el grosor del estipe se iguala al grosor de la lámina (Shaughnessy, 1996); (3) ancho del estipe, medido en la zona media y superior de la longitud de éste; (4) ancho de la lámina, estimado en la parte más ancha de la lámina, perpendicular al eje principal. A partir de la longitud total y el ancho de la lámina se determinó el cociente entre ambas variables.

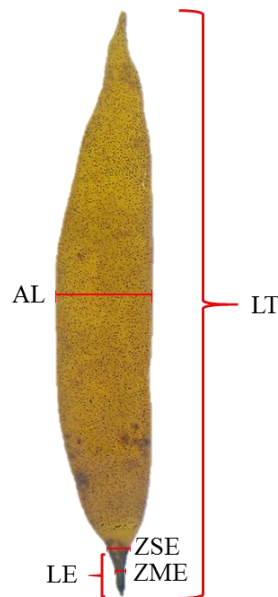


FIGURA 4:

Caracteres morfométricos de las láminas de *M. laminarioides* para el análisis de morfometría tradicional. LT: longitud total; AL: ancho máximo de lámina; ZSE: zona superior del estipe; ZME: zona media del estipe; LE: longitud del estipe.

Para evaluar la curvatura del estipe, desde cada lámina se removió un fragmento en la mitad de la longitud del estipe. Estos fragmentos fueron fotografiados a través de un microscopio estereoscópico (Leica-EZ4E) de forma frontal, dejando visible la médula y la corteza (ver FIGURA 5). Todas las fotografías fueron calibradas usando una reglilla. A partir de estas fotografías se determinó un índice para caracterizar la curvatura del canal del estipe. Usando el programa analizador de imágenes ImageJ 1.46r (NIH, Estados Unidos), se midió la longitud del arco y de la cuerda a lo largo de la superficie cortada, y el índice correspondió al cociente entre el arco y la cuerda (FIGURA 5) (Rodríguez & Otaíza 2020). Un valor igual a 1 indica que el estipe es plano, mientras que valores mayores a 1 indican diferentes grados de curvatura. En las mismas fotografías se midió el grosor del estipe en su parte media (FIGURA 5).

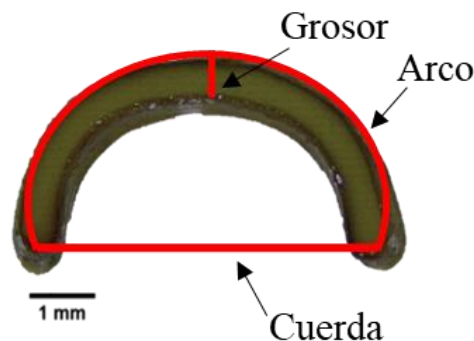


FIGURA 5:

Esquema de las mediciones para la determinación del índice de curvatura (IC) y la medición del grosor del estipe. Se indica el arco y la cuerda en base a los cuales se calculará el índice de curvatura.

Para evaluar la importancia relativa de cada una de estas variables en la morfología de las láminas, se realizó Análisis de Componentes Principales (PCA). Para este análisis se incluyeron dos tipos de individuo de vida libre (gametofito femenino y esporofito), la condición (con o sin arena), y el sitio. Las variables que resultaron importantes en el PCA fueron analizadas posteriormente en forma individual con análisis de varianza (ANDEVA) de tres factores, mixto, con el factor Condición con dos niveles (con o sin arena) como factor de efecto fijo, el factor Sitio

con cuatro niveles, anidado en Condición como factor de efecto aleatorio, y el factor Tipo de individuo de vida libre con dos niveles como factor de efecto fijo, cruzado con los anteriores. Cuando fue necesario, se aplicaron transformaciones para cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Zar, 2010). Las diferencias encontradas fueron exploradas con la prueba *a posteriori* de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ . Estos análisis fueron realizados con el programa estadístico STATISTICA 7 (StatSoft, Inc, 2004, OK, Estados Unidos).

Aparte de la comparación de promedios se exploró la distribución de frecuencias de las variables medidas para contrastar los sitios con y sin arena. Esto se realizó sólo para la Desembocadura dado que solo los dos sitios de esta localidad presentaban ambas condiciones (con y sin arena) y fueron muestreados en el mismo momento. Se comparó la distribución de frecuencia para las variables longitud total, ancho de láminas, y la relación longitud/ancho de lámina, por separado, para cada tipo de individuo de vida libre (gametofito femenino y esporofito). Las comparaciones fueron realizadas con la prueba para dos muestras de Kolmogorov-Smirnov (Siegel, 1956).

#### *Análisis de Morfometría Geométrica (MG)*

La morfología de las láminas también fue comparada a través de una aproximación de Morfometría Geométrica (MG). Esta técnica permite evaluar diferencias en la forma y visualizarla en un espacio geométrico con el uso de puntos de referencia (landmarks) (Bookstein, 1992). Para este análisis se incluyeron los gametofitos femeninos y esporofitos. Dado que las láminas presentan solo dos puntos homólogos, base y ápice, a partir de cada imagen digital se establecieron 31 puntos de referencia equidistantes, los cuales fueron colocados a lo largo del margen de cada lámina (Pollicelli, 2018), lo que brinda información completa de la forma de cada una de ellas (FIGURA 6).



FIGURA 6:

Puntos de referencia (landmarks) para el análisis morfometría geométrica de láminas de *M. laminarioides*.

Para la digitalización de las láminas se utilizó el programa TPSdig2 (Rohlf, 2006). Posteriormente, a los puntos de referencia se les realizó el análisis de Procrustes (Goodall, 1991; Bookstein, 1996) que consistió en remover la variación del tamaño, posición y orientación (Klingenberg, 2013). A partir de este análisis se obtuvieron coordenadas que se analizaron en el programa MorphoJ (Klingenberg, 2011). Con este programa se obtuvo una matriz de covarianza para los análisis posteriores. Para evaluar si había diferencias en la forma de las láminas, se realizó un análisis de varianza multivarido permutacional (PERMANOVA) con las coordenadas Procrustes (Goodall, 1991; Klingenberg & McIntyre, 1998). La forma se refiere a todas las características geométricas de un objeto excepto el tamaño, la posición y la orientación (Klingenberg, 2016). El diseño para el análisis estadístico fue anidado, con los factores Condición con dos niveles (con o sin arena) como factor de efecto fijo y el factor Sitio con cuatro niveles, anidado en Condición como factor de efecto aleatorio. El análisis se realizó para cada tipo de individuo por separado a través del software PRIMER v6.1.6 con PERMANOVA.

Dado a que el tamaño puede tener un efecto sobre sobre la forma, se evaluó el efecto alométrico para cada tipo de individuo (gametofitos femeninos y esporofitos) (Klingenberg,

2016). Esto se realizó a través de un análisis de regresión multivariada. Para esta regresión se utilizó como variable independiente el tamaño del centroide (Centroid size) y como variable dependiente la forma. A través de los residuales de esta regresión se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) con el tamaño corregido (Klingenberg, 2016). La visualización de la forma de las láminas fue realizada a través de gráficos de tipo wireframe que consisten en conectar los puntos de referencia a través de líneas rectas (Klingenberg, 2013). Esto se realizó para las formas extremas en los componentes 1 y 2 del PCA.

Como la digitalización de los puntos de referencia puede tener un efecto individual de la medición de cada lámina, 80 láminas fueron digitalizadas dos veces. A través de estas digitalizaciones se determinó el efecto del error al momento de colocar los puntos de referencia. Esto se llevó a cabo a través de un análisis de varianza en el programa MorfoJ. Si el efecto individual de cada medición es menor al cuadrado medio del individuo, la variación de las láminas se ajusta a los datos ya que se encuentran en orden de magnitud mayor que el error dado por la digitalización de cada imagen. Para visualizar el grado de variación se realizó un PCA.

### **Descripción de la composición de especies de zonas bajas de roqueríos con y sin arena**

Para describir las zonas bajas de roqueríos con y sin influencia de arena donde se tomaron las muestras de *M. laminarioides*, se evaluó la cobertura de esta especie y la biota acompañante. Dado que *M. laminarioides* presenta láminas foliosas que a veces cubren otros organismos que están presente en estratos inferiores, se evaluó la cobertura relativa de dos formas. Primero, se evaluó la cobertura de la forma estándar considerando los organismos vistos desde arriba (superficie superior) y luego, en los mismos cuadrantes se midió la cobertura del segundo nivel (superficie inferior) que correspondió solamente en evaluar los macroinvertebrados sésiles adheridos al sustrato. En cada condición la cobertura se evaluó con 6 cuadrantes de  $25 \times 25$  cm, cada uno con 100 puntos regularmente distribuidos. Los cuadrantes se instalaron aleatoriamente en las zonas bajas de los roqueríos. Las macroalgas y macroinvertebrados sésiles fueron identificados a nivel de especie. Cuando no se tuvo la identificación a nivel de especie, estos se identificaron a nivel de género, familia u orden.

Los datos de cobertura de cada cuadrante fueron transformados a la raíz cuarta. Se obtuvo una matriz de similitud usando el índice de Bray-Curtis (Clarke, 1993). La cobertura de las macroalgas y macroinvertebrados sésiles de sitios con y sin arena fue comparada a través del análisis de varianza multivariado permutacional (PERMANOVA) (Anderson, 2001) utilizando 999 permutaciones. El diseño fue cruzado con el factor Condición (fijo con dos niveles) y el factor Sitio (aleatorio con 8 niveles, anidado en la Condición). Para la representación gráfica de los datos se realizó un análisis de Coordenadas Principales (PCoA) con las coberturas promedio de cada sitio (Gower, 1966). Para determinar las especies que aportaron más a la disimilaridad entre los sitios con y sin arena, se realizó un análisis de porcentaje de similitud (SIMPER) con los datos no transformados. Estos análisis fueron realizados a través del software PRIMER v6.1.6 con PERMANOVA incluido (Anderson, 2001; Anderson et al., 2008).

### **Experimento de trasplante recíproco de discos de *M. laminarioides***

Para evaluar si las diferencias en la morfología de las láminas se deben a los factores externos al individuo (factores físicos o biológicos) presentes en los sitios donde crece *M. laminarioides*, se realizaron trasplantes recíprocos de discos (Shaughnessy & DeWreede, 2001; Enríquez et al., 2009) entre roqueríos con y sin arena.

Para este experimento solo se usaron gametofitos femeninos. Se utilizaron cinco discos por tratamiento (20 en total) considerando las condiciones con y sin arena, y los tratamientos control (trasplante en el mismo sitio de origen). Para preparar los discos, se colectaron individuos de *P. purpuratus* que presentaran un disco de *M. laminarioides* en una de sus valvas. Una vez elegidos los choritos, se partió cada chorito y se dejó la valva que contenía el disco. Esta se limpió de los restos de tejidos blandos. Luego cada valva fue adherida en el sustrato donde se dejaría el montaje del experimento usando masilla epóxica (Súper As, Stierling). Cada valva de chorito fue identificada con un rótulo. Los discos provenientes de roqueríos con arena (donde usualmente no hay *P. purpuratus*) fueron removidos con un fragmento de roca con ayuda de cincel y martillo. Los sitios fueron preparados para recibir los trasplantes en los roqueríos. Para esto, se eligieron zonas bajas de roqueríos intermareales con y sin influencia de arena en la Desembocadura del río Biobío (36°48'43''S, 73°10'25''O).

El experimento fue revisado cada dos meses y se planificó que a las nuevas láminas se les realizarían mediciones de longitud total para evaluar si el cambio a una condición diferente generaría un cambio en la morfología.

### **Experimento de raspado de discos basales de *M. laminarioides***

Para evaluar si la forma larga se origina a partir de discos que han regenerado luego de sufrir daño por la arena, se realizó un experimento de simulación de abrasión *in situ* de los discos basales de *M. laminarioides* y su seguimiento en terreno.

El sitio de estudio se ubicó en roqueríos de la zona intermareal rocosa de la localidad de la Desembocadura del Río Biobío (36°48'43''S, 73°10'25''O). Se seleccionaron 20 discos de gametofitos femeninos de *M. laminarioides* creciendo sobre *P. purpuratus*. Los discos seleccionados fueron marcados para identificarlos en terreno. El tratamiento de raspado fue aplicado a cada disco *in situ* en terreno. Este tratamiento consistió en raspar una mitad del disco con una lija, removiendo el tejido hasta dejar sólo el hipotalo (tejido más basal del disco). La otra mitad del disco fue dejada como control y no fue manipulada. El experimento fue evaluado cada dos meses, y se tomaron fotografías de la parte raspada y de la parte control.

### **Descripción de la histología del disco basal de *M. laminarioides***

Para analizar la histología del disco basal de *M. laminarioides* y determinar la formación de los rebrotes se realizaron secciones histológicas en discos basales. Se analizaron 10 discos de sitios con arena y nueve de sitios sin arena, para un total de 19 discos. Los discos fueron enjuagados con agua destilada para eliminar los cristales de sal antes de realizar las secciones histológicas (Hommerand et al., 1992). Antes de realizar las secciones histológicas, se eliminaron las láminas y los estipes de cada disco. Luego se cortó un pequeño fragmento al que se le realizaron las secciones a mano alzada con una hojilla de afeitar perpendicularmente al margen de crecimiento (secciones anticlinales). Las secciones fueron teñidas con azul de anilina 1% y montadas con Karo® como preparaciones permanentes. A partir de las secciones histológicas, se determinó la estructura de los tejidos comparando el grosor del disco, de la cutícula, el número de capas del peritalo del centro y del hipotalo del centro y del margen. A las células que conformaron cada

capa de tejido (margen, peritalo e hipotalo) se les midió la longitud, ancho y la relación longitud/ancho. Se midieron cuatro células en cada tejido como réplicas de cada disco.

Para las variables longitud, ancho y longitud/ancho de las células se realizaron análisis de varianza con el factor Condición con dos niveles (con o sin arena) como factor de efecto fijo, el factor Disco (con siete niveles para las células del margen y nueve niveles para las células del peritalo e hipotalo) anidado en Condición como factor de efecto aleatorio y las cuatro mediciones de las células como réplicas en cada caso.

Para el grosor del disco, de la cutícula y el número de capas del peritalo y del hipotalo se realizó un ANDEVA de una vía con el factor Condición con dos niveles (con y sin arena). Cuando fue necesario, se aplicaron transformaciones para cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Zar, 2010). Las diferencias encontradas fueron exploradas con la prueba *a posteriori* de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ . Estos análisis fueron realizados con el programa estadístico STATISTICA 7 (StatSoft, Inc, 2004, OK, Estados Unidos). Por otra parte, para analizar el origen de los rebrotes de los discos y comparar entre los discos de sitios con y sin arena, se realizaron observaciones de las secciones que presentaron la etapa inicial de los rebrotes.

## RESULTADOS

### Análisis molecular

Un total de 28 muestras fueron amplificadas y secuenciadas satisfactoriamente para el marcador mitocondrial COI. El alineamiento final correspondió a 573 pares de bases (pb) de todas las secuencias obtenidas. Todas las muestras secuenciadas fueron pertenecientes a *M. laminarioides*, donde 15 de ellas tuvieron el 100% de similitud con el haplotipo C13 encontrado por Montecinos et al. (2012). Las 13 muestras restantes resultaron diferentes a todos los haplotipos encontrados por Montecinos et al. (2012), detectándose seis nuevos haplotipos, denominados C25 a C30. Los haplotipos C26 y C27 fueron frecuentes. El haplotipo C26 fue encontrado en una muestra de la Desembocadura sin arena y en dos muestras de Coronel que es un sitio con arena. El haplotipo C27 fue encontrado en cuatro muestras de la Desembocadura con arena y en dos muestras de la Desembocadura sin arena (TABLA 3).

El árbol filogenético construido con el marcador COI reveló que las especies *M. splendens* y *M. affinis* actuaron como buenos grupos externos, con valores de nodo moderados a altos en todos los clados. *M. membranacea* se ubicó en una posición externa al clado de la especie focal *M. laminarioides* (probabilidad de bootstrap = 99%). En su totalidad, las muestras colectadas en sitios con y sin arena correspondieron a *M. laminarioides* (probabilidad de bootstrap = 99%). Todos los haplotipos de *M. laminarioides* formaron un grupo monofilético bien apoyado con altos valores de bootstrap (99%) (FIGURA 7). Además, el árbol filogenético mostró que las secuencias analizadas de *M. laminarioides* conforman tres clados distintos, coincidentes con las áreas geográficas predeterminadas, los cuales corresponden a los clados Norte, Centro y Sur, estando apoyados con los valores de bootstrap. El clado del Norte (probabilidad de bootstrap = 73%) presentó ocho haplotipos que correspondieron a haplotipos de cinco localidades entre 28°55'S y 32°37'S. El clado del Centro estuvo bien soportado (probabilidad de bootstrap = 90%) y estuvo conformado por haplotipos de cinco localidades entre 34°05'S y 37°38'S; y el clado del Sur (probabilidad de

bootstrap = 93%) estuvo conformado por ocho localidades que se encontraron entre 39°40'S y 54°03'S.

A partir del árbol filogenético se pudo confirmar que las secuencias obtenidas de las muestras de las láminas de *M. laminarioides* de sitios con y sin arena se ubican en el clado del Centro. El haplotipo C25 se encontró relacionado con los haplotipos C12, C13 y C14 encontrados por Montecinos et al. (2012), mientras que los haplotipos entre C26 y C30 formaron un grupo bien soportado (90% bootstrap) y se encontraron relacionados a los haplotipos C9, C10 y C11 que también correspondieron al clado del Centro.

TABLA 3

Número de haplotipos e índices de diversidad genética de muestras de *M. laminarioides* provenientes de sitios con y sin arena. Nhap: número de haplotipos; S: número de sitios polimórficos; H: diversidad haplotípica; DE H: desviación estándar de la diversidad haplotípica;  $\pi$ : diversidad nucleotídica; N: número total de muestras. Se incluyen como referencia todos los haplotipos del clado Centro.

Sitio	Código	Condición	Haplotipos										Nhap	S	H	DE H	$\pi$	N		
			C9	C10	C11	C12	C13	C14	C25	C26	C27	C28							C29	C30
Coliumo	COL					5								1	0	0	0	0	5	
Chome	CHO	sin arena				4	1							2	2	0,40	0,24	1,40 <sup>(-3)</sup>	5	
Desembocadura sin arena	DESS								1	2		1	1	4	6	0,90	0,16	4,89 <sup>(-3)</sup>	5	
Merquiche	MER					5								1	0	0	0	0	5	
Desembocadura con arena	DESC	con arena								4	1			2	2	0,40	0,24	1,40 <sup>(-3)</sup>	5	
Coronel	COR					1		2						2	6	0,67	0,31	6,98 <sup>(-3)</sup>	3	
<b>Total</b>			0	0	0	0	15	0	1	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1	<b>28</b>

La red de haplotipos incluyendo los haplotipos del Centro (FIGURA 8) confirmó estas relaciones entre haplotipos. El haplotipo C13 fue el haplotipo de mayor frecuencia, con presencia en la mayoría de los sitios con y sin arena, excepto en la Desembocadura (TABLA 3). El haplotipo C27 originó nuevos haplotipos, pero de menor frecuencia (C28, C29 y C30). En relación a la diversidad haplotípica y nucleotídica, estas fueron mayores en Coronel y en la Desembocadura sin arena (TABLA 3). En estos sitios fueron detectados seis sitios polimórficos.

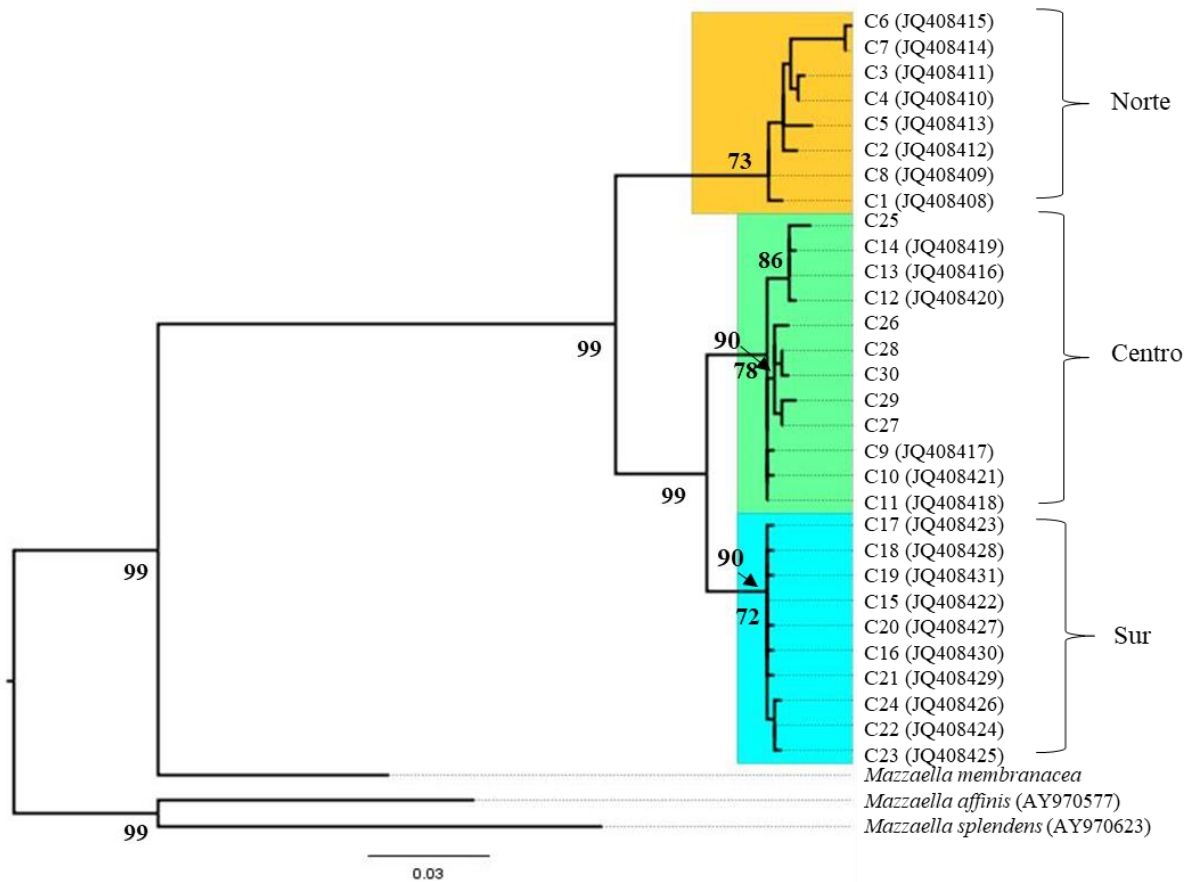


FIGURA 7:

Árbol de máxima verosimilitud para *M. laminarioides*. Los valores de los nodos indican el soporte (1000 bootstraps) indicándose únicamente aquellos valores superiores a 70%. Los haplotipos con códigos entre paréntesis corresponden a los reportados por Montecinos et al (2012) y a los grupos externos (ver ANEXO 1).

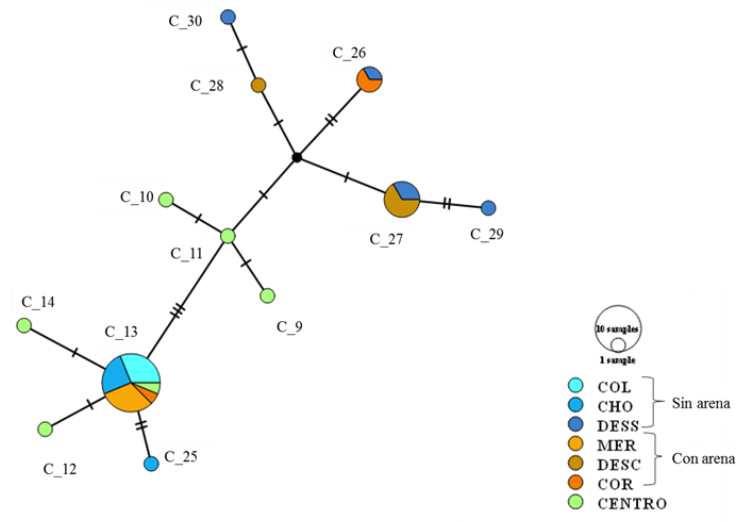


FIGURA 8:

Red de haplotipos del clado del Centro de *M. laminarioides* para el marcador COI. Cada círculo representa un haplotipo y el tamaño es proporcional a la frecuencia con la que fue encontrado el haplotipo. Los colores indican los sitios de donde provienen los haplotipos. Las líneas negras entre la red corresponden a pasos mutacionales. El círculo de color negro corresponde a secuencia no muestreada que une el número de mutaciones. Los haplotipos del Centro son los haplotipos correspondientes a Montecinos et al. (2012) (ver ANEXO 1).

### Comparación de la morfología de las láminas *M. laminarioides* de roqueríos con y sin presencia de arena

#### *Morfometría tradicional*

El análisis de las láminas a través de morfometría tradicional permitió describir su morfología en los sitios con y sin arena a través de las variables morfométricas longitud total, ancho de lámina, la relación longitud/ancho de lámina, longitud del estipe, ancho del estipe en su zona media y en su zona superior, grosor del estipe y el índice de curvatura del estipe.

El ACP realizado con las ocho variables morfométricas indicó que los primeros tres componentes explicaron el 67,98% de la varianza observada en los datos (TABLA 4). El primer componente principal explicó el 35,02% de varianza, mientras que el segundo

componente principal explicó el 18,48% con un total para el primer y segundo componentes de 53,5% de varianza (TABLA 4).

