

NOTA CIENTÍFICA

# Presencia de variante verde de *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta) en la Región de Magallanes, Chile

Presence of green color variant of *Mazzaella laminarioides*  
(Gigartinales, Rhodophyta) in Magallanes region, Chile

Nelso P. Navarro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias y Recursos Naturales, Universidad de Magallanes, Av. Bulnes 01855, Punta Arenas, Chile. nelso.navarro@umag.cl

**Abstract.** Green color individuals of *Mazzaella laminarioides* were observed growing in a population from the Strait of Magellan. These individuals were cultivated under laboratory conditions in order to determinate if they are effectively green color variants or the green color is a short-term acclimation process. No significant difference in the growth rate between green variants and red wild-type individuals were observed, and the difference of color was maintained during the experiment in laboratory. These results suggest that the green individuals of *M. laminarioides* found in a population from Strait of Magellan are definitely a green color variant.

**Key words:** Green color variant, Gigartinales, Strait of Magellan

## INTRODUCCIÓN

Las algas son consideradas como organismos altamente mutables (Lobban & Harrison 1994, Collado-Vides 2002), y estas mutaciones pueden afectar una amplia variedad de expresiones fenotípicas, dentro de las cuales se incluyen el crecimiento, morfología, pigmentación, entre otras (Poore & Fagerstrom 2000). En este contexto, talos de una misma especie con diferentes colores son frecuentes en la naturaleza, resultando en frondas de coloración anaranjada, café, verde, amarillo, rosado y púrpuras (Guimarães *et al.* 2003). Del mismo modo, frondas de diferente color pueden ser producto de expresiones de acomodación al ambiente donde la población o el individuo se encuentren. En este último caso, estamos en presencia de un proceso de aclimatación (expresión dentro de los límites del genoma), el cual difiere del término adaptación que es utilizado para designar expresiones que son consecuencia de alteraciones en el genoma (Gantt 1990). Diferenciar entre ambos procesos es extremadamente difícil cuando se considera el color como carácter diferenciador. Sin embargo, existen métodos que permiten distinguir procesos de aclimatación y adaptación en individuos de poblaciones de rodofíceas. Este método, descrito por Plastino & Guimarães (2001), consiste en cultivar frondas de distinta coloración de una misma especie en condiciones controladas durante algunas semanas; si la diferencia en color tiende a desaparecer entonces nos encontramos ante un proceso de aclimatación, mientras que si la diferencia en color se

mantiene estamos frente a un proceso de adaptación, y consecuentemente con una variante genotípica pigmentar.

A nivel mundial, variantes pigmentarias han sido reportadas en varias especies de macroalgas rojas, incluyendo *Ahnfeltia plicata* (Hudson) E.M. Fries (Maggs & Pueschel 1989), *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Ramus & van der Meer 1983), *G. conferta* (Schousboe ex Montagne) J. et G. Feldmann (Levy & Friedlander 1990), *G. domingensis* (Kützting) Sonder *ex* Dickie (Plastino *et al.* 1999), *G. birdiae* Plastino & Oliveira (Plastino *et al.* 2004), *G. cornea* J. Agardh (Ferreira *et al.* 2006), *Hypnea musciformis* (Wulfen) J.V. Lamouroux (Yokoya *et al.* 2003), *Palmaria palmata* (Linnaeus) Weber & Mohr (Pueschel & van der Meer 1984), *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Doty *et al.* 1987, Paula *et al.* 1999, Aguirre-von-Wobeser *et al.* 2001), entre otras. Algunas de estas variantes de color han sido encontradas en la naturaleza (Van der Meer & Bird 1977, Levy & Friedlander 1990, González *et al.* 1995, Plastino *et al.* 1999, Ursi & Plastino 2001), otras han surgido espontáneamente en cultivo (Van der Meer & Bird 1977, Patwary & van der Meer 1982, Paula *et al.* 1999), mientras que algunas han sido inducidas a través del uso de compuestos químicos mutagénicos (Van der Meer 1979, 1990).

El estudio de variantes pigmentares ha contribuido a la selección de modelos experimentales utilizados en la elucidación de diferentes procesos biológicos como:

fisiología y bioquímica de algas (Kursar *et al.* 1983), obtención de poliploides (Patwary & van der Meer 1984), heterosis (Zhang & van der Meer 1987), ocurrencia de transposones (Muñoz & Santelices 1994) y coalescencia de esporas (Santelices *et al.* 1996). Además, algunos estudios han sido enfocados en la selección de linajes más adecuados para la acuicultura (Patwary & van der Meer 1992, Paula *et al.* 1999, Ursi *et al.* 2013). Estos últimos, han mostrado que las variantes pigmentares difieren en su fisiología de los ejemplares rojos o normales (también llamados salvajes), cuyas diferencias fueron evidenciadas por las tasas de crecimiento (Paula *et al.* 1999, Ursi *et al.* 2