En el primer componente principal, las variables ancho de la zona superior del estipe (-0,83), ancho de lámina (-0,82), longitud de lámina (-0,75), ancho de la zona media del estipe (-0,74) y la longitud del estipe (-0,55), presentaron altos valores de correlación con el componente (TABLA 5). En el segundo componente, la relación longitud/ancho de lámina (0,85) y el índice de curvatura del estipe (-0,53) presentaron alta correlación con el componente (TABLA 5). En este componente la contribución de longitud de la lámina también fue alta pero menor que para el primer componente. Entre las variables suplementarias, la variable Condición fue la que tuvo mayor contribución en el primer componente (TABLA 5).

TABLA 4

Valores propios y proporción de varianza total y acumulada de la matriz de correlación del ACP para las muestras de roqueríos con y sin arena.

	<b>Valor propio</b>	<b>Varianza total</b>	<b>% acumulado</b>
CP 1	2,80	35,02	35,02
CP 2	1,48	18,48	53,50
CP 3	1,16	14,48	67,98
CP 4	0,92	11,50	79,49
CP5	0,79	9,87	89,36
CP 6	0,54	6,76	96,12
CP 7	0,28	3,49	99,61
CP 8	0,03	0,39	100

Con estos resultados, el primer componente hace referencia al tamaño y al ancho de la lámina y del estipe mientras que el segundo componente hace referencia a la forma de las láminas y del estipe. En la representación gráfica de las variables evaluadas en las láminas de todos los sitios en base al primer y segundo componente se distinguieron las láminas que provenían de sitios con arena y de sitios sin arena (FIGURA 9). Estos dos grupos presentaron cierto grado de separación. Las láminas de sitios sin arena correspondieron a láminas de menor longitud y ancho de lámina, con estipes cortos y angostos, mientras que las de sitios

con arena correspondieron a láminas de mayor longitud y ancho de lámina y con estipes largos y anchos (FIGURA 9).

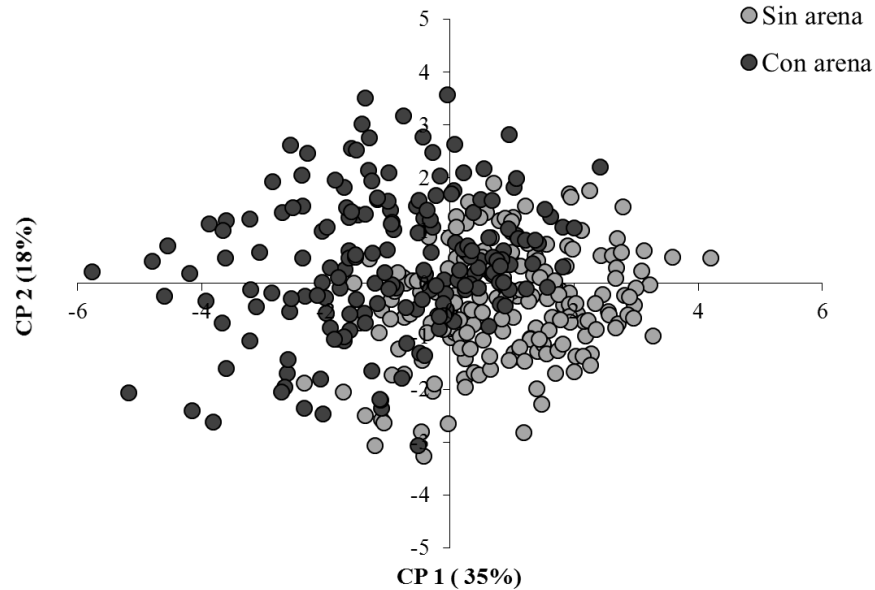


FIGURA 9:

Análisis de Componentes Principal (PCA) de las variables morfométricas evaluadas en láminas de gametofitos femeninos y esporofitos de los sitios con y sin arena. Los círculos corresponden a cada una de las observaciones de las láminas colectadas (n=400).

El análisis de varianza individual para las variables que resultaron con mayores valores de correlación en el PCA detectó interacción significativa entre los factores Tipo de individuo y Sitio (Condición) para todas las variables, excepto para el índice de curvatura que presentó diferencias significativas únicamente entre los sitios de cada condición (TABLA 6).

La longitud total mostró variabilidad entre los sitios. Los resultados indicaron que las láminas de roqueríos sin arena tendieron a ser más pequeñas en contraste con las láminas de roqueríos con arena. La longitud total fue significativamente mayor en láminas de los gametofitos femeninos y de los esporofitos en roqueríos con arena del Sitio 1 (32,9 y 32,4 cm, respectivamente) y Sitio 2 (30,5 y 33,2 cm, respectivamente) de la Desembocadura y en

los esporofitos provenientes de roqueríos con arena de Merquiche (25,9 cm) (FIGURA 10). Las láminas provenientes de roqueríos con arena de Coronel presentaron una longitud similar a las láminas de roqueríos sin arena del Sitio 1 y 2 de la Desembocadura y de Coliumo. En Chome las láminas presentaron la menor longitud en comparación con los otros sitios, teniendo una longitud de 8,2 y 9,4 cm en los esporofitos y gametofitos femeninos, respectivamente (FIGURA 10).

TABLA 5

Matriz de correlaciones entre los componentes y cada una de las variables medidas. Los valores resaltados en negrita corresponden a los coeficientes de las variables que presentan valores más altos en los componentes CP1 y CP2. Las variables Condición, Sitio y Tipo de individuo indicadas con asterisco (\*) corresponden a variables suplementarias incorporadas en el análisis.

Variables	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5	CP 6	CP 7	CP 8
Longitud de lámina	<b>-0,75</b>	<b>0,57</b>	-0,08	0,19	0,21	0,09	0,03	0,12
Longitud del estipe	<b>-0,55</b>	-0,17	0,42	0,15	-0,59	0,33	0,12	0,00
Ancho de lámina	<b>-0,82</b>	0,02	-0,38	0,04	0,30	0,28	0,07	-0,10
Longitud/ancho de lámina	-0,05	<b>0,85</b>	0,36	0,27	-0,12	-0,21	-0,09	-0,08
Ancho de la zona media del estipe	<b>-0,74</b>	-0,13	0,22	-0,33	0,03	-0,45	0,27	-0,01
Ancho de la zona superior del estipe	<b>-0,83</b>	-0,30	0,07	-0,16	-0,07	-0,10	-0,42	0,00
Grosor del estipe	-0,13	0,14	-0,81	0,08	-0,52	-0,20	0,02	0,00
Índice de curvatura del estipe	-0,13	<b>-0,53</b>	0,03	0,80	0,14	-0,21	0,02	0,00
*Condición	<b>-0,56</b>	0,33	0,11	0,03	0,01	0,17	-0,03	-0,12
*Sitio	0,43	-0,31	0,21	-0,06	0,13	0,09	-0,16	-0,04
*Tipo de individuo	0,22	0,37	0,10	0,12	-0,03	-0,26	-0,07	-0,03

En relación al ancho de la lámina, en los sitios con arena las láminas fueron mayormente más anchas que en sitios sin arena. Las láminas de gametofitos femeninos de roqueríos con arena en los Sitios 1 y 2 de la Desembocadura y Merquiche tuvieron los mayores valores promedio de ancho entre las láminas estudiadas (entre 5,2 y 6,4 cm) (FIGURA 10). En

algunos sitios, los esporofitos presentaron significativamente menor ancho que los gametofitos femeninos. Esto se observó tanto en roqueríos con arena (Sitio 1 y 2 de la Desembocadura) como sin arena (Coliumo, Chome). Por lo tanto, independientemente de la condición y del sitio, los esporofitos tendieron a ser más angostos que los gametofitos femeninos. En las láminas de Coronel, el ancho de las láminas fue menor que casi todo el resto de los sitios con arena, siendo similar al de láminas provenientes de sitios sin arena.

En cuanto a la relación longitud/ancho de lámina, los esporofitos tendieron a mostrar valores mayores que los gametofitos femeninos en la mayoría de los sitios, independientemente de la condición. En los Sitios 1 y 2 de la Desembocadura con arena esta relación fue significativamente mayor que el resto de los sitios (FIGURA 10).

La longitud del estipe fue variable entre los sitios. En los sitios sin arena la tendencia fue que en Chome y en el Sitio 2 de la Desembocadura los estipes fueron más cortos que el resto de los sitios. En los sitios con arena la longitud del estipe tendió a ser mayor que los sitios sin arena. En cuanto a los tipos de individuos de vida libre, sólo en las láminas provenientes de Coronel los estipes de los esporofitos presentaron significativamente menor longitud que los gametofitos femeninos (FIGURA 10).

Tabla 6

Resumen de análisis de varianza de las variables evaluadas en las láminas de los tipos de individuo de vida libre (gametofitos y femeninos y esporofitos) de sitios con y sin presencia de arena. Ti: Tipo de individuo; C: Condición; S: Sitio; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud total</b>						<b>Grosor del estipe</b>				
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P	GL	SC	CM	F	P
Ti	1	5,08	5,08	6,32	0,046	1	0,0002	0,0002	0,06	0,820
C	1	0,001	0,001	0,02	0,885	1	0,0001	0,0001	0,002	0,964
S(C)	6	4,84	0,81	17,50	<0,01	6	0,390	0,065	15,02	0,002
C × Ti	1	0,03	0,03	0,69	0,438	1	0,014	0,014	3,25	0,121
Ti × S(C)	6	0,28	0,05	7,65	<0,001	6	0,026	0,004	3,08	0,006
Error	370	2,23	0,01			370	0,520	0,001		
<b>Ancho de lámina</b>						<b>Ancho de la zona media del estipe</b>				
Ti	1	0,71	0,71	21,57	0,004	1	0,36	0,36	10,59	0,001
C	1	2,10	2,10	4,37	0,081	1	1,74	1,74	51,16	<0,001
S(C)	6	2,88	0,48	14,61	0,002	6	3,85	0,64	18,84	<0,001
C × Ti	1	0,02	0,02	0,48	0,513	1	0,33	0,33	9,729	0,002
Ti × S(C)	6	0,20	0,03	4,72	<0,001	6	1,73	0,29	8,443	<0,001
Error	370	2,58	0,01			370	12,62	0,03		
<b>Longitud/Ancho de lámina</b>						<b>Ancho de la zona superior del estipe</b>				
Ti	1	142,03	142,03	48,63	<0,01	1	4,43	4,43	6,91	0,039
C	1	75,31	75,31	4,81	0,071	1	9,12	9,12	6,03	0,049
S(C)	6	94,05	15,67	5,36	0,030	6	9,08	1,51	2,36	0,160
C × Ti	1	2,57	2,57	0,88	0,385	1	1,42	1,42	2,22	0,187
Ti × S(C)	6	17,55	2,92	2,90	0,009	6	3,85	0,64	5,48	<0,001
Error	370	372,88	1,01			370	43,36	0,12		
<b>Longitud del estipe</b>						<b>Índice de curvatura</b>				
Ti	1	22,0	22,0	9,62	0,021	1	0,01	0,01	1,55	0,259
C	1	69,5	69,5	3,33	0,118	1	0,02	0,02	0,29	0,610
S(C)	6	125,6	20,9	9,13	0,008	6	0,37	0,06	10,46	0,006
C × Ti	1	10,8	10,8	4,72	0,073	1	0,00	0,004	0,74	0,421
Ti × S(C)	6	13,8	2,3	2,51	0,022	6	0,04	0,01	1,74	0,112
Error	370	338,1	0,9			370	1,26	0,003		

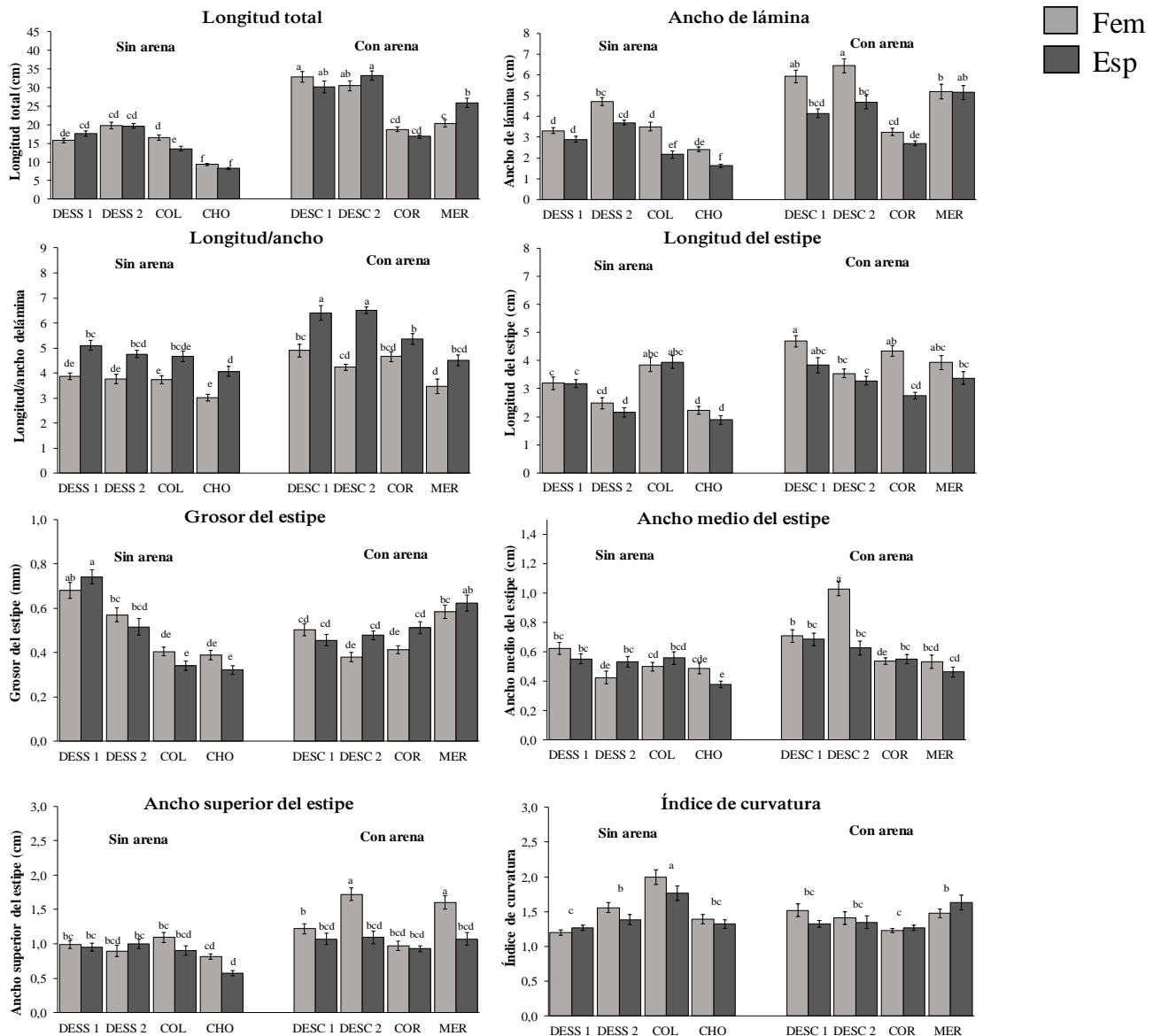


FIGURA 10:

Promedios ( $\pm$  error estándar) de las variables morfométricas evaluadas en láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) de roqueríos con y sin presencia de arena de los sitios 1 y 2 de Desembocadura sin arena (DESS 1 y DESS2) y con arena (DESC1 y DESC 2), Coliumo (COL), Chome (CHO), Merquiche (MER) y Coronel (COR). Las letras minúsculas sobre las columnas indican diferencias significativas de la prueba a posteriori de Tukey ( $\alpha= 0,05$ ).

El grosor del estipe fue variable entre los sitios de cada condición. En láminas provenientes de sitios sin arena de la Desembocadura (Sitio 1 y 2), el grosor del estipe fue significativamente mayor que en láminas de Coliumo y Chome, presentando un grosor de 0,6 y 0,7 mm en gametofitos femeninos y esporofitos, respectivamente. El grosor del estipe entre los sitios con arena fue menos variable, solamente láminas de los esporofitos provenientes de Merquiche presentaron estipes significativamente más gruesos que los otros sitios con arena (FIGURA 10).

El ancho de la zona media y superior del estipe, fue menos variable en sitios sin arena y en ambos tipos de individuos (FIGURA 10). En los sitios con arena, el ancho de la zona media y superior del estipe fue significativamente mayor en los gametofitos femeninos del Sitio 2 de la Desembocadura y además, en Merquiche el ancho de la zona superior fue también significativamente mayor (FIGURA 10).

El índice de curvatura del estipe fue más variable en los sitios sin arena que los sitios con arena (FIGURA 10). En los estipes de Coliumo el índice de curvatura fue significativamente mayor tanto en los gametofitos como en los esporofitos, en contraste a los otros sitios. Es decir, el canal de los estipes de este sitio fue más pronunciado que en los estipes de los demás sitios sin arena (FIGURA 10).

En resumen, los análisis de la varianza mostraron que los sitios y el tipo de individuo fueron fuente de variabilidad en la morfología de las láminas (FIGURA 10). Además, también indicaron que las láminas de las dos condiciones difirieron principalmente en la longitud de la lámina y del estipe, el ancho de la lámina y la relación longitud/ancho de lámina. En sitios sin arena las láminas de los gametofitos femeninos y esporofitos tendieron a ser pequeñas, angostas, con menor relación longitud/ancho de lámina, en comparación con las láminas de los sitios con arena. En roqueríos con arena como la Desembocadura, las láminas femeninas tendieron a ser largas, anchas y con menor relación longitud /ancho de lámina mientras que los esporofitos fueron angostos. En Merquiche y Coronel las láminas tendieron a ser menos largas en comparación a la Desembocadura. Además, en Merquiche se encontró variabilidad en el tipo de individuo, los esporofitos fueron largos, y con mayor relación en longitud de lámina/ancho de lámina, mientras que los gametofitos femeninos

fueron de menor longitud, con menor relación longitud/ancho de lámina. El ancho de lámina en esta localidad no fue diferente entre los gametofitos y esporofitos.

La distribución de frecuencia permitió confirmar las diferencias que mostró el análisis de varianza sobre las láminas de sitios con y sin arena a través de las variables longitud total, ancho de lámina y la relación longitud/ancho de lámina. La distribución de frecuencia de estas variables (FIGURAS 11,12,13,14,15 y 16) se muestran separadas por tipo de individuo, donde los gráficos de la izquierda corresponden a los gametofitos femeninos y los de la derecha a los esporofitos. Solo en los dos sitios de la Desembocadura concurrían sitios con y sin arena a corta distancia, por lo que fueron incluidos juntos en la figura (FIGURAS 11, 13 y 15). En cambio, para los demás sitios (Chome, Coliumo, Merquiche y Coronel) se agruparon los dos sitios sin arena en una misma figura, y lo mismo con los dos sitios con arena en otra figura (FIGURAS 12, 14 y 16).

La distribución de frecuencia para los Sitios 1 y 2 de la Desembocadura mostró que para las tres variables evaluadas hubo diferencias significativas entre ambas condiciones (con y sin arena) (TABLA 7). Tanto los gametofitos femeninos como los esporofitos de los Sitios 1 y 2 sin arena difirieron estadísticamente de los gametofitos femeninos y esporofitos de los Sitios 1 y 2 con arena (FIGURA 11). Los valores de las modas de la longitud total de las láminas provenientes de los sitios sin arena de la Desembocadura se ubicaron entre las categorías 20 y 25 cm con longitudes máximas y con baja frecuencia en la categoría de 30 cm tanto para los gametofitos femeninos como para los esporofitos (FIGURA 11). En las láminas de los dos sitios con arena de la Desembocadura, las modas de las láminas se encontraron entre 30 y 40 cm en ambos tipos de individuos y alcanzaron longitudes máximas de 45 y 50 cm.

Tanto en Chome como en Coliumo (sitios sin arena) las láminas presentaron longitudes en categorías inferiores a la de los dos sitios con arena de la Desembocadura. En Chome la moda para la longitud de las láminas de ambos tipos de individuos se ubicó en la categoría de 10 cm y en Coliumo en categorías de 15 y 20 cm (FIGURA 12). En Merquiche (FIGURA 12) la moda para la longitud de las láminas se encontró en las categorías de 20, 25 en gametofitos femeninos y de 30 cm en esporofitos, alcanzando longitudes máximas de 35 y

45 cm como en los sitios con arena de la Desembocadura. En Coronel (FIGURA 12) las láminas tanto de los gametofitos femeninos como de los esporofitos presentaron una moda en la clase de tamaño de 20 cm, que es similar a lo indicado para de las láminas de los sitios sin arena.

TABLA 7

Resumen de análisis de distribución de frecuencia de la prueba Kolmogorov-Smirnov (dos muestras) para las variables evaluadas en láminas de los gametofitos femeninos y esporofitos provenientes de los Sitios 1 y 2 de la Desembocadura del Río Biobío con y sin arena.

	<b>Longitud total</b>	<b>Ancho de lámina</b>	<b>Longitud/Ancho de lámina</b>
<b>Gametofito femenino</b>			
Desembocadura S1 con y sin arena			
<i>D</i>	1,0	0,8	0,5
<i>p</i>	<0,0001	<0,001	0,006
Desembocadura S2 con y sin arena			
<i>D</i>	0,8	0,6	0,4
<i>p</i>	<0,0001	<0,001	0,026
<b>Esporofito</b>			
Desembocadura S1 con y sin arena			
<i>D</i>	0,8	0,7	0,5
<i>p</i>	<0,0001	<0,001	0,002
Desembocadura S2 con y sin arena			
<i>D</i>	0,9	0,7	0,7
<i>p</i>	<0,0001	<0,001	<0,0001

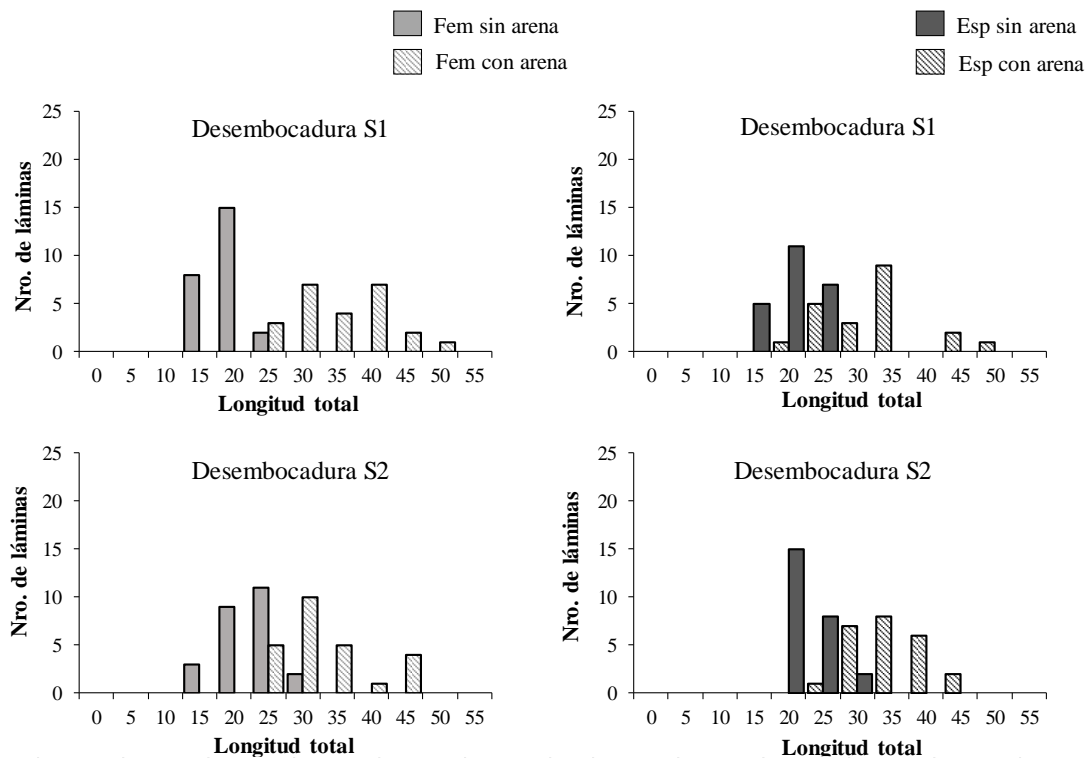


FIGURA 11:

Distribución de frecuencia del número de láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) en relación a la longitud de lámina (cm) para los sitios 1 y 2 de la Desembocadura con y sin arena. Las barras con líneas corresponden a sitios con arena y las barras sin líneas a sitios sin arena. En cada caso se evaluó un total de 50 láminas.

El ancho de lámina fue estadísticamente diferente entre los Sitios 1 y 2 con y sin arena de la Desembocadura (TABLA 7). En los sitios sin arena de la Desembocadura la moda de los gametofitos femeninos se encontró en las categorías de 4 y 5 cm, y la de los esporofitos se observó en las categorías de 3 y 4 cm. En los sitios con arena se encontró que la moda para los gametofitos femeninos fue de 5 y 6 cm y las láminas alcanzaron hasta 11 cm de ancho. Los esporofitos presentaron la moda en las categorías de 4 y 5 cm con ancho máximo de 7 cm (FIGURA 13). En los otros sitios sin arena aparte de la Desembocadura, en Coliumo, el ancho de las láminas presentó la moda en la categoría de 2 cm para los esporofitos y de 4 cm para los gametofitos femeninos. En este sitio se registró una categoría mayor de hasta 8 cm

pero, únicamente en un ejemplar (FIGURA 14). En Chome, las láminas presentaron menor ancho en comparación con los otros sitios, ubicándose la moda en las categorías de 2 y 3 cm. Tanto en Chome como en Coliumo el ancho de las láminas se encontró dentro del rango de categorías de los sitios sin arena de la Desembocadura. En los otros sitios con arena, se observó mayor rango del ancho que en los sitios sin arena. En Merquiche, la moda se encontró entre 4 y 5 cm para los gametofitos femeninos como para los esporofitos respectivamente con ancho máximo de 10 cm para ambos tipos de individuos (FIGURA 14). En Coronel, las láminas presentaron la moda en las categorías de 3 cm en ambos tipos de individuos, similar a los rangos de los sitios sin arena.

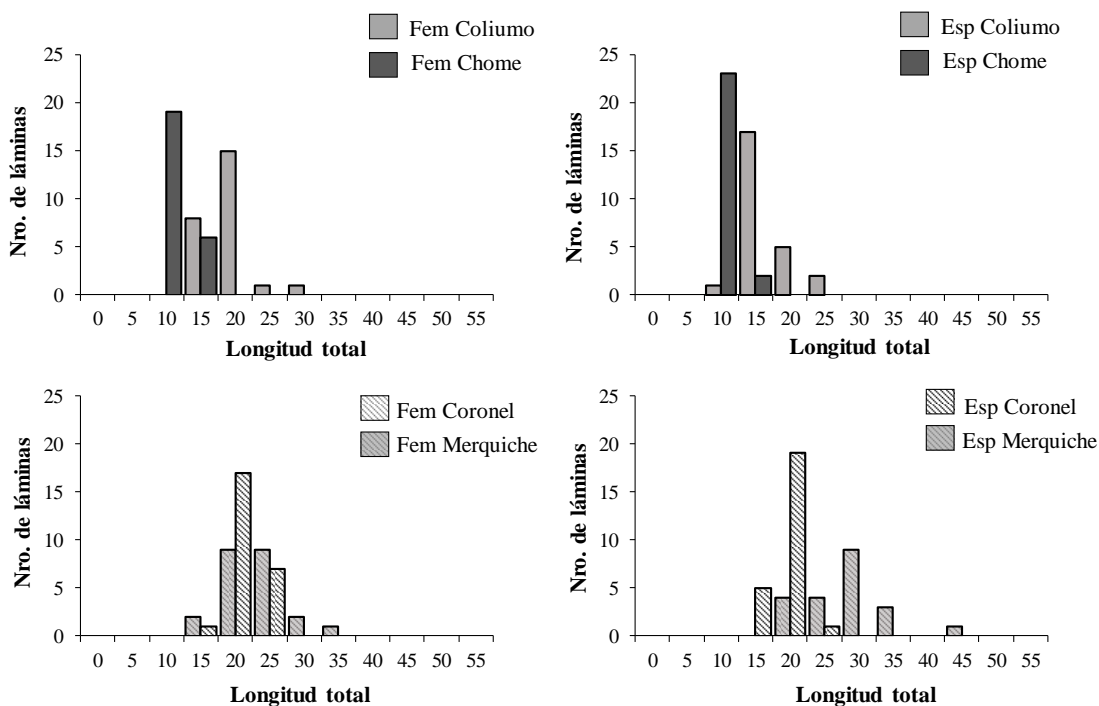


FIGURA 12:

Distribución de frecuencia del número de láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) en relación a la longitud de lámina (cm) para los sitios sin arena (Coliumo y Chome) y con arena (Coronel y Merquiche). Las barras con líneas corresponden a sitios con arena y las barras sin líneas a sitios sin arena. En cada caso se evaluó un total de 50 láminas.

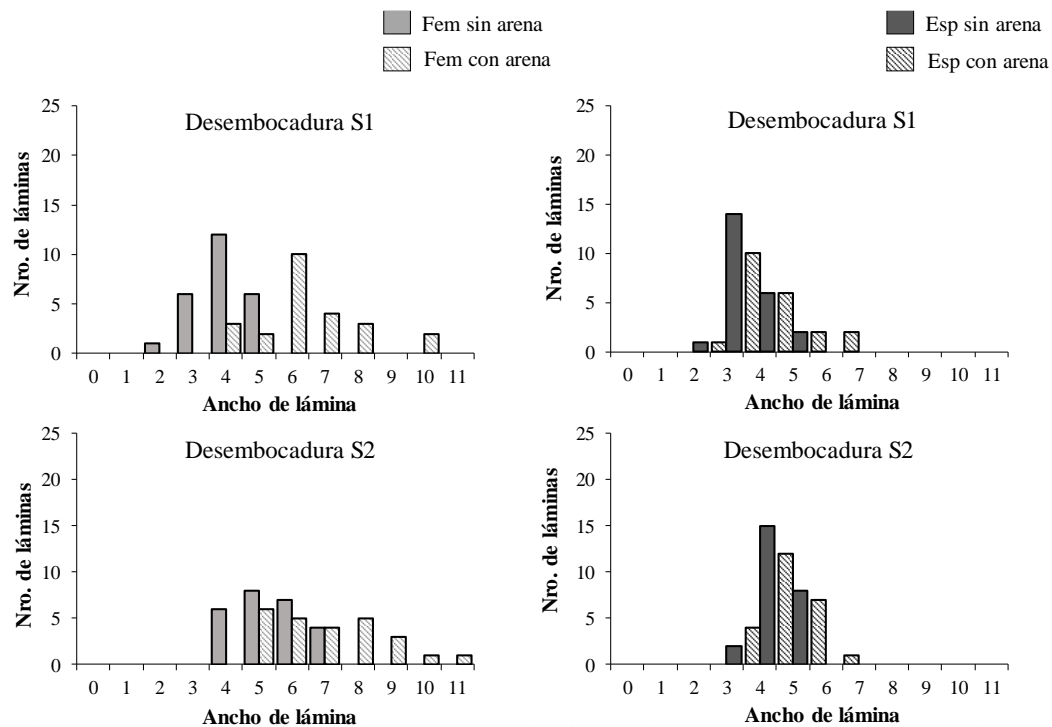


FIGURA 13:

Distribución de frecuencia del número de láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) en relación al ancho de lámina (cm) para los sitios 1 y 2 de la Desembocadura con y sin arena. Las barras con líneas corresponden a sitios con arena y las barras sin líneas a sitios sin arena. En cada caso se evaluó un total de 50 láminas.

Para la variable relación longitud/ancho de lámina al igual que en el análisis de varianza se observó que los esporofitos tendieron a tener mayor relación longitud/ancho de lámina independientemente de la condición (FIGURA 15). En los dos sitios sin arena de la Desembocadura (Sitio 1 y Sitio 2), tanto los esporofitos como los gametofitos femeninos difirieron significativamente de los sitios con arena (TABLA 7). En los sitios con arena, la moda para los gametofitos femeninos fue similar que, para los sitios sin arena, pero en los esporofitos la moda se ubicó en las categorías de 7 y 8. En los otros sitios sin arena, en Chome la moda de los gametofitos femeninos se ubicó en la categoría de 3 y en Coliumo de 4. Los esporofitos estuvieron en las categorías de 4 y 5. El valor de estas modas es inferior a las de

los sitios con arena de la Desembocadura (FIGURA 14). En los otros sitios con arena, en Merquiche, la relación longitud total/ancho de lámina presentó valores moda en categorías inferiores a las de Coronel (FIGURA 16).

En resumen, las láminas de sitios sin arena presentaron longitud y ancho de lámina en categorías inferiores que las láminas de sitios con arena, siendo estas diferencias estadísticamente significativas para los dos sitios de la Desembocadura (TABLA 7). En sitios con arena, Coronel mostró longitudes en categorías menores en contraste a los otros sitios (FIGURA 12).

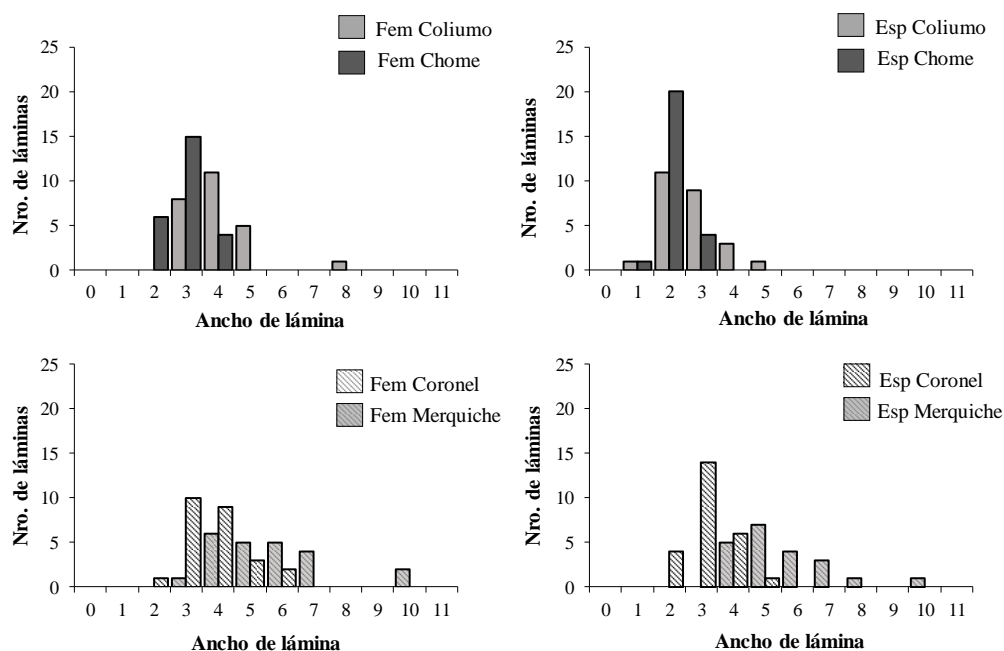


FIGURA 14:

Distribución de frecuencia del número de láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) en relación al ancho de lámina (cm) para los sitios sin arena (Coliumo y Chome) y con arena (Coronel y Merquiche). Las barras con líneas corresponden a sitios con arena y las barras sin líneas a sitios sin arena. En cada caso se evaluó un total de 50 láminas.

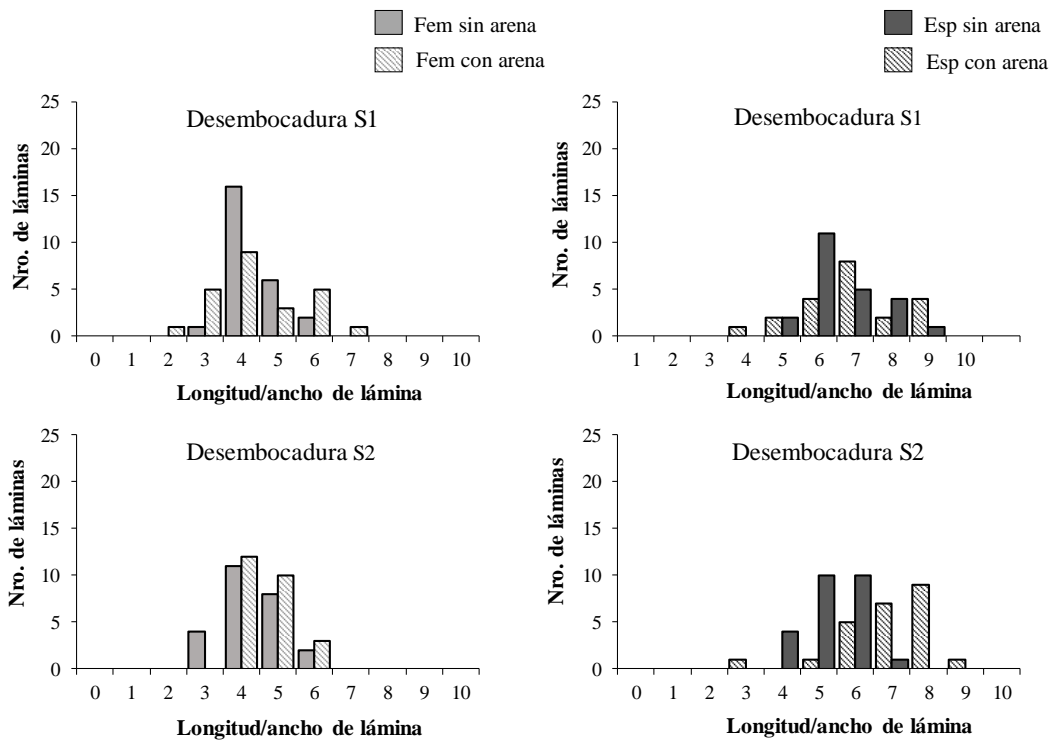


FIGURA 15:

Distribución de frecuencia del número de láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) en relación a la longitud/ancho de lámina para los sitios 1 y 2 de la Desembocadura con y sin arena. Las barras con líneas corresponden a sitios con arena y las barras sin líneas a sitios sin arena. En cada caso se evaluó un total de 50 láminas.

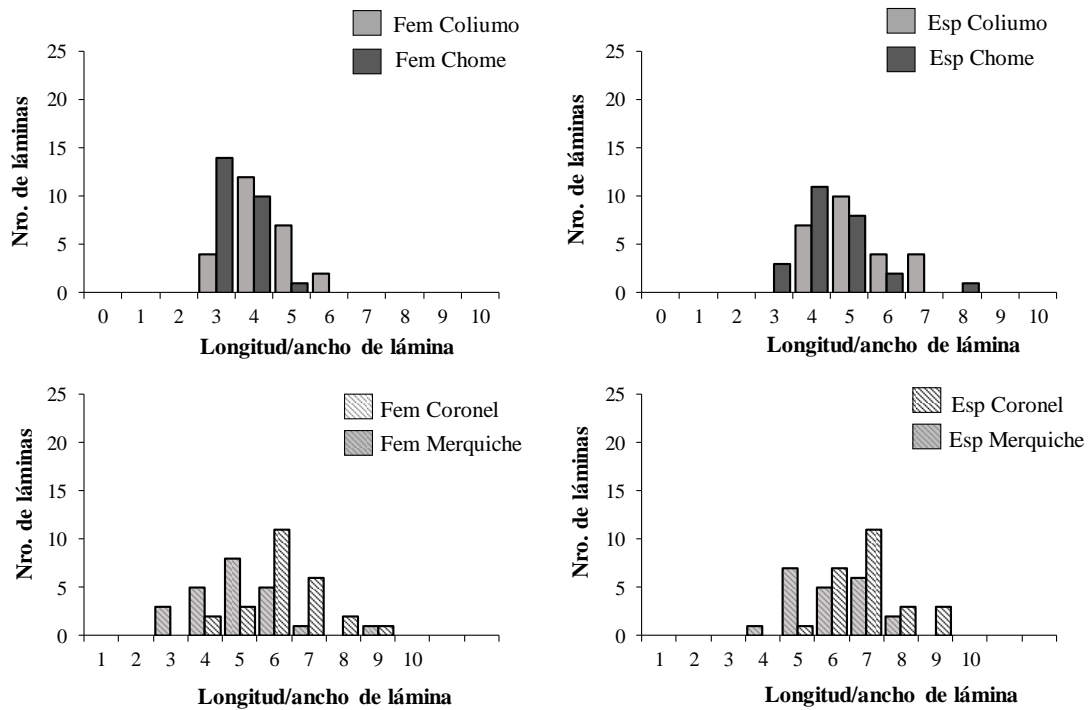


FIGURA 16:

Distribución de frecuencia del número de láminas de gametofitos femeninos (Fem) y esporofitos (Esp) en relación a la longitud/ancho de lámina para los sitios sin arena (Coliumo y Chome) y con arena (Coronel y Merquiche). Las barras con líneas corresponden a sitios con arena y las barras sin líneas a sitios sin arena. En cada caso se evaluó un total de 50 láminas.

### *Morfometría Geométrica (MG)*

A partir de la digitalización de los puntos de referencias en las láminas, la MG permitió analizar la forma de las láminas de ambas fases de *M. laminarioides* de los sitios con y sin arena. El análisis de regresión multivariada para la forma en función del tamaño del centroide los gametofitos femeninos y esporofitos indicó un efecto alométrico significativo del tamaño sobre la forma (FIGURA 17). Para los gametofitos femeninos el efecto fue de 6,7% ( $p < 0,0001$ ), mientras que para los esporofitos fue de 7,7% ( $p < 0,0001$ ). Esto indica que ocurre un cambio de forma en la lámina al aumentar su tamaño, revelando un leve efecto

alométrico en el crecimiento de las láminas. Debido a este efecto, para el PCA se removió el efecto del tamaño usando el componente residual de la regresión (Klingenberg, 2016).

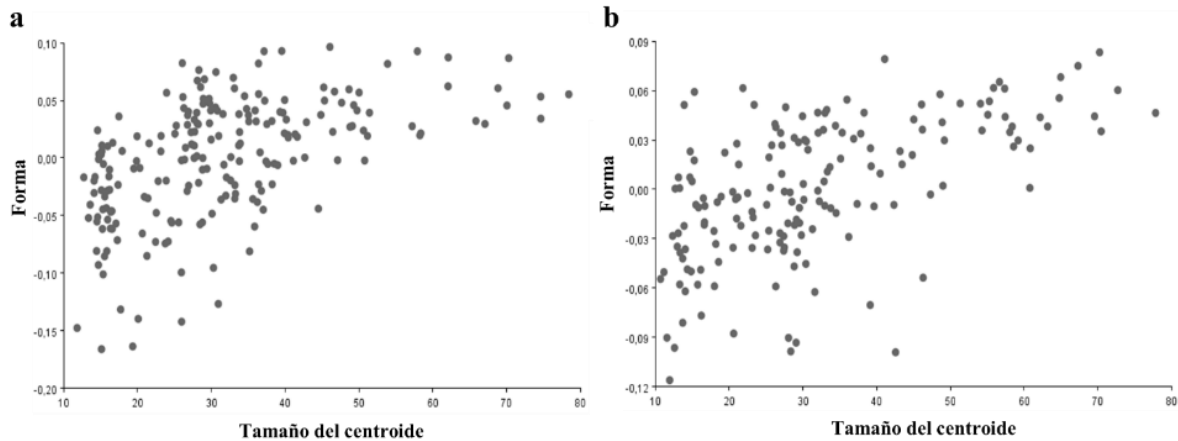


FIGURA 17:

Evaluación de la alometría de las láminas de gametofitos femeninos (N=207) (a) y esporofitos (N=168) (b) de *M. laminarioides*.

En el PCA de los gametofitos femeninos los primeros dos componentes explicaron el 80,6% de la variación total de la forma de las láminas. El PCA mostró una amplia superposición entre ambos grupos (con y sin arena) (FIGURA 18 a). Las láminas de los sitios sin arena estuvieron representadas en todo el rango de variación del primer componente mientras que las de los sitios con arena estuvieron más acotadas a los valores centrales. En el primer componente (54,5 %), los valores positivos y negativos estuvieron relacionados con las desviaciones o curvaturas del “eje” de algunas de las láminas, tanto hacia la izquierda como hacia la derecha. Además, estas curvaturas parecieron estar relacionadas con el ensanchamiento de la lámina en uno de sus márgenes (FIGURA 18.a). El segundo componente (26,1%) se relacionó principalmente con el ancho de las láminas. Los valores negativos representaron láminas más angostas y con ápice agudo, mientras que los valores positivos eran láminas más anchas y con ápice redondeado (FIGURA 18 a).

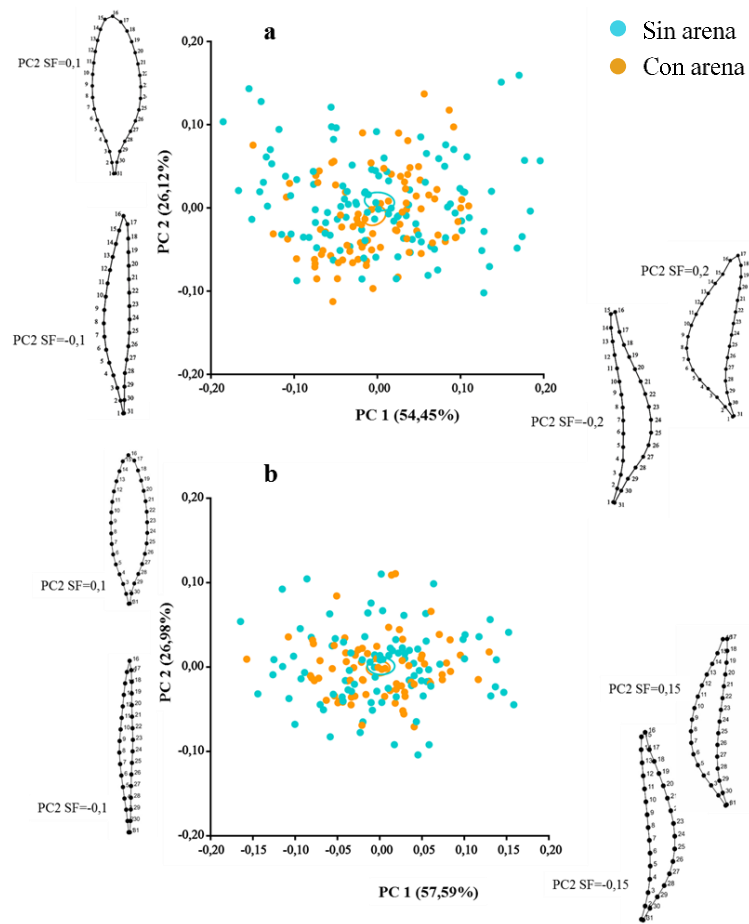


FIGURA 18:

Análisis de Componentes Principal de la variación de la forma del gametofito femenino (a) y del esporofito (b) de *M. laminarioides* a través del primer y segundo componente (PC1 y PC2). Los gráficos wireframe indican la forma general extrema positiva y negativa. Se muestra el factor de escala que corresponde a la magnitud del cambio de forma de la lámina de acuerdo la dirección de puntuación del PC.

En el PCA para los esporofitos los primeros dos componentes explicaron el 84,57% de la variación total de la forma de las láminas (FIGURA 18 b). Al igual que para los gametofitos femeninos, los valores para esporofitos mostraron una amplia superposición entre las láminas de sitios con y sin arena. El primer componente (57,6%) también se relacionó con la curvatura, pero para los esporofitos fue menos pronunciado que en los gametofitos

femeninos. El segundo componente (27,0%) estuvo relacionado con el ancho de las láminas, al igual que para los gametofitos femeninos, en donde los valores negativos representaron formas más angostas con ápice agudo y hacia valores positivos representaron formas más anchas y con ápice redondeado (FIGURA 18 b). Si bien el PCA no mostró una clara diferenciación en cuanto a la forma de las láminas de los gametofitos femeninos y esporofitos, el Andeva indicó un efecto significativo para la Condición sobre la forma y el tamaño del centroide (TABLA 8). Por otro lado, se determinó que el efecto del error de medición fue menor al cuadrado medio del individuo (cada lámina) por lo tanto, la variación de las láminas se ajusta a los datos obtenidos ya que se encuentran en orden de magnitud mayor que el error dado por la digitalización de cada imagen (FIGURA 19 y TABLA 9).

TABLA 8

Resumen del análisis de varianza para la forma y el tamaño de centroide de las láminas de los gametofitos femeninos y esporofitos de sitios con y sin arena. Análisis realizado con 10000 permutaciones. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>(b) Gametofito femenino</b>						
Efecto	GL	SC	CM	F	P	
Condición	1	199,44	199,44	1,8095	0,189	
Sitio(Condición)	6	710,31	118,39	2,0296	0,005	
Error	160	9332,6	58,329			
<b>(a) Esporofito</b>						
Condición	1	270,19	270,19	1,82	0,157	
Sitio(Condición)	6	950,77	158,46	2,7667	0,001	
Error	199	11398	57,275			

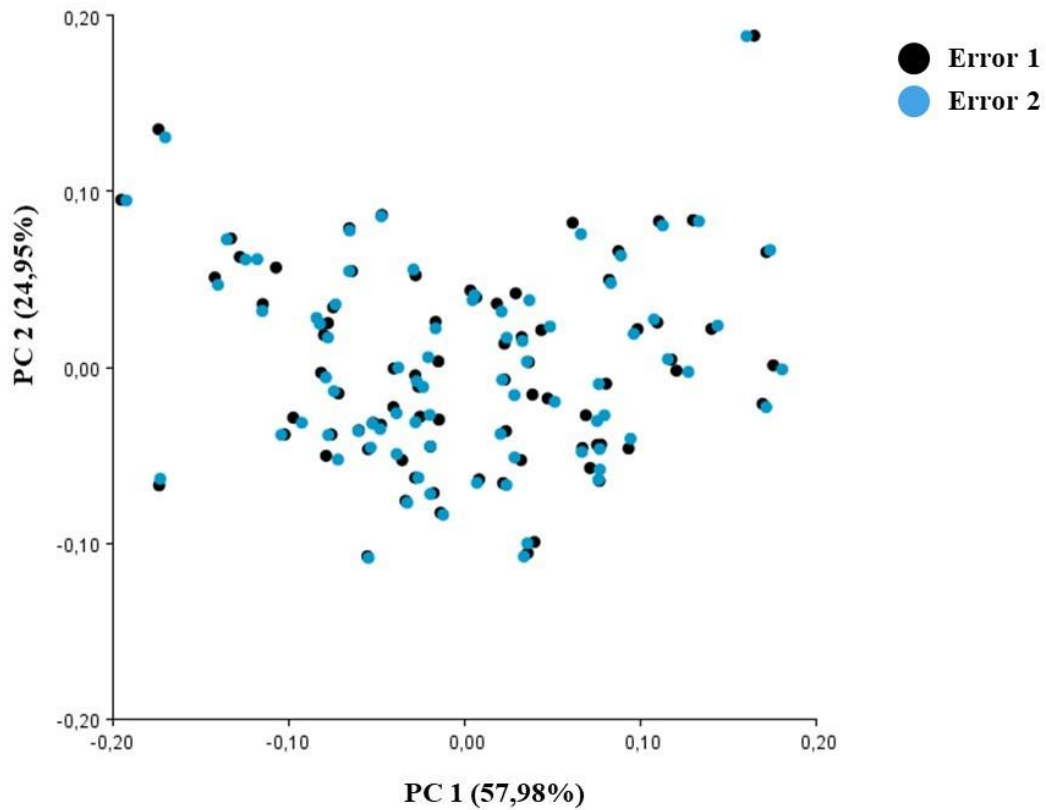


FIGURA 19:

Análisis de componentes principales para el error de medición a través de la digitalización de los puntos de referencia (landmark) (N=160).

TABLA 9

Resumen de análisis de varianza para la evaluación del error de medición para la forma y de las láminas de *M. laminarioides* (N=160). Análisis realizado con 10000 permutaciones. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad; Error 1: error de medición.

Forma, andeva Procrustes:	GL	SC	CM	F	P
Individual	4582,0	2,0	0,00043	347,85	<0,0001
Error 1	4640,0	0,01	0,000001		

### *Comparación de láminas de M. laminarioides de otoño-primavera e invierno-verano*

En este estudio, los muestreos fueron realizados entre primavera y verano (TABLA 2), por lo tanto, la estacionalidad podría tener un efecto en las variables evaluadas. Para esto, los muestreos complementarios realizados en tres de los sitios permitieron comparar el efecto estacional en las principales variables morfométricas: longitud, ancho de lámina y la relación longitud/ancho de lámina.

En Coronel (sitio con arena), donde el muestreo complementario fue en otoño, la interacción Estación  $\times$  Tipo de individuo de vida libre fue significativa para la longitud, ancho de lámina y la relación longitud/ancho de lámina. Para la longitud, a pesar de que la interacción fue significativa, la prueba *a posteriori* de Tukey sólo distinguió diferencias entre estaciones del año, siendo de mayor longitud las láminas de los gametofitos y esporofitos de otoño que las de primavera (FIGURA 20a; TABLA 10). El ancho de la lámina fue significativamente mayor en los gametofitos femeninos que en los esporofitos de su propia estación, pero fue más pronunciada en otoño que en primavera (FIGURA 20a). Dados los resultados anteriores, la relación longitud/ancho de la lámina fue significativamente mayor en esporofitos que en gametofitos femeninos en otoño, pero no hubo diferencia en primavera (FIGURA 20a).

En la Desembocadura la comparación de las variables de las láminas del Sitio 1 sin arena muestreado en primavera, y el Sitio 3 el que fue complementariamente muestreado en otoño, indicó que la longitud de las láminas en ambas estaciones fue similar, no detectando diferencias significativas (TABLA 11). Sin embargo, el rango entre el promedio mayor y el menor de la longitud de las láminas considerando los cuatro tratamientos en la Desembocadura (rango entre 17,8-19,3 cm) fue menor que el mismo rango en los cuatro tratamientos de Coronel (rango entre 16,7-25,3cm). (FIGURA 20a y b). Esta diferencia entre las mismas estaciones, pero diferentes sitios pueden afectar el tamaño de las láminas en una estación determinada. En cuanto al ancho, las láminas de otoño fueron significativamente más anchas que las de primavera (ANDEVA:  $F_{1,75} = 26,51$ ;  $p = <<0,001$ ) y los gametofitos tuvieron significativamente mayores valores que los esporofitos (ANDEVA:  $F_{1,75} = 8,36$ ;  $p = 0,005$ ) (TABLA 11). Como consecuencia, la relación longitud/ancho de la lámina fue

significativamente mayor en los esporofitos que en los gametofitos femeninos, y fue mayor en primavera que en otoño, pero la interacción no resultó significativa (ANDEVA:  $F_{1, 75} = 1,43$ ;  $p = 0,235$ ) (TABLA 11).

Tabla 10

Resumen de análisis de varianza (N=86) de las variables evaluadas en las láminas de los gametofitos femeninos y esporofitos de otoño y primavera de Coronel. E: Época; Ti: Tipo de individuo. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud total</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
E	1	0,388	0,388	84,69	<<0,001
Ti	1	0,004	0,004	0,91	0,344
E × Ti	1	0,027	0,027	5,98	0,017
Error	82	0,376	0,005		
<b>Ancho de lámina</b>					
E	1	0,353	0,353	55,61	<<0,001
Ti	1	0,389	0,389	61,42	<<0,001
E × Ti	1	0,037	0,037	5,88	0,017
Error	82	0,520	0,006		
<b>Longitud/ancho de lámina</b>					
E	1	0,006	0,006	0,91	0,342
Ti	1	0,375	0,375	53,62	<<0,001
E × Ti	1	0,111	0,111	15,94	0,0001
Error	82	0,574	0,007		

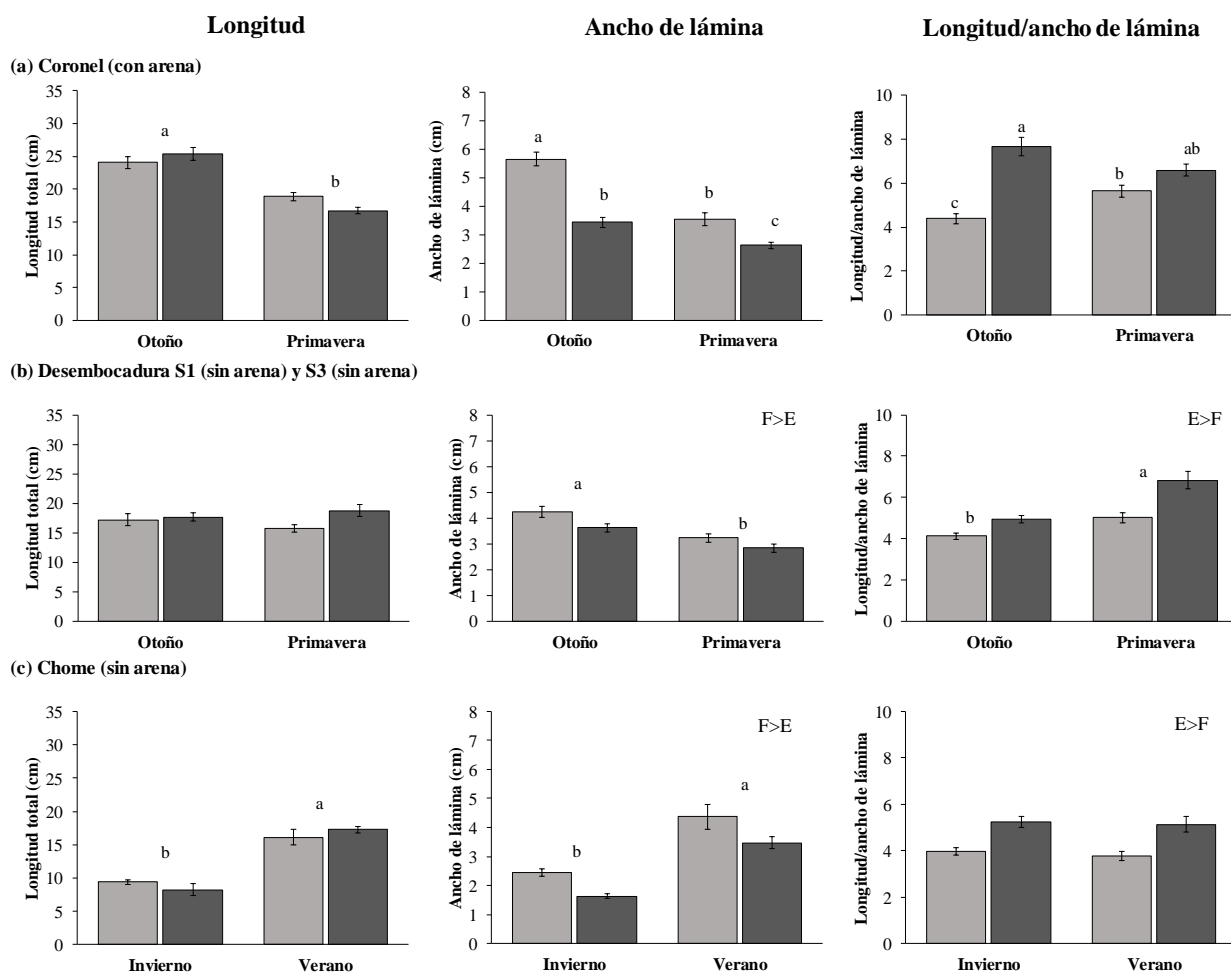


FIGURA 20:

Promedios ( $\pm$  error estándar) de las variables evaluadas en láminas de gametofitos femeninos (barra gris claro) y esporofitos (barra gris oscuro) para otoño-primavera de Coronel (N=86) (a) y Desembocadura (N=79) (b) e invierno-verano de Chome (N=43) (c). Las letras sobre las barras indican diferencias significativas para la estacionalidad de la prueba a posteriori Tukey ( $\alpha=0,05$ ) mientras que las letras F y E indican diferencias entre los gametofitos femeninos y esporofitos, respectivamente.

TABLA 11

Resumen de análisis de varianza (N=79) de las variables evaluadas en gametofitos femeninos y esporofitos de otoño y primavera para el Sitio 1 y Sitio 3 de la Desembocadura del río Biobío. E: Época; Ti: Tipo de individuo. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud total</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
E	1	0,60	0,60	0,04	0,843
Ti	1	59,41	59,41	3,93	0,051
E × Ti	1	31,03	31,03	2,05	0,156
Error	75	1133,61	15,11		
<b>Ancho de lámina</b>					
E	1	15,97	15,97	26,51	<<0,001
Ti	1	5,04	5,04	8,36	0,005
E × Ti	1	0,21	0,21	0,35	0,555
Error	75	45,17	0,60		
<b>Longitud/ancho de lámina</b>					
E	1	0,23	0,23	29,49	<<0,001
Ti	1	0,22	0,22	28,06	<<0,001
E × Ti	1	0,01	0,01	1,43	0,235
Error	75	0,58	0,01		

En Chome, que corresponde a un sitio sin arena, la longitud de las láminas fue significativamente mayor en verano (ANDEVA:  $F_{1, 39}=40,65$ ;  $p = <<0,001$ ) tanto para los gametofitos femeninos como para los esporofitos (FIGURA 20c). En cambio, para el ancho de lámina los dos factores fueron significativos (TABLA 12). El ancho fue mayor en verano que en invierno, y los gametofitos femeninos fueron significativamente más anchos que los esporofitos (FIGURA 20c). Como consecuencia, la relación longitud/ancho de lámina sólo presentó diferencias significativas para el factor Tipo de individuo (TABLA 12), teniendo los esporofitos significativamente mayor relación que los gametofitos femeninos (FIGURA 20c).

En resumen, en la comparación de primavera-otoño para Coronel y la Desembocadura, y de invierno-verano para Chome indicaron que la longitud y ancho de las láminas tienen un componente estacional, siendo más pequeñas en invierno, con tamaños intermedios en primavera y alcanzando mayor tamaño en otoño. La misma tendencia fue observada para el ancho de lámina, siendo menor en invierno y mayor en otoño. Además, los resultados también indicaron que los gametofitos femeninos y los esporofitos presentan diferencias en el ancho de la lámina, siendo mayor en los gametofitos femeninos. A pesar de estas diferencias, la relación longitud/ancho de lámina varía menos entre las estaciones, y en los tres sitios muestreados fue mayor en los esporofitos que en los gametofitos.

TABLA 12

Resumen de análisis de varianza (N=43) de las variables evaluadas en láminas de gametofitos femeninos y esporofitos de invierno y verano de Chome. E: Época; Ti: Tipo de individuo. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud total</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
E	1	621,41	621,41	40,65	<<0,001
Ti	1	2,55	2,55	0,17	0,685
E × Ti	1	0,48	0,48	0,03	0,861
Error	39	596,20	15,29		
<b>Ancho de lámina</b>					
E	1	1,03	1,03	76,99	<<0,001
Ti	1	0,27	0,27	20,48	<0,001
E × Ti	1	0,02	0,02	1,59	0,215
Error	39	0,52	0,01		
<b>Longitud/ancho de lámina</b>					
E	1	4,21	4,21	2,54	0,119
Ti	1	35,73	35,73	21,54	<0,001
E × Ti	1	2,33	2,33	1,40	0,243
Error	39	64,70	1,66		

### *Comparación de las láminas del nivel superior, medio e inferior de la banda de M.*

#### *laminarioides*

Como se mencionó antes, *M. laminarioides* está presente en una ancha banda en la zona intermareal rocosa. Los sitios de muestreo desde donde se colectaron las láminas cuya morfología fue comparada, correspondieron a la zona inferior de la banda de esta especie. Sin embargo, el amplio rango de distribución vertical podría tener un efecto en las dimensiones de las láminas.

En el Sitio 3 sin arena (complementario), el límite superior de la banda de *M. laminarioides* se registró a 2,1 m sobre el nivel cero de mareas, y el límite inferior a 1,09 m. Es decir, en este sitio la banda de *M. laminarioides* tenía 1,01 m de diferencia vertical en su altura. En la comparación de las mediciones de las láminas de diferentes niveles de la banda de *M. laminarioides*, los resultados indicaron que hubo diferencias significativas en la longitud y el ancho de lámina entre los diferentes niveles y entre los tipos de individuo, pero para estas variables la interacción no fue significativa (TABLA 13).

El análisis de varianza indicó que la longitud total fue significativamente mayor en el nivel medio y bajo que en el nivel superior (ANDEVA,  $F_{2, 180} = 43,57$ ;  $p \ll 0,001$ ). Los gametofitos femeninos y masculinos, y esporofitos del nivel inferior alcanzaron una longitud promedio entre 13,3 y 17,8 cm, respectivamente, mientras que en el nivel medio estas medidas estuvieron entre 13,5 y 15,6 cm, y en el nivel superior estos promedios variaron entre 10,1 y 12,4 cm (FIGURA 21). Los esporofitos y los gametofitos femeninos presentaron significativamente mayor longitud que los gametofitos masculinos (ANDEVA,  $F_{2, 180} = 14,97$ ;  $p \ll 0,001$ ). Estos resultados muestran que, en relación a la altura vertical total de la banda en un roquerío sin arena, la diferencia promedio máxima en la longitud de las láminas entre la zona superior e inferior fue entre 3,2 y 5,4 cm.

El ancho de las láminas mostró una tendencia similar que la longitud total, siendo significativamente mayor en los niveles inferior y medio la banda de *M. laminarioides* (FIGURA 21). Por otra parte, los resultados también indicaron que el ancho de lámina entre los tipos de individuos de vida libre presentó diferencias significativas (TABLA 13), siendo

significativamente mayor en los gametofitos femeninos que en los gametofitos masculinos y esporofitos (FIGURA 21).

La relación longitud/ancho de las láminas no mostró diferencias entre los niveles de la banda de *M laminarioides*, pero sí indicó diferencias entre los tipos de individuos de vida libre, siendo mayor esta relación en los esporofitos que en los dos tipos de gametofitos (FIGURA 21). En resumen, las láminas fueron más largas y anchas en el nivel medio e inferior de la banda de *M. laminarioides*. Sin embargo, la diferencia en la longitud entre las láminas de la zona alta y la zona baja fue de menos de 8 cm.

TABLA 13

Resumen de análisis de varianza (N=189) de la comparación de altura de la banda de *M. laminarioides* para las variables evaluadas en los gametofitos masculinos, femeninos, y esporofitos del nivel inferior, medio y superior del Sitio 3 complementario de la Desembocadura del río Biobío. Ti: Tipo de individuo; N: Nivel de la banda. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud total</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Ti	2	294	147,17	14,97	<<0,001
N	2	857	428,33	43,57	<<0,001
Ti × N	4	68	17,04	1,73	0,144
Error	180	1769	9,83		
<b>Ancho de lámina</b>					
Ti	2	14	6,83	9,26	0,0001
N	2	41	20,65	28,02	<<0,001
Ti × N	4	2	0,52	0,70	0,590
Error	180	133	0,74		
<b>Longitud/ancho de lámina</b>					
Ti	2	44,761	22,38	30,83	<<0,001
N	2	0,582	0,29	0,40	0,670
Ti × N	4	2,144	0,54	0,74	0,567
Error	180	130,66	0,73		

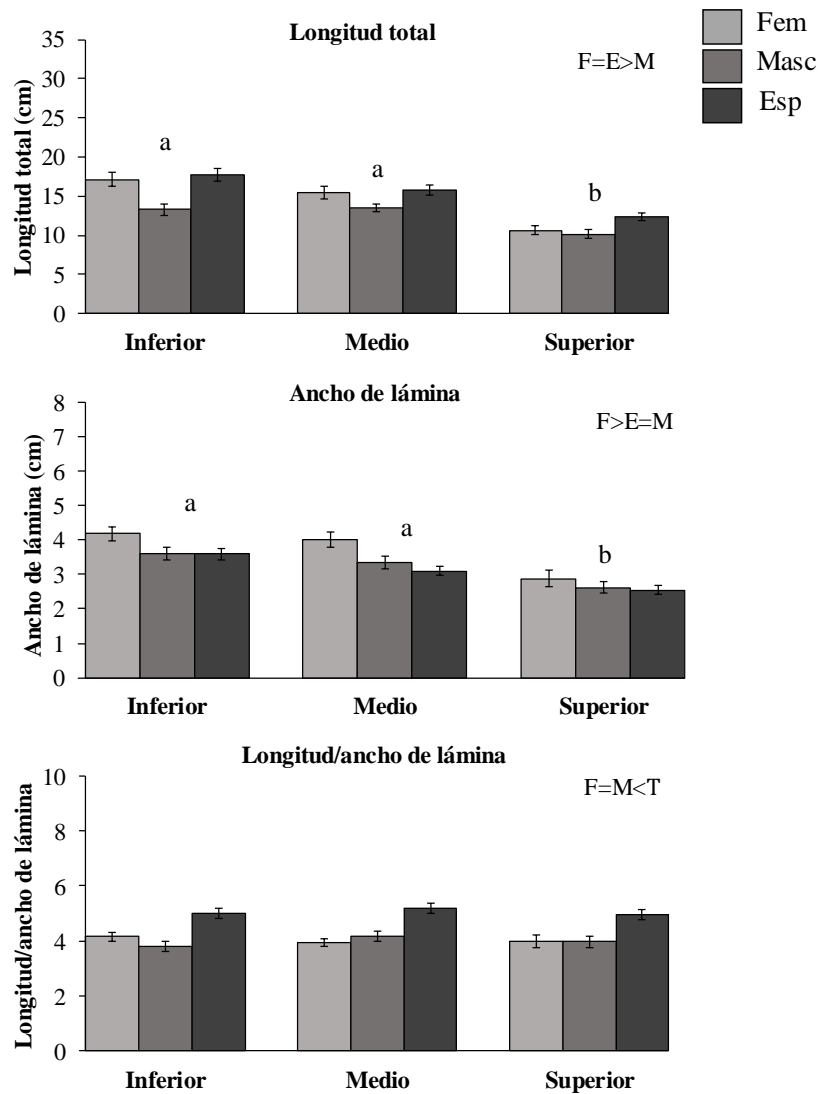


FIGURA 21:

Promedios ( $\pm$  error estándar, N=190) de las variables evaluadas en gametofitos masculinos (Masc) y femeninos (Fem), y esporofitos (Esp) del nivel inferior, medio y superior de la banda de *M. laminarioides* en roqueríos del Sitio 3 de la Desembocadura del río Biobío. Las letras sobre las barras indican diferencias significativas de la prueba a posteriori Tukey ( $\alpha=0,05$ ). Las letras F, M y E indican las diferencias entre los gametofitos femeninos, masculinos, y esporofitos, respectivamente, de la prueba a posteriori Tukey.

*Evaluación de la altura intermareal*

Los límites inferior y superior de la banda de *M. laminarioides* muestreada estuvieron en rangos equivalentes en los sitios con y los sitios sin arena. El límite inferior de los sitios sin arena se encontró entre 0,8 y 1,5 m sobre el nivel cero de mareas, mientras que en los sitios con arena estuvo entre 0,7 y 1,0 m (FIGURA 22). El ANDEVA para el límite inferior no fue diferente entre las dos condiciones (TABLA 14: ANDEVA;  $F_{1,6} = 3,04$ ;  $p < 0,13$ ), pero si mostró diferencias significativas entre los sitios de cada condición (TABLA 14: ANDEVA;  $F_{1,6} = 17,76$ ;  $p < 0,001$ ). Coliumo y el Sitio 1 de la Desembocadura sin arena presentaron alturas similares a los sitios con arena Desembocadura (Sitio 1) y Coronel (FIGURA 22). En cambio, en Chome y el sitio 2 de la Desembocadura el nivel inferior de la banda muestreada presentó mayor altura, mientras que Merquiche y el sitio 2 con arena de la Desembocadura mostraron valores intermedios (FIGURA 22).

Las alturas del límite superior (de la banda muestreada) en los sitios sin arena estuvo entre 1,1 y 1,7 m, siendo mayor en Chome y el Sitio 2 de la Desembocadura (FIGURA 22). En los sitios con arena las alturas estuvieron entre 0,8 y 1,2 m sobre el nivel cero de mareas (FIGURA 22). En este caso, Merquiche y el Sitio 2 de la Desembocadura presentaron alturas similares al Sitio 1 de la Desembocadura sin arena.

TABLA 14

Análisis de varianza para las alturas del límite inferior y el límite superior de la franja colectada de la banda de *M. laminarioides*. C: Condición; S: Sitio; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

Fuente de variación	Límite Inferior					Límite superior				
	GL	SC	CM	F	P	GL	SC	CM	F	P
C	1	0,16	0,16	3,04	0,13	1	0,928	0,928	2,671	0,153
S(C)	6	0,31	0,05	17,76	$<0,001$	6	2,085	0,348	26,01	$<0,001$
Error	24	0,07	0,00			24	0,321	0,013		

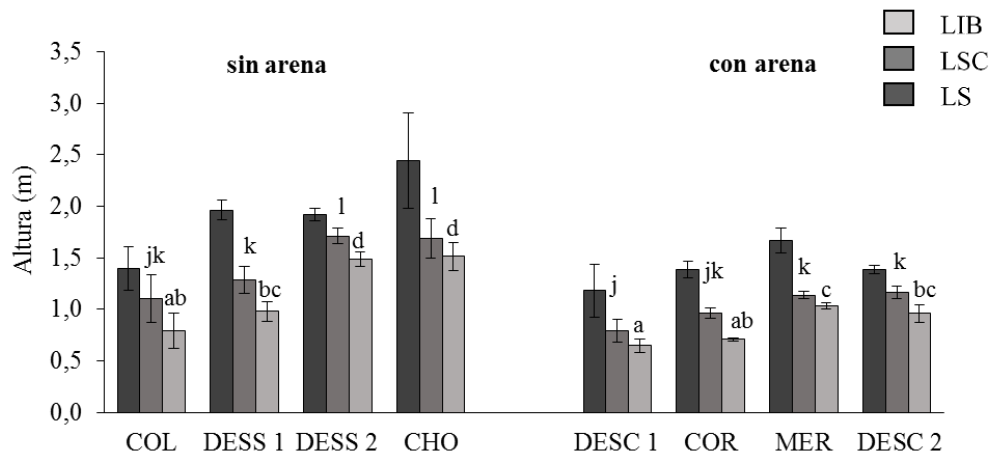


FIGURA 22:

Promedios ( $\pm$  desviación estándar) de altura intermareal para cada condición y sitio de muestreo. Se muestran los tres niveles: el límite superior (LS) e inferior de la banda de *M. laminarioides* (LIB) y el límite superior de la franja colectada (LSC). Las letras indican diferencias significativas del análisis de varianza para los límites inferior de la banda de *M. laminarioides* (letras a-c) e inferior de la franja colectada (letras j-l).

### Descripción de la composición de especies de zonas bajas de roqueríos con y sin arena

En el muestreo de la cobertura evaluada de forma estándar (superficie superior) de las zonas bajas de los sitios muestreados se identificaron 18 taxa de macroalgas y macroinvertebrados sésiles. En la TABLA 15 se presenta el promedio de cobertura (%) en cada sitio con y sin arena. *M. laminarioides* fue abundante en ambas condiciones (con y sin arena), su cobertura promedio estuvo entre 36 y 68,2% (TABLA 15).

En cuanto a las demás macroalgas presente, las algas rojas (Rhodophyta) fueron las más abundantes, con 10 taxa, seguidas de algas verdes (Chlorophyta) con cuatro, mientras que sólo se encontró una especie de alga parda (Phaeophyceae). Aparte de *M. laminarioides*, la ocurrencia de las demás especies de macroalgas dependió del sitio. *Sarcothalia crispata*. y

*Gelidium* sp., estaban en baja abundancia, mientras que “*Porphyra* spp.” fue abundante en los dos sitios sin arena de la Desembocadura y escasa en los sitios con arena. Especies de Ceramiales fueron abundantes sólo en Chome. En los sitios sin arena, *Mastocarpus latissimus* fue abundante sólo en Coliumo, pero fue abundante en tres de los sitios con arena, mientras que *Codium bernabei* y *Schottera nicaeensis* solo estuvieron presente con abundancia muy baja en los sitios sin arena. Otras especies presentes, aunque con valores muy bajos de cobertura fueron *Rhizoclonium* sp., *Ralfsia* sp., algas rojas crustosas no calcáreas, y algunas especies descritas como tolerantes a la arena, como fue el caso de *Nothogenia* sp. (Santelices, 1990). También fue frecuente encontrar a *Ulva* sp. siendo más abundante en Chome. Se identificaron cuatro especies que estuvieron ausentes en los sitios sin arena, las cuales correspondieron a *Ahnfeltiopsis durvillei*, *Asterfilopsis disciplinalis*, *Mazzaella membranacea*, y *Grateloupia* sp. Esta última con menor abundancia (TABLA 15). Los macroinvertebrados sésiles más abundantes en sitios sin arena fueron los choritos *P. purpuratus* (13,8-14,7%) y el cirripedio *J. cirratus* (2,2-9,7%). En estos sitios sin arena la ocurrencia de roca desnuda fue baja, excepto en Coliumo donde alcanzó  $16 \pm 6,3\%$  (TABLA 15) y fue un poco mayor en los sitios con arena

En la cobertura del segundo nivel (superficie inferior), el mitílido *P. purpuratus* fue dominante en tres de los sitios sin arena y mayormente ausente en los sitios con arena, excepto en Merquiche, donde presentó alta abundancia (TABLA 15). El cirripedio *J. cirratus* fue más abundante en Coliumo. En sitios con arena, *J. cirratus* estuvo ausente mientras que *Semimytilus algosus* presentó mayor abundancia en sitios con arena (TABLA 15).

Los resultados mostraron que hubo diferencias en la cobertura de especies evaluada de la forma estándar. El análisis multivariado PERMANOVA mostró diferencias significativas en los sitios de cada condición ( $F_{\text{pseud}}=8,13$ ;  $P=0,001$ ) (TABLA 16). En el segundo nivel los macroinvertebrados fueron más abundantes en sitios sin arena pero no significativamente ( $F_{\text{pseud}}=6,90$ ;  $P=0,056$ ), aun cuando los sitios de cada condición fueron significativamente distinto ( $F_{\text{pseud}}=16,79$ ;  $P=0,001$ ) (TABLA 16). Por lo tanto, al igual en la cobertura medida con la forma estándar, los sitios indicaron diferencias.

Tabla 15

Porcentaje de abundancia ( $\pm$  desviación estándar) de macroalgas y de macroinvertebrados sésiles evaluada de la forma estándar y el segundo nivel en roqueríos de los sitios con y sin arena. DESS 1 y DESS 2: Sitio 1 y 2 de la Desembocadura sin arena; CHO: Chome; COL: Coliumo; DESC 1 y DESC 2: Sitio 1 y 2 de la Desembocadura; COR: Coronel; MER: Merquiche.

(a) Forma estándar (superficie superior)	Sin arena				Con arena			
	DESS 1	DESS 2	CHO	COL	DESC 1	DESC 2	COR	MER
<i>Mazzaella laminarioides</i>	68,2 (17,5)	60,0 (17,1)	36,0 (25,7)	51,0 (22)	38,0 (19)	68,0 (14,7)	43,7 (29,2)	50,0 (3,1)
<i>Sarcothalia crispata</i>	-	1,5 (3,2)	4,3 (6,7)	1,2 (2,9)	-	1,5 (3,7)	-	-
<i>Gelidium</i> spp.	3,5 (7,2)	-	4,8 (9,9)	2,7 (5,6)	-	0,2 (0,4)	8,7 (8,5)	3 (4,3)
<i>Porphyra</i> spp.	10,2 (7,8)	22,7 (10,7)	1,5 (1,5)	-	0,7 (1,6)	1,5 (1,8)	0,7 (1,6)	-
Ceramiales	0,8 (2,0)	0,3 (0,8)	23,8 (16,8)	-	-	-	-	0,6 (1,0)
<i>Mastocarpus latissimus</i>	-	-	-	15,7 (14,6)	19,7 (8,9)	10,8 (13,8)	1,2 (1,3)	19,6 (9,6)
<i>Codium bernabei</i>	-	-	-	0,2 (0,4)	-	-	-	-
<i>Schottera nicaeensis</i>	-	-	2 (4,9)	0,2 (0,4)	-	-	-	-
<i>Rhizoclonium</i> sp.	-	-	0,5	-	-	-	-	-
<i>Ralfsia</i> sp.	0,5 (0,8)	-	-	0,7 (1,2)	2,7 (2,6)	2,0 (3,2)	2,8 (4,9)	4,2 (4,8)
<i>Ulva</i> spp.	-	0,2 (0,4)	9,2 (8,9)	2 (2,5)	-	2,5 (4,0)	4,7 (5,0)	0,3 (0,8)
Costras rojas	-	-	-	1,2 (1,6)	1,7 (2,9)	-	-	3,4 (5,1)
<i>Perumytilus purpuratus</i>	14,7 (6,9)	13,8 (14,3)	13,8 (8,7)	-	-	1 (0,8)	-	6,6 (7,7)
<i>Jehlius cirratus</i>	-	-	2,2 (2,0)	9,7 (6,4)	-	-	0,5 (1,2)	0,2 (0,4)
"Roca desnuda"	0,3 (0,8)	1,2 (2,0)	1,8 (6,3)	16,0 (6,3)	15,7 (8,8)	1,7 (2,1)	12,7 (13,8)	12,7 (4,9)
<b>Especies reportadas como tolerantes a la arena</b>								
<i>Anfletioptis durvillei</i>	-	-	-	-	1,3 (2,4)	-	11,8(11,7)	-
<i>Asterfilopsis disciplinalis</i>	-	-	-	-	-	-	5 (5,9)	-
<i>Mazzaella membranacea</i>	-	-	-	-	1,2 (2,9)	-	7,8 (13,3)	-
<i>Grateloupia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	1,0 (2,4)	-
<i>Nothogenia</i> sp.	0,5 (0,8)	0,3 (0,8)	-	-	19,5 (19,7)	5,5 (9,6)	-	-
<i>Semimytilus algosus</i>	1,3 (3,3)	-	-	-	0,7 (1,2)	5,5 (8,6)	-	-
<b>(b) Segundo nivel (superficie inferior)</b>								
<i>Perumytilus purpuratus</i>	87,7 (15,5)	98,5 (2,5)	94,0 (6,0)	0,8 (1,3)	-	-	-	23,2 (35,3)
<i>Semimytilus algosus</i>	1,8 (4,5)	-	-	-	15,0 (15,8)	14,7 (20,1)	-	-
<i>Jehlius cirratus</i>	0,3 (0,51)	-	2,8 (4,0)	48,2 (38,2)	-	-	-	-

TABLA 16

Resumen del análisis de PERMANOVA para la cobertura de macroinvertebrados sésiles y macroalgas evaluada de la forma estándar y en el segundo nivel en roqueríos de sitios con y sin arena. Análisis realizado a partir de la matriz de similitud Bray Curtis (datos transformados a la raíz cuarta). C: Condición; S: Sitio; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; Pseudo *F*: estadístico PERMANOVA; P (perm): valor de probabilidad obtenido por permutación.

<b>Forma estándar</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	Pseudo- <i>F</i>	P(perm)
C	1	11677	11677	2,23	0,121
S(C)	6	31442	5240,3	8,13	0,001
Error	40	25773	644,32		
Total	47	68891			
<b>Segundo nivel</b>					
C	1	43034	43034	6,90	0,056
S(C)	6	37408	6234,7	16,79	0,001
Error	40	14857	371,43		
Total	47	95299			

En la ordenación gráfica del análisis de coordenadas principal (PCoA) de la cobertura medida de la forma estándar, se observó que el primer componente separó los sitios de acuerdo a la condición con arena/sin arena, excepto Coliumo que se relacionó con los sitios con arena Coronel y Merquiche. Los dos sitios sin arena de la Desembocadura fueron similares (FIGURA 23). En el segundo nivel también se observó que el primer componente separó los sitios sin arena de los sitios con arena, excepto para Coliumo y Merquiche que se presentaron separación de su propio grupo.

El análisis SIMPER mostró que la diferencia entre la cobertura evaluada de la forma estándar y en el segundo nivel, estuvo dada por las diferencias en la abundancia de especies entre los sitios con y sin arena. En sitios sin arena la mayor contribución estuvo dada por *P. purpuratus*, *Porphyra* sp., *Ulva* sp. y Ceramiales mientras que, en los sitios con arena estuvo dada por *M. latissimus*, roca desnuda y *Nothogenia* sp. (TABLA 17). En el segundo nivel en

sitios sin arena la mayor contribución estuvo dada por *P. purpuratus* y *J. cirratus* y en sitios con arena por roca desnuda y *S. algosus* (TABLA 17).

En resumen, tanto los sitios con y sin arena presentaron una composición de especies variable. Aunque presentaron especies en común, los sitios con arena presentaron especies que fueron más abundantes en esa condición, los cuales no ocurrieron o presentaron baja abundancia en los sitios sin arena.

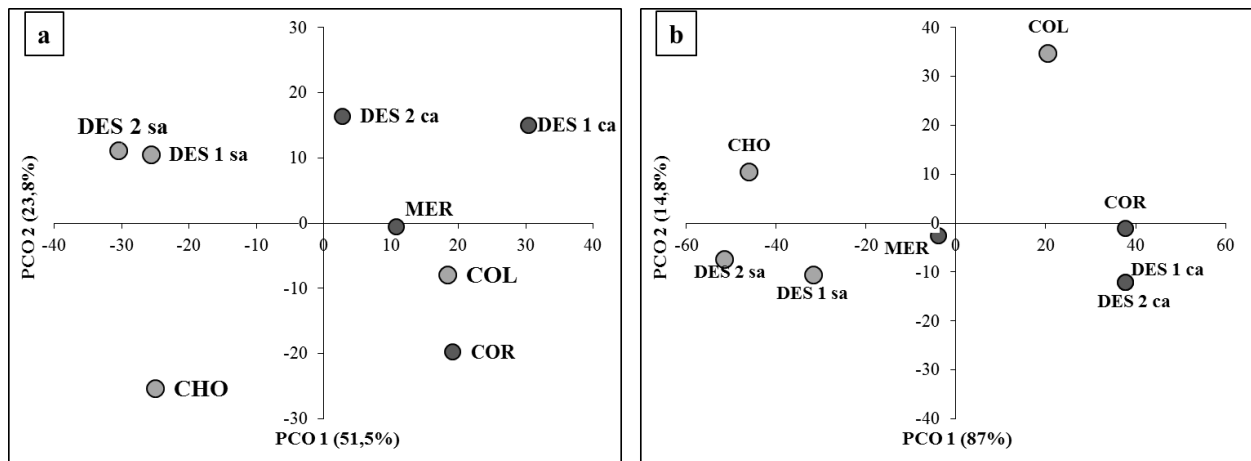


FIGURA 23:

Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) para la cobertura evaluada de la forma estándar (a) y el segundo nivel (b) en roqueríos de los sitios con y sin arena. COR: Coronel; MER: Merquiche; CHO: Chome; COL: Coliumo; DESS 1 y DESS 2: Sitio 1 y 2 de la Desembocadura sin aren; DESS 1 y DESS 2: Sitio 1 y 2 de la Desembocadura con arena.

Tabla 17

Análisis de porcentaje de similaridad (SIMPER) para las contribuciones de las especies más importantes de macroinvertebrados sésiles y macroalgas evaluadas de la forma estándar y en el segundo nivel de sitios con y sin arena.

	<b>Sin arena</b>	<b>Con arena</b>		
	Abundancia promedio	Abundancia promedio	% Contribución	% Acumulado
<b>Forma estándar</b> (superficie superior) Disimilaridad: 58,39				
<i>Mastocarpus latisimus</i>	0,48	3,05	12,19	12,19
<i>Perumytilus purpuratus</i>	2,73	0,66	10,38	22,57
"Roca desnuda"	1,15	2,78	9,47	32,04
<i>Porphyra</i> spp.	2,19	0,38	9,14	41,19
<i>Mazzaella laminarioides</i>	6,93	6,81	8,3	49,49
<i>Ulva</i> sp.	1,41	0,72	5,93	55,41
<i>Nothogenia</i> sp.	0,16	1,32	5,74	61,15
Ceramiales	1,30	0,11	5,27	66,42
<b>Segundo nivel</b> (superficie inferior) Disimilaridad: 70,28				
<i>Perumytilus purpuratus</i>	7,37	1,29	41,39	41,39
"Roca desnuda"	2,78	8,79	39,79	81,18
<i>Jehlius cirratus</i>	1,84	0	10,31	91,49
<i>Semimytilus algosus</i>	0,14	1,47	8,51	100

### Experimento de trasplantes de discos de *M. laminarioides*

El experimento de trasplante recíproco de discos realizado fue controlado entre noviembre de 2019 y marzo del 2020, sin embargo, no pudo ser monitoreado posteriormente debido a la restricción de acceso al sitio del montaje del experimento ocasionado por la contingencia sanitaria provocada por la pandemia del COVID-19. De 20 unidades experimentales trasplantadas inicialmente en octubre del 2019, en noviembre fueron encontrados únicamente 10 unidades. De estas, en el sitio sin arena, tres fueron provenientes del sitio con arena y dos de sitio sin arena, que corresponden al tratamiento control, siendo

un total de cinco unidades. En el sitio con arena se encontró la misma cantidad, pero tres fueron provenientes del sitio sin arena y dos correspondieron al tratamiento control. En la revisión de enero, se reportó la pérdida de tres unidades experimentales adicionales. En el sitio sin arena la pérdida fue de un disco proveniente del sitio con arena y en el sitio con arena la pérdida correspondió a dos unidades del tratamiento control.

En la revisión de marzo, en el sitio sin arena se encontraron las mismas unidades experimentales, pero en el sitio con arena sólo se encontraron dos unidades provenientes del mismo sitio, que correspondían al tratamiento control. Durante esta revisión, se observó que la arena había acrecido al nivel de los roqueríos en donde se instalaron los experimentos, de tal forma que la cobertura de algas sobre los roqueríos fue baja y había abundante roca desnuda (ver ANEXO 2). Por lo tanto, el efecto abrasivo de la arena pudo haber afectado las unidades experimentales instaladas sobre la roca. Incluso, se observó que, en los discos restantes en el sitio con arena, hubo recambio de las láminas dado que solo se observaron láminas pequeñas. Es decir, los discos luego del trasplante presentaron rebrotes y se veían sanos. La longitud de las láminas no fue posible de medir dado que se requería que estas alcanzaran una longitud distinguible para reconocer si el cambio de hábitat generaría un cambio en la longitud de las láminas.

### **Experimento de raspado de discos de *M. laminarioides***

El experimento de simulación de raspado por abrasión por arena fue controlado en los mismos meses que el experimento de trasplante. De las 20 unidades experimentales instaladas inicialmente, se encontraron 16 desde noviembre hasta finales de enero, pero luego en el muestreo realizado a inicios de marzo, sólo quedaban 10 de los discos iniciales. La reducción de los discos probablemente fue debido a desprendimiento de los *P. purpuratus* por el efecto del oleaje sobre las láminas *M. laminarioides*. Durante las revisiones de los discos, todos se encontraron sanos y presentaron primordios y láminas nuevas en la zona raspada. Es decir, hubo recrecimiento del disco e inicio de crecimiento de nuevos primordios. El número de primordios promedio en la zona raspada de los discos fue de  $8,7 \pm 4,5$ . Las mediciones de la longitud de las láminas en la zona raspada durante la última revisión en

terreno estuvieron entre 0,2 y 3,4 cm. También, en algunos discos fue posible observar láminas cortadas en la base.

Estos escasos resultados indican que los discos de *M. laminarioides* continúan su crecimiento luego de un efecto de abrasión sobre el tejido y además mostraron que el tejido es capaz de generar nuevas láminas.

### **Descripción del disco de *M. laminarioides***

Las mediciones de longitud, ancho y el cálculo de la relación longitud/ancho de células de tres partes del tejido de discos colectados en ambas condiciones, indicaron solo algunas diferencias entre las condiciones.

El disco de *M. laminarioides* consistió en una estructura crustosa que se encontraba fijada principalmente sobre roca o sobre el chorito *P. purpuratus*. Los discos eran estructuras aplanadas que mostraban principalmente la forma del sustrato.

A través de secciones anticlinales (radiales) se observó que la estructura interna del disco está conformada por dos tejidos: el hipotalo y el peritalo (FIGURA 24c). El hipotalo correspondió al tejido que está en contacto con el sustrato. Este tejido está constituido por numerosas capas de filamentos horizontales, creciendo radialmente, y terminando en el margen de la costra, donde usualmente se distinguen células muy alargadas y angostas que forman el meristema marginal del disco (FIGURA 24b). Ramificaciones de los filamentos del hipotalo crecen en forma asurgente hasta que, súbitamente, las células más o menos alargadas del hipotalo forman un tejido de filamentos verticales de células cortas y anchas. Este es el peritalo (Graham & Wilcox, 2000). Las células apicales del peritalo van generando una gruesa cutícula que cubre toda la superficie del disco y el meristema marginal (FIGURA 24b). La cutícula también se presenta recubriendo el meristema marginal.

Los discos de sitios con y sin arena no presentaron claras diferencias en cuanto a su histología. El grosor de los discos de sitios sin arena fue de  $47,9 \pm 4,5 \mu\text{m}$  y el de los sitios con arena de  $42,4 \pm 3,7 \mu\text{m}$ , no detectándose diferencias significativas (TABLA 18). En promedio, el hipotalo mostró  $22,8 \pm 2,7 \mu\text{m}$  capas de células en el centro de los discos colectados en sitios sin arena y de  $22,3 \pm 3,0 \mu\text{m}$  en los discos con arena, no detectando

diferencias significativas (TABLA 18). El margen (no considerando el meristema marginal) de los discos tuvo menor cantidad de capas, llegando a  $18 \pm 2,8 \mu\text{m}$  en sitios sin arena y  $17 \pm 1,8 \mu\text{m}$  en sitios con arena.

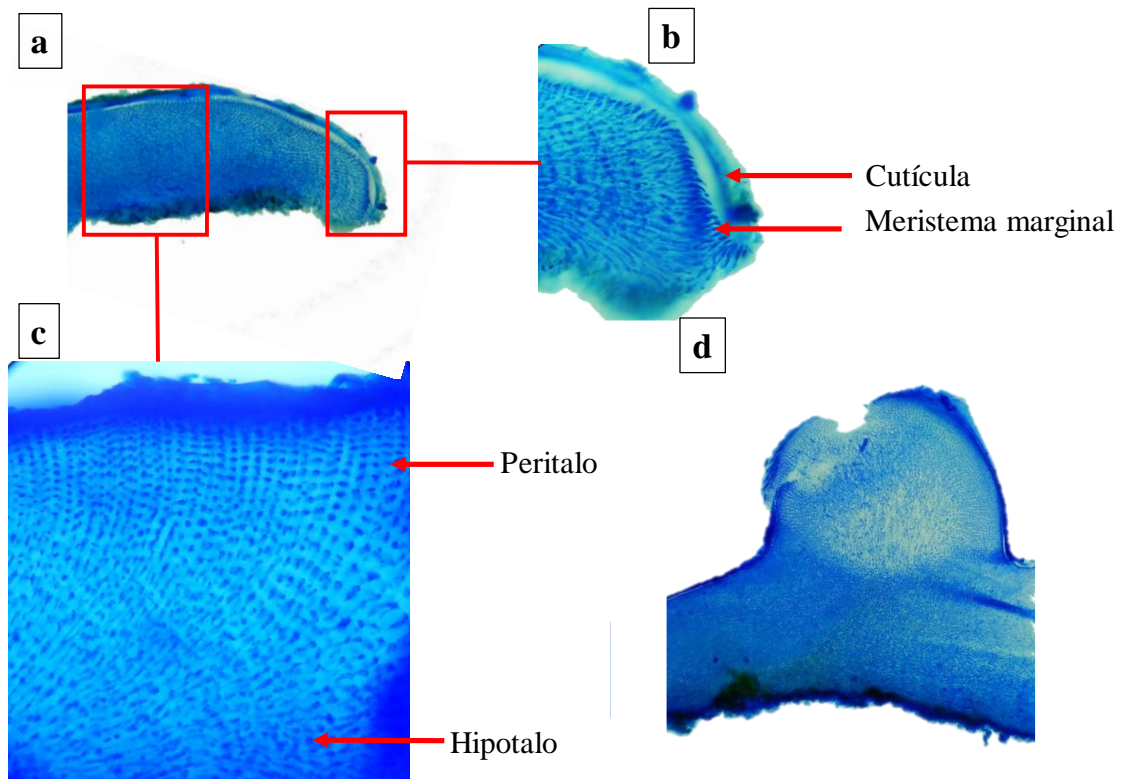


FIGURA 24:

Disco basal de *M. laminarioides*. (a) Sección anticlinal del disco (aumento 10x). (b) Meristema marginal y cutícula (aumento 40x). (c) Filamentos que conforman el peritalo y el hipotalo (aumento 40x). (d) rebrote originado del disco basal.

TABLA 18

Resumen de análisis de varianza de una vía de las variables grosor del disco y cutícula, número de capas de células del peritalo y del hipotalo y del meristema marginal, evaluadas en discos de *M. laminarioides* de sitios con y sin arena. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

Grosor del disco					
	GL	SC	CM	F	P
Condición	1	142,21	142,21	0,9182	0,35
Error	17	2632,9	154,88		
Grosor de cutícula					
Condición	1	0,79	0,79	0,754	0,40
Error	16	16,75	1,05		
Nro. de capas del peritalo del centro					
Condición	1	2,5	2,5	0,021	0,89
Error	16	1864	116		
Nro. de capas del hipotalo del margen					
Condición	1	2,18	2,18	0,060	0,81
Error	16	584,10	36,51		
Nro. de capas del hipotalo del centro					
Condición	1	0,89	0,89	0,016	0,90
Error	16	893,56	55,85		

El tamaño de las células del hipotalo (FIGURA 25) fue variable entre los discos de las dos condiciones. La longitud de las células del hipotalo mostraron diferencias entre los discos de cada condición (TABLA 19). Se encontró entre  $1,04 \pm 0,09 \mu\text{m}$  y  $2,13 \pm 0,06 \mu\text{m}$  en sitios sin arena y entre  $0,8 \pm 0,1 \mu\text{m}$  y  $2,8 \pm 0,4 \mu\text{m}$  de longitud en sitios con arena (FIGURA 25). El ancho de las células del hipotalo solo fueron significativamente diferentes entre los discos de cada condición (TABLA 19). Es decir, el ancho de célula dentro de cada disco fue variable, ubicándose entre  $0,2 \pm 0,05 \mu\text{m}$  y  $0,53 \pm 0,03 \mu\text{m}$  (FIGURA 25). Con los resultados de estas variables, la relación longitud/ancho de las células fue significativamente mayor entre los discos de sitios con arena (FIGURA 25; TABLA 19).

El peritolo no mostró diferencias en la mayoría de las mediciones entre discos de sitios con y sin arena. El número promedio de capas de células fue  $24,8 \pm 3,8 \mu\text{m}$  en discos de sitios sin arena y  $24 \pm 3,9 \mu\text{m}$  en discos de sitios con arena, no detectando diferencias significativas (TABLA 21). La longitud de las células mostró diferencias significativas en el factor condición (TABLA 20), siendo significativamente mayor en las células de discos provenientes de sitios sin arena (entre  $0,4 \pm 0,07 \mu\text{m}$  y  $0,9 \pm 0,04 \mu\text{m}$ ) que en las de discos provenientes de sitios con arena (entre  $0,2 \pm 0,02 \mu\text{m}$  y  $0,6 \pm 0,03 \mu\text{m}$ ). Además, se encontró diferencias significativas entre los discos en cada condición (FIGURA 25). El ancho de las células fue significativamente diferente solamente entre los discos, pero no entre las dos condiciones (TABLA 20). El ancho promedio estuvo entre  $0,3 \pm 0,03 \mu\text{m}$  y  $0,9 \pm 0,08 \mu\text{m}$  (FIGURA 25). La relación longitud/ancho por lo tanto, fue significativamente mayor en los discos de los sitios sin arena (entre  $0,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$  y  $2,3 \pm 0,7 \mu\text{m}$ ) que en los de sitios con arena (entre  $0,4 \pm 0,06 \mu\text{m}$  y  $0,9 \pm 0,03 \mu\text{m}$ ) (TABLA 20 y FIGURA 25).

TABLA 19

Resumen de análisis de varianza de las variables morfoanatómicas evaluadas en las células del hipotalo de discos de *M. laminarioides* de sitios con y sin arena. C: Condición; D: Disco. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud de célula del hipotalo</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
C	1	1,56	1,56	1,67	0,214
D(C)	16	15,29	0,96	4,38	<0,001
Error	50	10,92	0,22		
<b>Ancho de célula del hipotalo</b>					
C	1	0,01	0,01	0,34	0,5691
D(C)	16	0,40	0,02	2,66	0,0043
Error	50	0,47	0,01		
<b>Longitud/ancho de células del hipotalo</b>					
C	1	0,16	0,16	1,73	0,2071
D(C)	16	1,52	0,09	3,89	0,0001
Error	50	1,22	0,02		

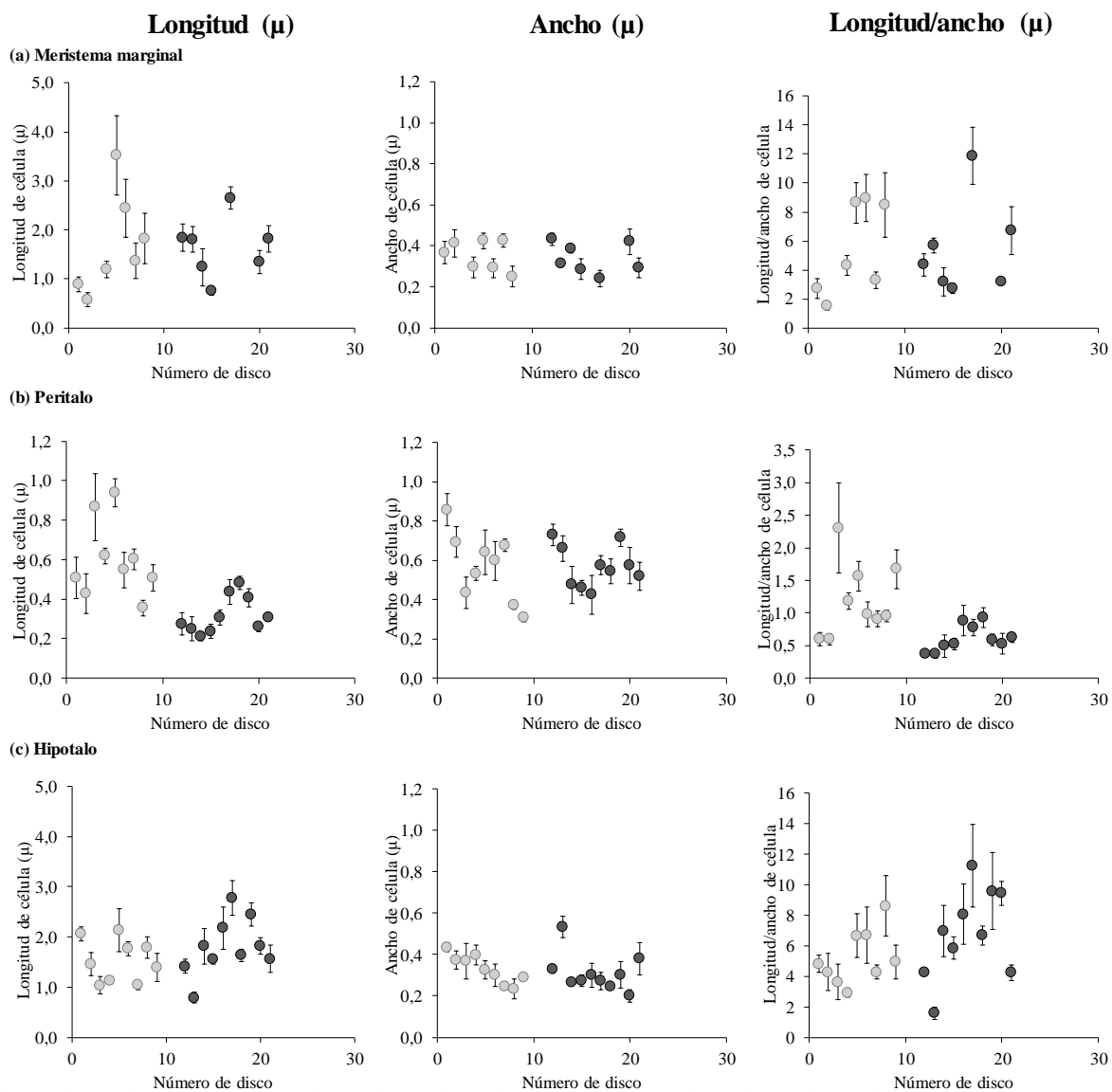


FIGURA 25:

Promedios ( $\pm$  error estándar estándar) de las variables longitud, ancho y relación longitud/ancho para las células del meristema marginal (a), el peritalo (b) e hipotalo (c) de discos de *M. laminarioides* de sitios con (círculo gris oscuro) y sin arena (círculo gris claro).

TABLA 20

Resumen de análisis de varianza de las variables morfoanatómicas evaluadas en las células del peritalo de discos de *M. laminarioides* de sitios con y sin arena. C: Condición; D: Disco. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

<b>Longitud de célula del peritalo</b>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
C	1	0,114	0,114	15,88	0,0011
D(C)	16	0,116	0,007	4,20	<0,001
Error	54	0,093	0,002		-
<b>Ancho de célula del peritalo</b>					
C	1	0,0005	0,0005	0,01	0,942
D(C)	16	1,3627	0,0852	4,49	<0,001
Error	54	1,0242	0,0190		
<b>Longitud/ancho de células del peritalo</b>					
C	1	0,2730	0,2730	9,67	0,007
D(C)	16	0,4539	0,0284	4,06	<0,001
Error	54	0,3778	0,0070		

En el caso de las células del meristema marginal, éstas fueron significativamente diferentes entre los discos de cada condición para las variables medidas (TABLA 21) y no indicaron diferencias significativas en la condición. La longitud de las células estuvo entre  $0,6 \pm 0,07 \mu\text{m}$  y  $2,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$  entre los sitios con y sin arena, respectivamente (FIGURA 25). Por su parte, el ancho de las células estuvo entre  $0,2 \pm 0,03 \mu\text{m}$  y  $0,4 \pm 0,04 \mu\text{m}$  (FIGURA 25). Con estas variables medidas, la relación longitud/ancho también fue significativamente variable entre los sitios (TABLA 21 y FIGURA 25).

El grosor de la cutícula no fue significativamente diferente entre los discos de ambas condiciones presentando un grosor de  $2,5 \pm 0,4 \mu\text{m}$  en discos de sitios sin arena y de  $2,0 \pm 0,3 \mu\text{m}$  en sitios con arena (TABLA 18).

Por otra parte, en relación al origen del rebrote solamente se observó en secciones de cinco discos el inicio del rebrote. Dado que la formación del rebrote en las secciones es

continuada por una forma “cónica invertida”, es decir, se ensancha hacia la superficie y se angosta hacia la capa basal o hipotalo, no fue posible confirmar el punto de origen de los rebrotes. En cuatro de los cinco discos, se observó que el rebrote inició su formación desde el tejido del hipotalo, en donde los filamentos presentan un crecimiento continuo hacia la superficie (FIGURA 24d). Esto se observó en los discos de roqueríos con y sin arena. Sin embargo, es necesario realizar secciones seriadas para verificar su origen. Por otro lado, se observó que el rebrote aparece en la superficie con forma de domo. En esta etapa el rebrote presenta células apicales en la superficie que se encuentran alargadas verticalmente a las que le subsiguen células del peritalo. El interior del rebrote está constituido por filamentos con grandes espacios intercelulares que son similares a la estructura de la médula de la lámina.

Con estos resultados del origen del rebrote no es posible comprobar que las láminas de sitios con y sin arena presentan un origen de tejido diferente. Además, las mediciones de las células indicaron que no hubo diferencias en la histología de los discos. Solamente la longitud y la relación longitud/ancho fueron las variables que indicaron diferencias en las células del peritalo y del hipotalo.

TABLA 21

Resumen de análisis de varianza de las variables morfoanatómicas evaluadas en las células del meristema marginal de discos de *M. laminarioides* de sitios con y sin arena. C:

Condición; D: Disco. GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrado medio; F: Estadígrafo de Fisher; P: Valor de probabilidad.

Longitud de célula del margen					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
C	1	0,03	0,03	0,14	0,707
D(C)	12	32,17	2,68	11,94	<0,0001
Error	36	8,08	0,22		
Ancho de célula del meristema marginal					
C	1	0,00	0,002	0,25	0,620
D(C)	12	0,24	0,02	2,33	0,025
Error	36	0,31	0,01		
Longitud/ancho de células del margen					
C	1	0,01	0,01	0,00	0,961
D(C)	12	464,13	38,68	7,35	<0,0001
Error	36	189,47	5,26		

## DISCUSIÓN

### **Comparación de la morfología de las láminas de *M. laminarioides* de roqueríos con y sin presencia de arena**

*M. laminarioides* es común en la zona media y baja de los roqueríos intermareales de Chile central. Se ha registrado que la longitud de las láminas puede alcanzar hasta 30 cm (Santelices 1990, Hoffmann & Santelices, 1997) y en otros estudios se han reportado longitudes menores, de sólo hasta 20 cm de longitud (Hannach & Santelices, 1985) y 160 cm<sup>2</sup> de superficie (Santelices & Martínez, 1997). No obstante, en el presente estudio en algunos roqueríos se encontraron grupos de láminas de hasta 40 cm o más. Incluso, la mayor lámina encontrada (aunque fuera de los muestreos) tuvo una longitud de 100,6 cm (ver FIGURA 1). Estos roqueríos donde las láminas alargadas eran frecuentes eran roqueríos que presentaban influencia de arena. La ocurrencia de láminas más grandes en sitios con mayor exposición a la arena ya había sido reportada por Fuentealba (2006). En ese estudio, que comprendió solo una localidad, no se entregó una explicación a la mayor longitud de las láminas en roqueríos con arena.

En el presente estudio, se compararon láminas de *M. laminarioides* de dos condiciones para determinar si su morfología podría estar relacionada con la influencia de arena. A través de la evaluación de la morfología de las láminas con morfometría tradicional, el PCA permitió separar las láminas de sitios sin arena de las láminas de sitios con arena (ver FIGURA 9). Los resultados mostraron que las láminas colectadas en roqueríos con influencia de arena fueron más largas y anchas que aquellas provenientes de roqueríos sin este factor (FIGURA 10). El sitio de Coronel fue la excepción. En este sitio fueron frecuentes las láminas de longitudes y ancho en categorías similares a las de láminas de sitios sin arena. La longitud y el ancho fueron mayores en los dos sitios de la Desembocadura con arena y en Merquiche. Estos resultados revelaron que las láminas de *M. laminarioides* alcanzaron longitudes mayores a las que han sido reportadas en la literatura (Hannach & Santelices, 1985; Santelices, 1990; Santelices & Martínez, 1997). En estos trabajos no se indicó si las láminas

provenían de roqueríos con arena. Sin embargo, la distribución de frecuencia indicó que las láminas con longitudes mayores de 30 cm son más frecuentes en sitios con influencia de arena y poco comunes o ausentes en los sitios sin arena. Para las otras variables evaluadas, aunque presentaron alta contribución en el PCA, no fue posible observar patrones que permitieran distinguir la morfología de las láminas de las dos condiciones.

Por otra parte, la morfología de las láminas fue también analizada a través de la MG. Esta herramienta ha sido ampliamente aplicada para estudiar la forma en animales (Foster et al., 2008; Klingenberg, 2015) y también se ha usado para analizar la forma de las hojas en plantas superiores (Viscosi et al., 2009; Viscosi & Cardini, 2011; Klingenberg et al., 2012; Viscosi, 2015; Manacorda & Asurmendi, 2018; Pollicelli et al., 2018). Sin embargo, en macroalgas la MG ha sido muy poco aplicada. Verbruggen et al. (2005) mencionan que los pocos estudios morfométricos en macroalgas puede ser debido a la sensibilidad de las estructuras a la variación y a la plasticidad morfológica.

En este estudio *M. laminarioides* presentó una forma variable entre las láminas de cada disco. Esta variabilidad puede ser explicada por las desviaciones o curvaturas que presentan las láminas en sus márgenes, lo cual podría explicar la variabilidad en el PCA (FIGURA 18). Además, el error de medición indicó que los puntos de referencia se pudieron ubicar con precisión en las láminas (ver FIGURA 19). Por lo tanto, las láminas de *M. laminarioides* digitalizadas de forma aplanada permitió ser un buen material de estudio para evaluar su forma a través de la MG.

Los resultados de MG indicaron que la forma y el tamaño del centroide de las láminas fueron significativamente diferentes para los sitios de cada condición tanto para los gametofitos como para los esporofitos (ver TABLA 8). Es decir, las láminas de cada condición mostraron una forma diferente. Por lo tanto, los resultados del análisis morfológico no solo indicaron diferencias en la longitud y ancho a través de la morfometría tradicional, sino que también la MG detectó diferencias en la forma de las láminas en las dos condiciones. Esto indica que las láminas presentan diferencias en el tamaño sino también en la forma entre los sitios con y sin arena.

En estudios de la morfología de hojas de plantas a través de la MG se ha podido confirmar diferencias en la forma a nivel intraespecífico (Viscosi & Cardini, 2011; Pollicelli et al., 2018). Incluso, se ha reportado amplia variabilidad individual en la morfología de las hojas de plantas superiores (Viscosi & Cardini, 2011). Estas variaciones en la forma no solo se explican por el efecto del tamaño como lo mencionan Klingenberg et al. (2012), sino también por un grado de plasticidad (Viscosi & Cardini, 2011; Klingenberg et al., 2012). En la macroalga verde *Halimeda tuna* también se estudió su morfología a través de la MG y se reportó variabilidad en la forma de los segmentos (Neustupa & Nemcova, 2018).

Dado que los resultados confirmaron que las láminas de *M. laminarioides* presentan diferencias entre los sitios con y sin arena, es necesario plantear posibles explicaciones para las diferencias observadas (ver más abajo).

### **Análisis molecular**

Los resultados moleculares indicaron que las láminas provenientes de sitios con y sin arena correspondieron a la misma especie, *Mazzaella laminarioides*. Esto fue consistente para todas las muestras analizadas a partir del marcador COI. Por otra parte, el análisis molecular indicó la existencia de seis nuevos haplotipos, lo cual puede ser evidencia de la alta variabilidad.

En este estudio gran parte de las muestras correspondieron al haplotipo C13 del clado Centro encontrado por Montecinos et al. (2012). Si bien se encontró variabilidad intraespecífica en las muestras de los seis sitios estudiados, los nuevos haplotipos se encontraron también dentro del mismo clado del Centro (ver FIGURA 7). Esto se comprobó en la relación filogenética, donde los haplotipos de este estudio se encontraron a una distancia filogenética menor que la distancia entre clados. La identificación de especies basada en el ADN puede ser limitante para las especies recientemente divergentes (Hebert et al., 2003; Stoeckle, 2003; Leliaert et al., 2014). Sin embargo, de acuerdo a Saunders (2005), el gen COI funciona bien para la identificación de especies de algas rojas, inclusive para especies de algas rojas estrechamente relacionadas.

Por otra parte, los resultados también indicaron que la ocurrencia de estos haplotipos fue independiente de la condición, es decir, muestras de sitios con arena y sin arena compartieron el mismo haplotipo (ver FIGURA 8). Entonces, con estos resultados no se tiene evidencia de que la ocurrencia de las láminas largas de sitios con arena se deba a la presencia de una especie distinta. Estudios similares se han realizado en macroalgas rojas por algunos autores, los cuales han demostrado que, aunque presentaron diferencias morfológicas, correspondieron a la misma especie, como lo es el caso de las macroalgas rojas *Chondrus ocellatus* (Chopin et al., 1996), *M. splendens* (Ross et al., 2003) y *Chondracanthus chamissoi* (Rodríguez & Otaíza, 2020).

### **Comparación entre los tipos de individuos de vida libre de *M. laminarioides***

Otro factor que podría explicar la ocurrencia de láminas largas son las diferencias entre las fases gametofíticas y esporofíticas de *M. laminarioides*. Sin embargo, al comparar los tipos de individuo los resultados indicaron que tanto los esporofitos como los gametofitos presentaron significativamente mayor longitud y ancho en sitios con arena, siendo más notorio en los dos sitios de la Desembocadura con arena y en Merquiche (ver FIGURA 10). Por lo tanto, las diferencias en la morfología entre ambos tipos de individuos no explicarían la ocurrencia de las láminas largas, lo que permite apoyar la segunda hipótesis de este estudio.

Resultados similares han sido reportados por Rodríguez & Otaíza (2020) en *C. chamissoi*. En las dos formas descritas para esta especie los caracteres que permitían distinguirlas lo presentaban tanto los gametofitos como los esporofitos. Aun cuando las láminas de ambos tipos de individuos presentaron mayor longitud y ancho en sitios con arena, los resultados también revelaron diferencias morfológicas entre los gametofitos y esporofitos.

En *M. laminarioides* a pesar de tener un ciclo de vida isomórfico se han reportado diferencias morfológicas entre las láminas de individuos de las fases del ciclo de vida. Para esta especie se ha mencionado que los esporofitos tienden a ser más largos que los gametofitos (Hannach & Santelices, 1985; Santelices & Martínez, 1997) lo cual también se observó en este estudio. En *M. splendens* y en *M. linearis* también se ha reportado que las

fases difieren morfológicamente, donde los esporofitos son más angostos que los gametofitos (Shaughnessy, 2004). En *Sarcothalia* sp. (Hommerstrand et al., 1993) y en *Chondrus ocellatus* (Brodie et al., 1993) con ciclo de vida isomórfico también se ha reportado que presentan leves diferencias en su morfología.

### **Comparación de láminas de *M. laminarioides* de otoño-primavera e invierno-verano**

Dado que los muestreos no pudieron ser realizados en un mismo momento, la estacionalidad pudo tener un efecto sobre la morfología de las láminas.

Las comparaciones estacionales indicaron que las láminas presentaron un efecto estacional en la longitud y el ancho de la lámina (ver FIGURA 20). Diferencias estacionales en la longitud de las láminas de gametofitos y los esporofitos en *M. laminarioides* (citada como *Iridaea laminarioides*) se ha reportado por Hannach & Santelices (1985). Estos autores indicaron que los gametofitos femeninos y esporofitos fueron más largos en verano que en invierno. La misma tendencia fue encontrada en el estudio de Santelices & Martínez (1997). En verano las láminas de los gametofitos fueron más largas que en el resto de las estaciones, y en los esporofitos también encontraron diferencias entre invierno-verano. Chapman (1973) también reportó diferencias en la morfología del estipe de dos especies del género *Laminaria* (Phaeophyceae, Laminariales) dado el efecto estacional entre verano e invierno.

La diferencia encontrada en el ancho de las láminas de los gametofitos y los esporofitos puede estar vinculada con la época reproductiva de *M. laminarioides*. En el estudio de Santelices & Martínez (1997) la abundancia de láminas fértiles en otoño fue mayor. Los mismos autores también mencionan que la densidad de estructuras reproductivas (cistocarpos y soros tetrasporangiales) fue mayor y más uniforme en láminas largas que en láminas pequeñas. También estos autores reportaron que, en otoño, la distribución de frecuencia de las láminas de los esporofitos alcanzó clases de tamaño superiores a las de las otras épocas. Sin embargo, la clase de tamaño superior fue de 16-20 cm. En el trabajo de Hannach & Santelices (1985) no se reportaron categorías mayores a 20 cm, sin embargo, en el presente estudio se encontraron láminas en categorías de 45 y 50 cm. Además, las láminas de estas

longitudes fueron reportadas tanto en primavera (Desembocadura) como en invierno (Merquiche) (ver FIGURA 11 y 12).

Si la estacionalidad tuvo un efecto sobre la ocurrencia de láminas largas, las láminas de los sitios sin arena también hubiesen presentado mayores longitudes. Sin embargo, esto no fue observado en los resultados. Por lo tanto, aunque se reportaron diferencias estacionales en la longitud y el ancho de las láminas, la estacionalidad no explica la ocurrencia de las láminas de mayor longitud en los sitios con arena.

### **Comparación de láminas del nivel superior, medio e inferior de la banda de *M. laminarioides***

Dado que *M. laminarioides* forma una banda extensa verticalmente en la zona media de los roqueríos (Santelices, 1990), la longitud de las láminas podría variar dependiendo de la altura vertical de su distribución en el intermareal. La longitud promedio de las láminas del nivel superior a inferior se encontró entre 10,1 y 17,8 cm. Sin embargo, aun cuando las láminas fueron muestreadas en un gradiente vertical, éstas no mostraron grandes diferencias en la longitud como las diferencias observadas entre los sitios con y sin arena. En *M. laminarioides* no hay un estudio que indique la diferencia de la longitud de las láminas en el gradiente vertical de la zona intermareal. Hannach & Santelices (1985) compararon los niveles intermareales para *M. laminarioides* pero en términos de biomasa, y no hacen comparaciones en cuanto a la longitud de la lámina. En la macroalga roja *Chondrus crispus* se reportaron variaciones en su morfología en relación al nivel de la altura de la marea (Gutierrez & Fernández, 1992). En esta especie estos autores reportaron dos morfotipos y ambos se reconocieron por presentar diferencias en el número de dicotomías y en la forma de la fronda.

Las láminas de *M. laminarioides* de los ocho sitios con y sin arena correspondieron a láminas de la mitad inferior de la banda de *M. laminarioides*. Por lo tanto, la ocurrencia de las láminas largas de los sitios con arena no estaría dada por el efecto de la diferencia en la ubicación vertical de las láminas a lo largo de la banda de *M. laminarioides*. Además, los resultados indicaron que los límites inferior y superior de la banda de *M. laminarioides*

muestreada mostraron alturas similares en los sitios con y sin arena (ver FIGURA 22). Por lo tanto, esto indica que la ocurrencia de láminas largas no está dada por el efecto de la altura intermareal, debido a que los sitios de ambas condiciones indicaron tener alturas similares. Los sitios sin arena en Chome y el sitio 2 de la Desembocadura fueron los sitios con mayor altura intermareal.

De acuerdo al modelo de Lewis (1964), en sitios expuestos la zona intermareal se hace más ancha y desplazada hacia arriba, y el ancho y altura de la banda disminuye en sitios protegidos. Las partes bajas experimentarían más acción del oleaje que las partes altas dado que están en contacto con el flujo de agua por mayor período de tiempo (Little & Kitching, 1996). Chome podría ser el sitio más expuesto al oleaje del presente estudio, donde la banda de *M. laminarioides* se hace más ancha con una diferencia de altura de 0,9 m entre el límite inferior y superior. Al ser Chome un sitio expuesto al oleaje puede explicar la ocurrencia de láminas de longitud menor que en los otros sitios dado que pueden permanecer menor tiempo sumergidas.

### **Comparación de las láminas entre los sitios con y sin arena**

Los resultados también revelaron variabilidad entre los sitios de ambas condiciones. Esto se observó en los análisis de varianza para las variables morfométricas de las láminas (ver FIGURA 10). La diferencia puede ser explicada por las características físicas de los roqueríos. Por ejemplo, el sitio muestreado en Coliumo abarcó roca madre con superficies de alta pendiente, mientras que el Sitio 1 de la Desembocadura con arena estuvo conformado por roca madre de baja pendiente en comparación a los otros sitios (ver TABLA 2). Boaden & Seed (1985) describen a los roqueríos como hábitats de topografía variable, donde variables ambientales como la luz (Takada, 1999), la temperatura (Helmuth & Hofmann, 2001) y el flujo de agua (O'Donnell & Denny, 2008) pueden variar en respuesta a las estructuras topográficas que modifican el ambiente (Jackson, 2010).

En macroalgas se han reportado diferencias en la morfología entre gran y pequeña escala espacial. Santelices & Martínez (1997) reportaron que la longitud de las láminas gametofíticas de *M. laminarioides* fue mayor en algunos de los sitios de estudio. Shaughnessy

(1996) encontró que para *M. splendens* y *M. linearis* el ancho de la lámina disminuyó de menor a mayor exposición al oleaje. Así mismo, para el alga parda *Hormosira banksii* las variaciones en su morfología se han atribuido a parámetros morfométricos del talo, donde vesículas pequeñas y talos más largos se asociaron a sitios expuestos a mayor amplitud de marea que los otros sitios (Mueller et al., 2015; Clark et al., 2018).

Si las variables físicas de los sitios generan diferentes condiciones, algunas de las cuales permite un mayor crecimiento a los talos, se esperaría que las láminas largas de *M. laminarioides* ocurran en sitios con características particulares. Sin embargo, en este estudio las láminas de *M. laminarioides* de mayor longitud y ancho se encontraron en más de un sitio, los cuales tuvieron en común la presencia de arena. Incluso, los Sitios 1 y 2 con y sin arena de la Desembocadura se encontraban a poca distancia (ver FIGURA 3). Por lo tanto, la influencia de arena en los roqueríos pareciera estar relacionada con la ocurrencia de láminas más largas que lo comúnmente encontrado en sitios sin arena.

### **Composición de especies de zonas bajas de roqueríos con y sin arena**

El análisis de la cobertura de especies de macroinvertebrados sésiles y de macroalgas permitió reconocer la biota acompañante de *M. laminarioides* en la zona baja de los roqueríos. Por su parte, *M. laminarioides* fue abundante en todos los sitios de estudio, por lo tanto, son roqueríos donde esta especie es común.

Los hábitats con influencia de arena presentan especies y comunidades particulares debido a la condición estresante (Daly & Mathieson, 1977; Bretz, 1995). En particular, varios estudios han reportado diferencias en la diversidad y en la composición de especies de macroalgas por el efecto del sedimento (Daly & Mathieson, 1977; Litter et al., 1983; Airoidi & Cinelli, 1997; Balata et al., 2007; Imchen, 2015). Si estos hábitats donde crecen láminas de mayor longitud de *M. laminarioides* presentan diferencias en relación a la presencia o ausencia de especies podría explicar que las láminas largas ocurren en un hábitat diferente que las láminas de sitios sin arena.

En el presente estudio, entre las especies presentes en sitios sin arena se encontraron *Codium bernabei*, *Sarcothalia crispata*., *Porphyra/Pyropia* sp. y *Ulva* sp. Por su parte, en

*Ulva* sp. y *Porphyra* sp. se han referido como especies de rápida colonización (Santelices, 1990). De hecho, en estudios relacionados con el efecto de la arena sobre especies de macroalgas, estas especies se han encontrado en sitios que son influenciados periódicamente por arena (Daly & Mathieson, 1977) y en hábitats en donde la arena ha erosionado (Bretz, 1995). Si bien no hay reportes sobre la resistencia al efecto de la arena en *Codium bernabei*, en la especie congénérica *Codium setchelli* se ha mostrado que puede crecer en sitios con y sin arena (Trowbridge, 1996) pero con limitación en talos pequeños en sitios con arena que son afectados por enterramiento ya que disminuye su biomasa. En el presente estudio *Codium bernabei* no fue encontrada en todos los sitios con arena y en Merquiche se encontró sobre un paredón vertical de roca. En Coliumo a pesar de que no se registró en los cuadrantes, se observó su presencia en la zona baja de los roqueríos. Por lo tanto, parece que esta especie que puede crecer en ambas condiciones.

Por otra parte, las especies *Ahnfeltiopsis* spp., *Grateloupia* sp. y *S. algosus* han sido reportadas en la literatura como tolerantes a la influencia de arena (Santelices, 1990; Daly & Mathieson, 1977; Hoffmann & Santelices, 1997). En el caso de los talos de *Ahnfeltiopsis durvillei* y *Asterfilopsis disciplinalis* fueron encontrados en la mayoría de los sitios con arena creciendo en la parte inferior de la banda de *M. laminarioides*. En algunos sitios, como en Coronel, estas especies fueron encontradas creciendo entre láminas de *M. laminarioides*. Sin embargo, esto no fue así en todos los sitios ya que *Ahnfeltiopsis durvillei* y *Asterfilopsis disciplinalis* usualmente estuvieron presentes en niveles más bajos de la zona intermareal. Para las especies *Asterfilopsis disciplinalis*, *Ahnfeltiopsis durvillei* (Hoffmann & Santelices, 1997), *M. stellatus* (como *Gigartina stellata*) y *Chondrus crispus* (Daly & Mathieson, 1977) se reporta que son comunes en sitios con arena. También se ha indicado que, *Nothogenia* sp., *Ahnfeltiopsis linearis* (Hoffmann & Santelices, 1997) así como también *Mazzaella capensis* (Anderson et al., 2008) pueden tolerar el efecto de la arena. Si bien no hay reportes del hábitat de *M. membranacea* esta ha sido observada en este estudio únicamente creciendo sobre roqueríos con arena.

Para Chile no hay reportes de la presencia de *M. lattissimus* en sitios con arena, sin embargo, en este estudio esta especie fue abundante en los sitios con arena presentando

mayor contribución en esta condición (ver TABLA 15 y 17). En *M. papillatus* en California se demostró que podía tolerar el enterramiento por arena y permanecer por largo período de tiempo (Bretz, 1995). Dada la mayor abundancia y contribución de *M. lattissimus* en sitios con arena, podría ser que esta especie sea ocurrente en estos sitios expuestos al efecto dinámico de la arena. En especies de macroalgas que toleran la arena se han mencionado características que les permite crecer en estas condiciones (Stewart, 1983), las cuales son, regeneración de las frondes desde la base (Daly & Mathieson, 1977), crecimiento y reproducción sincronizado con la dinámica del sedimento, así como también, meristema apical con división de células por encima del sedimento (Stewart, 1983; Airoidi, 2003).

La presencia de *S. algosus* en la zona baja de los roqueríos con presencia de arena puede deberse a la capacidad de presentar mayor capacidad de filtración que *P. purpuratus*. Santelices (1990) menciona que el chorito *P. purpuratus* es dominante en la zona media del intermareal mientras que para *S. algosus* se ha reportado que crece en la zona baja intermareal y puede estar en presencia de arena (Caro & Castilla, 2004; Pinochet et al., 2018). Lo anterior fue observado en este estudio, presentando *P. purpuratus* mayor abundancia y mayor contribución en los sitios sin arena tanto en la parte superior como en el segundo nivel (ver TABLA 15 y 17). Además, los resultados indicaron que los sitios sin arena presentaron principalmente *P. purpuratus* y *J. cirratus* mientras que los roqueríos con arena presentaron menor abundancia de macroinvertebrados, principalmente.

La mayor abundancia de roca desnuda en sitios con arena, podría estar dada por el efecto abrasivo de la arena (Litter et al., 1983; Bretz, 1995; Airoidi, 1998). Bajo esta condición son limitadas las especies que pueden permanecer mayor tiempo debido a que la arena causa enterramiento o daño en los tejidos (D' Antonio, 1982; Bretz, 1995). La mayor abundancia de roca desnuda en Coliumo (sitio sin arena) puede ser explicada por las características físicas del sitio, ya que estaba conformado por bolones, los cuales, en algunos casos, tendieron a estar descubiertos de biota. De hecho, no se reportó la presencia de *P. purpuratus* en la zona baja de estos roqueríos (ver TABLA 15) sino que éstos se encontraron desplazados hacia la parte alta y eran poco abundantes, mientras que el cirripedio *J. cirratus* fue el macroinvertebrado más abundante tanto en el primer como en el segundo estrato.

Dado que la biota acompañante en los roqueríos donde ocurren láminas de mayor longitud de *M. laminarioides* son reportadas como tolerantes al efecto de la arena, las láminas largas ocurren, entonces, en un microhábitat diferente a las láminas de sitios sin arena.

### **Posibles explicaciones**

Para diferentes especies de macroalgas, el grado de exposición al oleaje es uno de los factores que más frecuente explican la variabilidad en la morfología (Gutierrez & Fernández, 1992; Shaughnessy, 1996; Stewart & Carpenter, 2003; D'Amours & Scheibling, 2007; Haring & Carpenter, 2007; Shibneva & Skriptsova, 2012). En el caso del alga roja *Chondrus crispus* los talos son estrechos y presentan pocas dicotomías cuando crecen en sitios expuestos al oleaje mientras que, en sitios protegidos son planos, anchos y con muchas dicotomías (Gutierrez & Fernández, 1992). En *Sarcothalia radula* (citada como *Gigartina radula*) también se ha reportado que su morfología varía en relación al oleaje. En sitios expuestos las láminas fueron estrechas, largas, gruesas y robustas mientras que, en sitios protegidos las láminas fueron anchas, cortas y delgadas (Jackelman & Bolton, 1990).

Dado que en el presente estudio las láminas fueron muestreadas en el límite inferior de la banda y la altura de los sitios con y sin arena fue equivalente, se esperaría que la exposición al oleaje sea similar, en donde las partes bajas experimentarían más acción del oleaje de acuerdo al modelo de Lewis (1964). Sin embargo, aunque las alturas fueron equivalentes, los sitios sin arena no presentaron láminas de mayor longitud y ancho como en los sitios con arena. Por lo tanto, la ocurrencia de las láminas largas de *M. laminarioides* no podría ser explicada por el efecto de la exposición al oleaje.

No obstante, dado que las láminas de mayores longitudes ocurren mayormente en el límite inferior de los sitios con arena, no se puede descartar que las láminas tengan una respuesta plástica dadas las condiciones del ambiente. Esto se intentó poner a prueba a través de experimentos de trasplantes recíprocos en roqueríos intermareales. Sin embargo, no fue posible evaluar si el efecto del hábitat influyó sobre la morfología de las láminas debido a las pérdidas de los trasplantes o porque las láminas en los discos que permanecieron eran aun pequeñas para reconocer su morfología.

En experimentos de trasplantes recíprocos en otras especies de macroalgas se ha determinado que la variabilidad en la morfología de los talos se debe a rasgos plásticos de éstos a determinadas condiciones (Fowler-Walker et al., 2006). Por ejemplo, en el alga parda *Ecklonia radiata* se observó que los talos fueron anchos y delgados en sitios protegidos, y estrechos y gruesos en sitios expuestos (Fowler-Walker et al., 2006). No obstante, para las macroalgas rojas *M. splendens* y *M. linearis* la plasticidad fenotípica no explicó totalmente la variabilidad por el nivel de exposición al oleaje, dado que los talos no mostraron cambios en todos los caracteres morfológicos al ser transplantados (Shaughnessy, 2004). Por lo tanto, esto puede mostrar que variaciones en la morfología de macroalgas podría ser explicado por un mecanismo diferente a lo mencionado anteriormente.

El efecto abrasivo de la arena en superficies rocosas podría causar muerte o pérdida parcial de tejido de los talos (Airoidi, 1998). La morfología crustosa así como la capacidad de regeneración del disco basal podría facilitar la supervivencia del alga en estos ambientes (Littler & Littler, 2002; Anderson, et al., 2008) como ha sido sugerido para *A. furcellata* (Hoffmann & Santelices, 1997) la cual presenta un esporofito crustoso, mientras que en *M. capensis* que es isomórfica, puede producir nuevos rebrotes a partir del disco basal luego del enterramiento por arena (Anderson et al., 2008). Siguiendo este argumento, se propone que el origen de las láminas largas podría ser por una explicación diferente a lo que ha sido reportado para la variabilidad morfológica en las macroalgas y que es similar a lo propuesto para *Chondracanthus chamisoi* (Rodríguez & Otaíza, 2020). Las láminas largas de sitios con arena se generarían a partir de discos que han sido abradidos por arena, mientras que los discos que no sufren abrasión generarían las láminas de longitudes comúnmente descritas para *M. laminarioides*.

En *M. laminarioides* las láminas se originan a partir del disco basal (Westermeyer et al., 1987; Gómez & Westermeyer, 1991; Scrosati, 1998). Por lo tanto, el efecto de la arena sobre el tejido del disco podría ocasionar daño o pérdida de este (ver ANEXO 3). Se esperaría que cambios a nivel celular durante el proceso de regeneración de tejido podría generar que las láminas crezcan de forma diferente. A través de experimentos de raspado se simuló el efecto de la arena sobre los discos de *M. laminarioides*. Sin embargo, no se alcanzó a obtener

resultados concluyentes sobre la morfología de las láminas regeneradas en la zona raspada debido a que los discos no presentaron láminas de tamaño suficiente para reconocer la morfología. No obstante, los resultados demostraron que los discos de *M. laminarioides* tuvieron la capacidad de regenerar rápidamente nuevos primordios en el área raspada.

Por otra parte, las observaciones histológicas indicaron que el disco de *M. laminarioides* presentó una estructura similar al de otras costras, como las costras de Corallinaceae (Cardinal et al., 1978; Lobban & Harrison, 1997; Graham & Wilcox, 2000), costras no calcáreas (Guimaraes & Fujii, 1999; Kato et al., 2009) y a la base crustosa de *Gigartina pistillata* (Hommersand et al., 1992). Los discos estuvieron constituidos por una capa basal, el hipotalo de filamentos asurgentes, que forma filamentos verticales que crecen de forma asurgente formando el peritalo.

A través de las observaciones de la histología no fue posible confirmar si los rebrotes de discos de sitios con arena muestran un origen distinto al de los rebrotes de los discos de sitios sin arena. La explicación propuesta en este estudio podría ser la correcta si los cambios que se producen a nivel celular ocurren como una respuesta funcional y no morfológica, esto explicaría el por qué no fue posible encontrar diferencias a través de la histología de los discos.

Como se mencionó al inicio, la explicación propuesta en este estudio se basa en lo evaluado por Perrone & Felicini (1972) en *Schottera nicaeensis* (= *Petroglossum nicaense*). En esta especie se describieron dos tipos de rebrotes, las proliferaciones y las regeneraciones (Perrone & Felicini, 1972; Perrone & Felicini, 1976). Las proliferaciones generan estructuras aplanadas con morfología similar al talo y las regeneraciones, que son de origen medular, generan estructuras cilíndricas que son de forma diferente al talo (Perrone & Felicini, 1972). Estos dos tipos de rebrotes, proliferaciones y regeneraciones, se pueden manifestar como respuesta a lesiones ocasionadas en el talo (Perrone & Felicini, 1972; Perrone & Felicini, 1976). Perroni & Felicini (1974) sugieren que las diferencias morfológicas en estos tipos de rebrotes es un fenómeno similar al de dominancia apical. La dominancia apical también se ha sugerido para *Gracilaria gracilis* (Smit & Bolton, 1999), *Pterocladia capillacea*

(Scrosati, 2002) así como también en Ceramiaceae (Stirk et al., 1997) debido a un aumento en las ramificaciones cuando el ápice es removido.

Siguiendo este mismo argumento, en *C. chamissoi* se han descrito dos formas (f. *chauvinii* y f. *lesonii*) y se ha propuesto que su origen estaría determinado por orígenes diferentes. El primero corresponde al origen primario, desde esporas (f. *chauvinii*), y el segundo al origen secundario (f. *lesonii*) desde rebrotes producidos a partir de los discos de adhesión secundaria (Rodríguez & Otaíza, 2020). Este mecanismo sigue el mismo argumento estudiado por Perrone & Felicini (1972) de las proliferaciones y regeneraciones. En *C. chamissoi* a través de secciones histológicas se reportaron diferencias significativas en el tamaño de las células del disco (Rodríguez, 2018). Sin embargo, en los discos de *M. laminarioides* la histología no mostró claras diferencias.

El mecanismo propuesto para explicar la variabilidad morfológica intraespecífica observada en *C. chamissoi* basándose en el estudio de (Perrone & Felicini, 1972; Perrone & Felicini, 1976; Perrone & Cecere (1997) podría explicar las diferentes formas de los talos que se ha asociado a otros factores en las macroalgas. Por ejemplo, en el caso de la macroalga *M. splendens*, la forma intermedia reportada en este estudio de Shaughnessy, (1996) se ha confirmado que corresponde a *M. splendens* (Ross et al., 2003). Sin embargo, en estudios de trasplantes se ha evaluado que su forma no cambia totalmente en el otro sitio donde fue transplantada (Shaughnessy, 2004). Por lo tanto, su variabilidad morfológica podría ser explicada por un mecanismo similar a lo propuesto en este estudio.

En diferentes especies de macroalgas se ha estudiado la capacidad regenerativa de los discos de fijación (Scrosati, 1998; Pacheco-Ruíz et al., 2005; Sáez et al., 2008) y de las láminas (Perrone & Felicini, 1972; Dudgeon & Johnson, 1992; Correa et al., 1999; Smit & Bolton, 1999). En *Gracilaria gracilis* se determinó que al cortar parte del tejido del talo generó un aumento la ramificación que los talos no tratados, lo que generó una diferenciación morfológica luego de largo período de crecimiento (Smit & Bolton, 1999). Por otro lado, en *Chondracanthus squarulosus* se ha reportado que los discos de origen secundario tienen la capacidad de generar nuevos individuos (Pacheco-Ruíz et al., 2005). Este nuevo origen de

crecimiento podría generar diferencias en la morfología, como lo sugerido para *C. chamissoi* (Rodríguez & Otaíza, 2020).

Conocer la causa del origen de las láminas largas en *M. laminarioides* es de gran importancia dado que esta especie, así como otras de la familia Gigartinaceae (*C. chamissoi*, *Gigartina skottsbergii* y *Sarcothalia crispata*) son de importancia económica. (Buschmann et al., 1999; Norambuena et al., 2001).

Por su parte, la capacidad regenerativa de los discos de *M. laminarioides* luego de un daño externo sobre el tejido, podría explicar la resistencia a las condiciones de abrasión dada la dinámica de la arena en los roqueríos intermareales. Si existen dos formas de *M. laminarioides*, la “forma larga” de mayor longitud y ancho de lámina de sitios con arena y la “forma común” con menor longitud y ancho podrían ser originadas de tejidos diferentes. La forma larga podría ser generada en respuesta a un efecto abrasivo sobre el disco que afecta el tejido y promueve la cicatrización y formación de nuevos rebrotes. El origen de nuevos rebrotes a partir de tejidos regenerados en la cicatrización podría tener características que le permite tener un mayor crecimiento. Además, si los talos están en presencia de constante flujo de agua le permitiría tener menor tiempo a la exposición de la desecación (Lobban & Harrison, 1997). Por lo tanto, el hábitat tendría características propias que le permitiría a las láminas largas de *M. laminarioides* tener un mayor crecimiento. En este caso, la forma larga sería más frecuente en los sitios con influencia de arena que en los sitios sin arena y la presencia de herbívoros en estos sitios podría ser baja debido al efecto de la arena (Bretz, 1995). La forma común tendría origen a partir de rebrotes del tejido no afectado por abrasión por arena. Por lo tanto, su ocurrencia sería baja en los sitios sin arena.

Si la explicación propuesta en este estudio es la correcta, la ocurrencia de láminas largas y anchas en estos ambientes permitiría mayor densidad de esporas por unidad de área de las láminas (Santelices & Martínez, 1997) además de tener una respuesta adaptativa sobre la resistencia al efecto de acreción y erosión de la arena. Esta capacidad favorecería su persistencia y propagación en este hábitat.

## CONCLUSIONES

1. El análisis molecular a partir del marcador COI indicó que las láminas de sitios con y sin arena correspondieron a la misma especie, *M. laminarioides*.
2. El análisis morfológico tradicional de las láminas de *M. laminarioides* mostró que las láminas de sitios con y sin arena difieren principalmente en la longitud y ancho de lámina.
3. El análisis de Morfometría Geométrica indicó que las láminas de sitios con y sin arena difieren en la forma y demostró un efecto alométrico.
4. La estacionalidad tuvo un efecto sobre la longitud y ancho de las láminas, pero no explicó la ocurrencia de las láminas largas en los sitios con arena.
5. El gradiente vertical de la banda de *M. laminarioides* no mostró grandes diferencias en la longitud como las diferencias observadas entre los sitios con y sin arena.
6. Las láminas de sitios con arena ocurren, en un microhábitat diferente a las láminas de sitios sin arena.
7. El experimento de trasplante no reveló resultados sobre la morfología de las láminas en un ambiente diferente debido a que la mayoría fueron desplazados o afectados por la abrasión de la arena.
8. El experimento de raspado no mostró resultados sobre la morfología de las láminas, pero indicaron que tienen capacidad de rebrotar y continuar su crecimiento luego de experimentar un efecto abrasivo sobre el tejido.
9. La histología de los discos de *M. laminarioides* no permitió confirmar si los rebrotes de discos de sitios con arena muestran un origen distinto al de los rebrotes de los discos de sitios sin arena.
10. Este estudio sugiere que la diferencia en la morfología (longitud, ancho) de *M. laminarioides* entre sitios con y sin arena podría deberse al origen del rebrote.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott I. A. & Hollenberg G. J. 1976. Marine Algae of California. Stanford University Press, Stanford, California. 826 p
- Airoldi, L. (1998). Roles of disturbance, sediment stress, and substratum retention on spatial dominance in algal turf. *Ecology*, 79(8), 2759–2770.
- Airoldi, L. (2003). The effects of sedimentation on rocky coastal assemblages. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, 41(October), 161–236.
- Airoldi, L., & Cinelli, F. (1997). Effects of sedimentation on subtidal macroalgal assemblages: an experimental study from a mediterranean rocky shore. *Journal of Experimental Biology*, 215, 269–288.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Alvarado, J. L., & Castilla, J. C. (1996). Tridimensional matrices of mussels *Perumytilus purpuratus* on intertidal platforms with varying wave forces in central Chile. *Marine Ecology Progress Series*, 133(1–3), 135–141. <https://doi.org/10.3354/meps133135>
- Anderson, M. ., Gorley, R. ., & Clarke, K. . (2008). *Permanova + for Primer: Guide to Software and Statistical Methods*. PRIMER-E Ltd.
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32–46. <https://doi.org/10.1080/13645700903062353>
- Anderson, R. J., Anderson, D. R., & Anderson, J. S. (2008). Survival of sand-burial by seaweeds with crustose bases or life-history stages structures the biotic community on an intertidal rocky shore. *Botanica Marina*, 51(1), 10–20. <https://doi.org/10.1515/BOT.2008.006>
- Apt, K. E. (1984). Effects of the symbiotic red alga *Hypneocolax stellaris* on Its Host *Hypnea Musciformis* (Hypneaceae, Gigartinales). *Journal of Phycology* (Vol. 20, Issue 1, pp.

- 148–150). <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1984.00148.x>
- Aubrey, D. G. (1979). Seasonal patterns of onshore/ offshore sediment movement. *Journal of Geophysical Research*, 84(C10), 6347–6355. <https://doi.org/10.1029/JC084iC10p06347>
- Balata, D., Piazzzi, L., & Cinelli, F. (2007). Increase of sedimentation in a subtidal system: Effects on the structure and diversity of macroalgal assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 351(1–2), 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.06.019>
- Bell, E. C. (1995). Environmental and morphological influences on thallus temperature and desiccation of the intertidal alga *Mastocarpus papillatus* Kutzing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 191, 29–55.
- Beneventi, J (2012). Crecimiento de discos basales de *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales) evaluado en ambientes naturales. Tesis para optar al grado académico de Licenciado en Ciencias mención Biología Marina y al título profesional de Biólogo Marino. Facultad de ciencias, Universidad Católica de la santísima Concepción.
- Bessho, K., & Iwasa, Y. (2009). Heteromorphic and isomorphic alternations of generations in macroalgae as adaptations to a seasonal environment. *Evolutionary Ecology Research*, 11(5), 691–711.
- Boaden, P. J. S., & Seed, R. (1985). An introduction to coastal ecology. In *An introduction to coastal ecology*. <https://doi.org/10.4319/lo.1987.32.4.1015>
- Bookstein, F. L. (1992). Capitulo 3: Landmarks. In *Morphometric Tools for Landmark Data Geometry and Biology*. <https://doi.org/10.5860/CHOICE.48-1788>
- Bookstein, F. L. (1996). Biometrics, Biomathematics and the morphometric synthesis. *Bulletin of Mathematical Biology*, 58(2), 313–365. <http://www.femininebeauty.info/i/bookstein.morphometrics.pdf>
- Bretz, C. K. (1995). *Effects of sand burial and movement on rocky intertidal bench communities in Central California*. Tesis para optar al grado de Master of Sciences in

Marine Science. Faculty of San Francisco State University

- Brodie, J., Guiry, M. D., & Masuda, M. (1993). Life history morphology and crossability of *Chondrus ocellatus* forma *ocellatus* and *cocellatus* forma *crispoides* from the north-western pacific. *European Journal of Phycology*, 28(3), 183–196. <https://doi.org/10.1080/09670269300650281>
- Brodie, J., Masuda, M., Ichiro, M., & Guiry, M. (1997). Two morphologically similar biological species: *Chondrus pinnulatus* and *C. armatus* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 33, 682–698.
- Buschmann, A. H., Correa, J. A., Westermeier, R., Hernandez-Gonzalez, M. C., & Norambuena, R. (1999). Mariculture of red algae in Chile. *World Aquaculture*, 30(2), 41–46.
- Buschmann, A. H., Vásquez, J. A., Osorio, P., Reyes, E., Filún, L., Hernández-González, M. C., & Vega, A. (2004). The effect of water movement, temperature and salinity on abundance and reproductive of patterns of *Macrocystis* spp. (Phaeophyta) at different latitudes in Chile. *Marine Biology*, 145(5), 849–862. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1393-8>
- Cardinal, A., Cabioch, J., & Gendron, L. (1978). Les corallinacées (Rhodophyta, Crytonemiales) des côtes du Québec. 1. *Clathromorphum* Foslie (1). *Cahiers de Biologie Marine*, 19(1), 175–187.
- Caro, A. U., & Castilla, J. C. (2004). Predator-inducible defences and local intrapopulation variability of the intertidal mussel *Semimytilus algosus* in central Chile. *Marine Ecology Progress Series*, 276(1), 115–123. <https://doi.org/10.3354/meps276115>
- Carpenter, R. C. (1990). Competition among marine macroalgae a physiological prespective. *Journal of Phycology*, 26, 6–12.
- Chapman, A. R. O. (1973). Phenetic variability of stipe morphology in relation to season, exposure, and depth in the non-digitate complex of *Laminaria* Lamour. (Phaeophyta, Laminariales) in Nova Scotia. *Phycologia*, 12 (1/2), 53–57.

- Clark, J. S., Poore, A. G. ., & Doblin, M. A. (2018). Shaping up for stress: Physiological flexibility is key to survivorship in a habitat-forming macroalga. *Journal of Plant Physiology*, *231*, 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.005>
- Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, *18*(1), 117–143. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>
- Clarkston, B. E., & Saunders, G. W. (2010). A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp. nov. . *Botany*, *88*(2), 119–131. <https://doi.org/10.1139/b09-101>
- Correa, J. A., Beltr, J., Buschmann, A. H., & Westermeier, R. (1999). Healing and regeneration responses in *Gigartina skottsbergii* (Rhodophyta, Gigartinales ): optimization of vegetative propagation for cultivation. *Journal of Applied Phycology*, *11*, 315–327.
- Correa, J., Buschmann, A. H., Retamales, C., & Beltran, J. (1997). Infection Prevalence and Disease Expression Associated With Season ., *Journal Phycology*, *352*, 344–352.
- Correa, J., Flores, V., & Sánchez, P. (1993). Deformative disease in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta): gall development associated with an endophytic Cyanobacterium. *Journal Phycology*, *29*, 853–860.
- D'Amours, O., & Scheibling, R. E. (2007). Effect of wave exposure on morphology, attachment strength and survival of the invasive green alga *Codium fragile* ssp. tomentosoides. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *351*, 129–142. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.06.018>
- D'Antonio, C. (1982). Population and community ecology of the red alga *Rhodomela larix* (Turner) C. Agardh, on the Central Oregon Coast. Tesis para optar por el grado de Magister en Ciencias. Oregon State University.
- D'Antonio, C. M., & Gibor, A. (1985). A note on some influences of photon flux density on the morphology of germlings of *Gelidium robustum* (Gelidiales, Rhodophyta) in

- Culture. *Botanica Marina*, 28(7), 313–316. <https://doi.org/10.1515/botm.1985.28.7.313>
- Daly, A., & Mathieson, A. C. (1977). The effects of sand movement on intertidal seaweeds and selected invertebrates at Bound Rock, New Hampshire, USA. *Marine Biology*, 55(812), 45–55.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Diaz-Pulido, G., Villamil, L., & Almanza, V. (2007). Herbivory effects on the morphology of the brown alga *Padina boergesenii* (Phaeophyta). *Phycologia*, 46(2), 131–136. <https://doi.org/10.2216/05-60.1>
- Dudgeon, S. R., & Johnson, A. S. (1992). Thick vs. thin: thallus morphology and tissue mechanics influence differential drag and dislodgement of two co-dominant seaweeds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 165(1), 23–43. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(92\)90287-K](https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90287-K)
- Durán, L. R., & Castilla, J. C. (1989). Variation and persistence of the middle rocky intertidal community of central Chile, with and without human harvesting. *Marine Biology*, 103(4), 555–562. <https://doi.org/10.1007/BF00399588>
- Emery, K. O. (1961). *A simple method of measuring beach profiles*. University of Southern California. 90-93pp
- Enríquez, S., Ávila, E., & Carballo, J. (2009). Induced in transplantation experiments in a mutualistic association between the red alga *Jania adhaerens* (Rhodophyta, Corallinales). *Journal of Phycology*, 45, 81–90. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.0640.x>
- Felicini, G. P., & Perrone, C. (1972). Le role des proliferations de la fronde dans le cycle biologique de *Petroglossum nicaeense*. *Phycologia*, 11(2), 197–205.
- Felicini, G., & Perrone, C. (1970). Germinazione « In Vitro » di carpospore di *Petroglossum nicaeense* (Duby) Schotter. *Giornale Botanico Italiano: Official Journal of the Societa*

*Botanica Italiana*, 104, 413–426. <https://doi.org/10.1080/11263507009426513>

- Flores-Molina, M. R., Thomas, D., Lovazzano, C., Núñez, A., Zapata, J., Kumar, M., Correa, J. A., & Contreras-Porcia, L. (2014). Desiccation stress in intertidal seaweeds: Effects on morphology, antioxidant responses and photosynthetic performance. *Aquatic Botany*, 113, 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.11.004>
- Foster, D. J., Podos, J., & Hendry, A. P. (2008). A geometric morphometric appraisal of beak shape in Darwin's finches. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(1), 263–275. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01449.x>
- Fowler-Walker, M. J., Wernberg, T., & Connell, S. D. (2006). Differences in kelp morphology between wave sheltered and exposed localities: Morphologically plastic or fixed traits? *Marine Biology*, 148(4), 755–767. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0125-z>
- Fuentealba, G. (2006) Diferencias morfológicas entre esporofitos y gametofitos de *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq (Rhodophyta: Gigartinales) en relación con la abrasión por arena. Tesis para optar al grado académico de Licenciado en Ciencias mención Biología Marina y al título profesional de Biólogo Marino. Facultad de ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción.
- Gómez, I., & Westermeier, R. C. (1991). Frond regrowth from basal disc in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales) at Mehuin, southern Chile. *Marine Ecology Progress Series*, 73, 83–91.
- Goodall, C. (1991). Procrustes Methods in the Statistical Analysis of Shape. *Journal of the Royal Statistical Society*, 53(2), 285–339.
- Gower, J. C. (1966). Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53(3/4), 325. <https://doi.org/10.2307/2333639>
- Guiler, E. (1959). The intertidal ecology of the Montemar area, Chile. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, 93, 165.
- Guimaraes, S. M. P. B., & Fujii, M. T. (1999). Morphological studies of five species of

- Peyssonnelia* (Gigartinales, Rhodophyta) from southeastern Brazil. *Phycologia*, 38(3), 167–183. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-38-3-167.1>
- Gutierrez, L., & Fernández, C. (1992). Water motion and morphology in *Chondrus crispus* (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 156–162.
- Hannach, G., & Santelices, B. (1985). Ecological differences between the isomorphic reproductive phases of two species of *Iridaea* (Rhodophyta. Gigartinales). *Marine Ecology Progress Series*, 22, 291–303. <https://doi.org/10.3354/meps022291>
- Hannach, G., & Waaland, J. R. (1986). Environment, distribution and production of *Iridaea*. *Aquatic Botany*, 26, 51–78.
- Haring, R. N., & Carpenter, R. C. (2007). Habitat-induced morphological variation influences photosynthesis and drag on the marine macroalga *Pachydictyon coriaceum*. *Marine Biology*, 151(1), 243–255. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0474-2>
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Helmuth, B. S. T., & Hofmann, G. E. (2001). Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biological Bulletin*, 201(3), 374–384. <https://doi.org/10.2307/1543615>
- Hoang, D. T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518–522. <https://doi.org/10.5281/zenodo.854445>
- Hommensard, M., Guiry, M., Fredericq, S., & Leister, G. (1993). New perspectives in the taxonomy of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia*, 260–261(1), 105–120. <https://doi.org/10.1007/BF00049009>
- Hommersand, M., Fredericq, S., & Cabioch, J. (1992). Developmental morphology of *Gigartina pistillata* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Phycologia*, 31(3/4), 300–325. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-31-3-4-300.1>

- Hommersand, M. H., Guiry, M. D., Fredericq, S., & Leister, G. L. (1993). New perspectives in the taxonomy of the Gigartinaeae (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia*, 260–261(1), 105–120. <https://doi.org/10.1007/BF00049009>
- Imchen, T. (2015). Substrate deposit effect on the characteristic of an intertidal macroalgal community. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 44(3), 333–338.
- Jackelman, J. J., & Bolton, J. J. (1990). Form variation and productivity of an intertidal foliose *Gigartina* species (Rhodophyta) in relation to wave exposure. *Hydrobiologia*, 204–205(1), 57–64. <https://doi.org/10.1007/BF00040215>
- Jackson, A. C. (2010). Effects of topography on the environment. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90(1), 169–192. <https://doi.org/10.1017/S0025315409991123>
- Jara, H. F., & Moreno, C. A. (1984). Herbivory and structure in a midlittoral rocky community: a case in southern Chile. *Ecology*, 65(1), 28–38. <https://doi.org/10.2307/1939455>
- Jaramillo, E. (1978). Studies on neotropical fauna and environment zonación y estructura de la comunidad macrofaunística en playas de arena del Sur de Chile (Mehuín, Valdivia). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 13(October 2012), 71–92.
- Kato, A., Guimarães, S. M. P. B., Kawai, H., & Masuda, M. (2009). Characterization of the crustose red alga *Peyssonnelia japonica* (Rhodophyta, Gigartinales) and its taxonomic relationship with *Peyssonnelia boudouresquei* based on morphological and molecular data. *Phycological Research*, 57(1), 74–86. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2008.00523.x>
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., & Drummond, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Klingenberg, C. P., Duttke, S., Whelan, S., & Kim, M. (2012). Developmental plasticity,

- morphological variation and evolvability: A multilevel analysis of morphometric integration in the shape of compound leaves. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(1), 115–129. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02410.x>
- Klingenberg, Christian Peter. (2011). MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11(2), 353–357. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>
- Klingenberg, Christian Peter. (2013). Visualizations in geometric morphometrics: How to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix*, 24(1), 15–24. <https://doi.org/10.4404/hystrix-24.1-7691>
- Klingenberg, Christian Peter. (2015). Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: Concepts, methods, and applications. *Symmetry*, 7(2), 843–934. <https://doi.org/10.3390/sym7020843>
- Klingenberg, Christian Peter. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution*, 226, 113–137. <https://doi.org/10.1007/s00427-016-0539-2>
- Klingenberg, Christian Peter, & McIntyre, G. S. (1998). Geometric Morphometrics of Developmental Instability: Analyzing Patterns of Fluctuating Asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution*, 52(5), 1363. <https://doi.org/10.2307/2411306>
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- Leliaert, F., Verbruggen, H., Vanormelingen, P., Steen, F., López-Bautista, J. M., Zuccarello, G. C., & De Clerck, O. (2014). DNA-based species delimitation in algae. *European Journal of Phycology*, 49(2), 179–196. <https://doi.org/10.1080/09670262.2014.904524>
- Lewis, S. M., Norris, J. N., Searles, R. B., Norris, J. N., & Searles, R. B. (1987). The regulation of morphological plasticity in tropical reef algae by herbivory published by : Ecological Society of America Linked references are available on JSTOR for this article : *Ecological Society of America*, 68(3), 636–641.

- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451–1452. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
- Little, C & Kitching, J. A. (1996). *The Biology of Rocky Shores*. Oxford University Press, United Kingdom. cap. 1-2, 1-29
- Litter, M., Martz, D., & Littler, D. (1983). Effects of recurrent sand deposition on rocky intertidal organisms: importance of substrate heterogeneity in a fluctuating environment. *Marine Ecology Progress Series*, 11, 129–139. <https://doi.org/10.3354/meps011129>
- Littler, M., & Littler, D. (1980). The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: Field and Laboratory Tests of a Functional Form Model. *The American Naturalist*, 116(1), 25–44. <https://doi.org/10.1086/283610>
- Lobban, C., & Harrison, P. J. (1997). *Seaweed Ecology and Physiology* (Primera Ed). Cambridge University Press.
- Lubchenco, J., & Cubitt, J. (1980). Heteromorphic life histories of certain marine algae as adaptations to variations in herbivory. *Ecology*, 61(3), 676–687. <https://doi.org/10.2307/1937433>
- Luxoro, C., & Santelices, B. (1989). Additional evidence for ecological differences among isomorphic reproductive phases of *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta: Gigartinales). *Journal Phycology*, 25, 206–212.
- Manacorda, C. A., & Asurmendi, S. (2018). Arabidopsis phenotyping through geometric morphometrics. *GigaScience*, 7(7), 1–20. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giy073>
- Montecinos, A., Broitman, B. R., Faugeron, S., Haye, P. A., Tellier, F., & Guillemin, M.-L. (2012). Species replacement along a linear coastal habitat: phylogeography and speciation in the red alga *Mazzaella laminarioides* along the south east pacific. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1), 97. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-97>
- Mueller, R., Fischer, A. M., Bolch, C. J. S., & Wright, J. T. (2015). Environmental correlates

- of phenotypic variation: Do variable tidal regimes influence morphology in intertidal seaweeds? *Journal of Phycology*, 51(5), 859–871. <https://doi.org/10.1111/jpy.12329>
- Neustupa, J., & Nemcova, Y. (2018). Morphological allometry constrains symmetric shape variation, but not asymmetry, of *Halimeda tuna* (Bryopsidales, Ulvophyceae) segments. *PLoS ONE*, 13(10), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206492>
- Norambuena, R., Buschmann, A. H., Correa, J. a., Westermeier, R., & Hernández-González, M. D. C. (2001). Red algal farming in Chile: a review. *Aquaculture*, 194(3–4), 203–220.
- O'Donnell, M. J., & Denny, M. W. (2008). Hydrodynamic forces and surface topography: Centimeter-scale spatial variation in wave forces. *Limnology and Oceanography*, 53(2), 579–588. <https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.2.0579>
- Ogandaga, C. A. M., Choi, H. G., Kim, J. K., & Nam, K. W. (2016). Growth responses of *Chondrus ocellatus* Holmes (Gigartinales, Rhodophyta) to two endophytes, *Mikrosyphar zosterae* Kuckuck (Ectocarpales, Ochrophyta) and *Ulvella ramosa* (N. L. Gardner) r. Nielsen (Ulvales, Chlorophyta) in culture. *Algae*, 31(4), 363–371. <https://doi.org/10.4490/algae.2016.31.12.9>
- Pacheco-Ruíz, I., Zertuche-Gonzalez, J. A., & Espinoza-Avalos, J. (2005). The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia*, 44(6), 629–631. [https://doi.org/10.2216/0031-8884\(2005\)44\[629:TROSAD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2216/0031-8884(2005)44[629:TROSAD]2.0.CO;2)
- Perrone-Pesola, C., & Felicini, G. P. (1981). Polarite dans la fronde de *Schottera nicaeensis* (Phylloporacees) par. *Phycologia*, 20, 142–146.
- Perrone, C., & Cecere, E. (1997). Regeneration and mechanisms of secondary attachment in *Solieria filiformis* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia*, 36(2), 120–127.
- Perrone, C., & Felicini, G. P. (1972). Sur les bourgeons adventifs de *Petroglossum nicaeense* (Duby) Schotter (Rhodophycees, Gigartinales) en culture. *Phycologia*, 11(1), 87–95.
- Perrone, C., & Felicini, G. P. (1976). Les bourgeons adventifs de *Gigartina acicularis*

- (Wulf.) Lamour . (Rhodophyta , Gigartinales) en culture. *Phycologia*, 15, 45–50.
- Perrone, C., & Felicini, G. P. (1993). Morphogenetic effects of daylength in *Schottera nicaeensis*. *Hydrobiologia*, 260–261(1), 145–150. <https://doi.org/10.1007/BF00049013>
- Perroni, C., & Felicini, G. (1974). Dominance apicale et morphogenese chez *Petroglossum nicaeense* ( Duby ) SchoUer ( Rhodophyceae ). *Phycologia*, 13(3), 187–194.
- Piazzzi, L., & Ceccherelli, G. (2002). Effects of competition between two introduced *Caulerpa*. *Marine Ecology Progress Series*, 225, 189–195. <https://doi.org/10.3354/meps225189>
- Pinochet, J., Domínguez, J., Neira, E., Rojas, C., Acuña, E., Cancino, J. M., & Brante, A. (2018). Tidal height and sand as potential drivers of the ecological interaction of the two intertidal mussels *Perumytilus purpuratus* and *Semimytilus algosus*. *Marine Ecology*, 39(4), 1–8. <https://doi.org/10.1111/maec.12503>
- Pollicelli, M. de la P., Idaszkin, Y. L., Gonzalez-José, R., & Márquez, F. (2018). Leaf shape variation as a potential biomarker of soil pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164(July), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.003>
- Ramírez, M. E., & Osorio, C. (2000). Distributional patterns of the intertidal macroalgae and macroinvertebrates from Robinson Crusoe island, Juan Fernandez archipelago, Chile. *Investigaciones Marinas*, 28(2000), 1–13. <https://doi.org/10.4067/S0717-71782000002800002>
- Rietema, H. (1995). Ecoclinal Variation in *Rhodomela confervoides* along a Salinity Gradient in the North Sea and Baltic Sea. *Botanica Marina*, 38, 475–479. <https://doi.org/DOI:10.1515/botm.1995.38.1-6.475>
- Rodríguez, C. (2018). Proposición de un mecanismo para explicar la existencia de las formas *lessonii* y *chauvinii* en *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing (Rhodophyta, Gigartinales). Tesis para optar al grado académico de Magíster en Ecología Marina. Facultad de ciencias, Universidad Católica de la santísima Concepción
- Rodríguez, C. Y., & Otaíza, R. D. (2020). Morphological variability in a red seaweed:

- confirmation of co-occurring f. *lessonii* and f. *chauvinii* in *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Journal of Phycology*, 56, 469–480. <https://doi.org/10.1111/jpy.12955>
- Ross, P. J., Donaldson, S. L., & Saunders, G. W. (2003). A molecular investigation of *Mazzaella* (Gigartinales, Rhodophyta) morphologically intermediate between *Mazzaella linearis* and *M. splendens*. *Botanica Marina*, 46(2), 202–213. <https://doi.org/10.1515/BOT.2003.020>
- Sáez, F., Macchiavello, J., Fonck, E., & Bulboa, C. (2008). The role of the secondary attachment disc in the vegetative propagation of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales; Rhodophyta). *Aquatic Botany*, 89(1), 63–65. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.01.004>
- Sanhueza, A. (2005). Efecto del gradiente ambiental en la abundancia relativa de esporofitos y gametofitos masculinos, femeninos de *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales) evaluando discos y láminas. Tesis para optar al grado académico de Licenciado en Ciencias mención Biología Marina y al título profesional de Biólogo Marino. Facultad de ciencias, Universidad Católica de la santísima Concepción.
- Santelices, B. (1980). Muestreo cuantitativo de comunidades intermareales de Chile central. *Arch. Biol. Med. Exp.*, 13, 413–424. <https://doi.org/10.1109/SC.Companion.2012.47>
- Santelices, B. (1989). Algas marinas de Chile. Ediciones de la Pontificia Universidad Católica de Chile. 271-273 pp.
- Santelices, Bernabé. (1990). Patterns of organizations of intertidal and shallow subtidal vegetation in wave exposed habitats of central Chile. *Hydrobiologia*, 192(1), 35–57. <https://doi.org/10.1007/BF00006226>
- Santelices, B., Alvarado, J. L., Chianale, C., & Flores, V. (2011). The effects of coalescence on survival and development of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales). *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 395-400.

- Santelices, Bernabé, & Martínez, E. (1997). Hierarchical analysis of reproductive potential in *Mazzaella laminarioides* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Phycologia*, 36(3), 195–207.
- Santelices, Bernabé, & Norambuena, R. (1987). A harvesting strategy for *Iridaea laminarioides* in central Chile. *Hydrobiologia*, 151–152(1), 329–333. <https://doi.org/10.1007/BF00046148>
- Saunders, G. W. (2005). Applying DNA barcoding to red macroalgae: A preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1879–1888. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1719>
- Schagerström, E., & Kautsky, L. (2016). Macroscopic sexual dimorphism in *Fucus radicans* (Phaeophyceae) with implications for its reproductive ecology. *Botanica Marina*, 59(6), 485–490. <https://doi.org/10.1515/bot-2016-0046>
- Scrosati, R. (1998). Regeneration and reproduction of *Mazzaella cornucopiae* (Rhodophyta, Gigartinaceae) after frond harvesting. *Journal of Applied Phycology*, 10(6), 531–537. <https://doi.org/10.1023/A:1008029632351>
- Scrosati, R. (2002). Morphological plasticity and apparent loss of apical dominance following the natural loss of the main apex in *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, Gelidiales) fronds. *Phycologia*, 41(1), 96–98. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-41-1-96.1>
- Shaughnessy, F. J. (1996). Identification and microgeographic distribution of *Mazzaella splendens* and *Mazzaella linearis* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Canadian Journal of Botany*, 74, 999–1008. <https://doi.org/10.1139/b96-124>
- Shaughnessy, F. J. (2004). Contrasting patterns of allometry and realized plasticity in the sister species *Mazzaella splendens* and *Mazzaella linearis* (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 40(5), 846–856. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03218.x>
- Shaughnessy, F. J., & DeWreede, R. (2001). Size, survival and the potential for reproduction in transplants of *Mazzaella splendens* and *M. linearis* (Rhodophyta). *Marine Ecology Progress Series*, 222, 109–118. <https://doi.org/10.3354/meps222109>

- Shibneva, S. Y., & Skriptsova, A. V. (2012). Morphological Variability of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, 1873 (Phaeophyceae, Laminariales) in Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Ecology*, 38(5), 381–391. <https://doi.org/10.1134/S1063074012050070>
- Shibneva, S. Y., & Skriptsova, A. V. (2015). Intraspecific Morphological Variability of Marine Macrophytes and its Determining Factors. *Russian Journal of Marine Biology*, 41(5), 325–334. <https://doi.org/10.1134/S1063074015050120>
- Short, A. (1996). The role of wave height, period, slope, tide range and embaymentisation in beach classifications: A review. *Revista Chilena de Historia Natural*, 69(4), 589–604.
- Siegel, S. (1956). *Nonparametric statistics for the Behavioral Sciences*. McGraw-Hill Series in Psychology.
- Smit, A. J., & Bolton, J. J. (1999). Organismic determinants and their effect on growth and regeneration in *Gracilaria gracilis*. *Journal of Applied Phycology*, 11(3), 293–299. <https://doi.org/10.1023/A:1008102409472>
- South, G. R., & Whittick, A. (1987). *Phycology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Stewart, H. ., & Carpenter, R. . (2003). The effects of morphology and water flow on photosynthesis of marine macroalgae. *Ecology*, 84(11), 2999–3012. <https://doi.org/10.1890/02-0092>
- Stewart, J. (1983). Fluctuations in the quantity of sediments trapped among algal thalli on intertidal rock platforms in southern California. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 73, 205–211.
- Stirk, W. A., Aken, M. E., & Van Staden, J. (1997). Apical control of growth in a filamentous red alga (Ceramiaceae, Rhodophyta). *South African Journal of Botany*, 63(5), 267–270. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30765-1](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30765-1)
- Stoeckle, M. (2003). Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life. *BioScience*, 53(9), 2–3.
- Takada, Y. (1999). Influence of shade and number of boulder layers on mobile organisms on a warm temperate boulder shore. *Marine Ecology Progress Series*, 189(November

- 1999), 171–179. <https://doi.org/10.3354/meps189171>
- Trowbridge, C. D. (1996). Demography and phenology of the intertidal green alga *Codium setchellii*: The enigma of local scarcity on sand-influenced rocky shores. *Marine Biology*, *127*(2), 341–351. <https://doi.org/10.1007/BF00942119>
- Vera, C., Lobos, P., & Romo, H. (2008). Gametophyte-sporophyte coalescence in populations of the intertidal carrageenophyte *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, *20*(5), 883–887. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9238-8>
- Verbruggen, H., De Clerck, O., Cocquyt, E., Kooistra, W. H. C. F., & Coppejans, E. (2005). Morphometric taxonomy of siphonous green algae: A methodological study within the genus *Halimeda* (Bryopsidales). *Journal of Phycology*, *41*(1), 126–139. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04080.x>
- Viscosi, V., Fortini, P., Slice, D. E., Loy, A., & Blasi, C. (2009). Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Plant Biosystems*, *143*(3), 575–587. <https://doi.org/10.1080/11263500902775277>
- Viscosi, Vincenzo. (2015). Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: Assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *179*(2), 335–348. <https://doi.org/10.1111/boj.12323>
- Viscosi, Vincenzo, & Cardini, A. (2011). Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: A simplified protocol for beginners. *PLoS ONE*, *6*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025630>
- Westermeier, R., Rivera, P. J., Chacana, M., & Gómez, I. (1987). Biological bases for management of *Iridaea laminarioides* Bory in southern Chile. *Hydrobiologia*, *151–152*(1), 313–328. <https://doi.org/10.1007/BF00046147>
- Zar, J. (2010). Biostatistical Analysis. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Primera Ed). Pearson Prentice Hall.

## ANEXO 1:

TABLA 22

Lista de haplotipos de *M. laminarioides* y grupos externos incorporados en este estudio para el marcador COI, reportados por Montecinos et al (2012). Se indica el número de acceso de GenBank, la localidad y el país correspondiente.

Haplotipo	Localidad	País	GenBank
C1	Chañaral	Chile	JQ408408
C2	Los Burros	Chile	JQ408412
C3	Fray Jorge	Chile	JQ408411
C4	Fray Jorge	Chile	JQ408410
C5	Puerto Oscuro	Chile	JQ408413
C6	Maintecillo	Chile	JQ408415
C7	Maintecillo	Chile	JQ408414
C8	Fray Jorge	Chile	JQ408409
C9	Topocalma-Pichilemu	Chile	JQ408417
C10	Topocalma	Chile	JQ408421
C11	Topocalma	Chile	JQ408418
C12	Concepción	Chile	JQ408420
C13	Constitución	Chile	JQ408416
C14	Pichilemu	Chile	JQ408419
C15	Pilolcura, Pucatrihue, Chiloe-Isla, Concoto-Bahía, Low-Puerto, Aguirre-Puerto Arena, Isla Clarence	Chile	JQ408422
C16	Chiloé	Chile	JQ408430
C17	Pucatrihue	Chile	JQ408423
C18	Puerto Aguirre	Chile	JQ408428
C19	Bahía Low	Chile	JQ408431
C20	Pucatrihue	Chile	JQ408427
C21	Chiloé	Chile	JQ408429
C22	Pilolcura	Chile	JQ408424
C23	Pilolcura	Chile	JQ408425
C24	Pilolcura	Chile	JQ408426
<b>Grupos externos</b>			
<i>Mazzaella affinis</i> (Harvey) Fredericq	Vancouver I, BC	Canadá	AY970577
<i>Mazzaella splendens</i> (Setchell et Gardner) Fredericq	Vancouver I, BC	Canadá	AY970623

## ANEXO 2

**a**



**b**



**c**



FIGURA 26

Acreción de la arena en el sitio 2 de la Desembocadura del Río Biobío entre noviembre del 2019 (a) enero (b) y marzo del 2020 (c).

### ANEXO 3

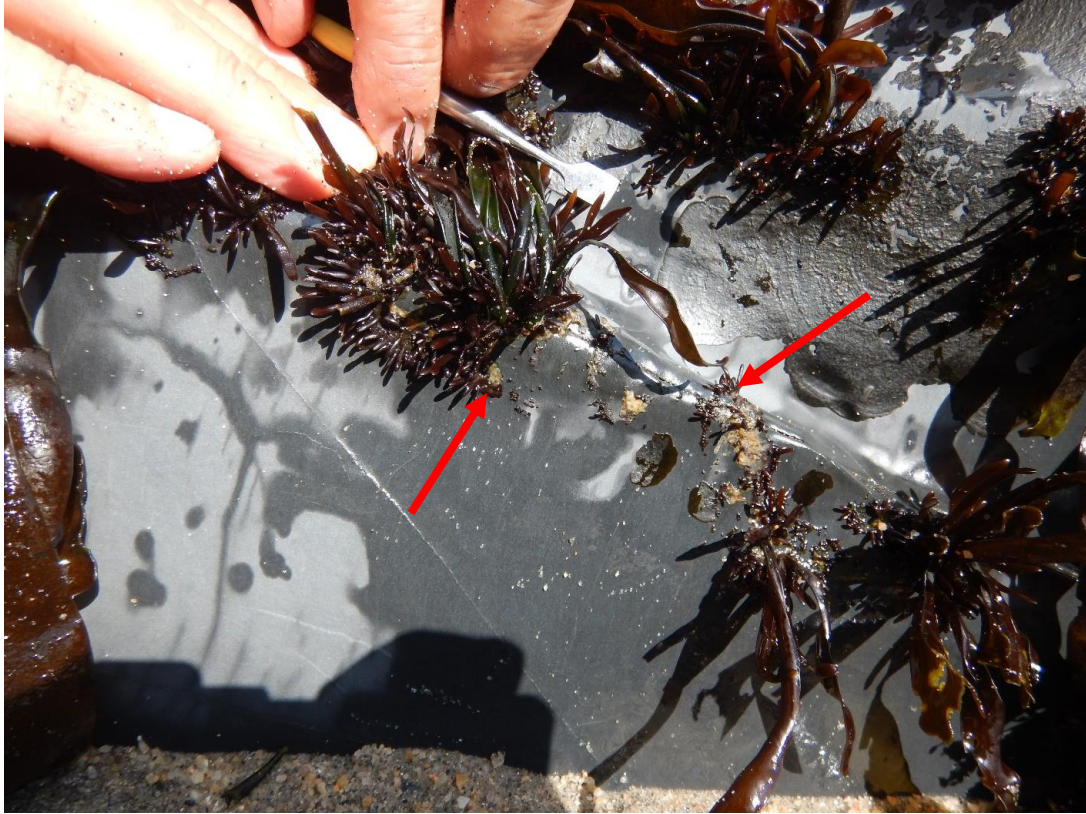


FIGURA 27

Discos de *M. laminarioides* luego de abrasión por arena en roqueríos de Merquiche.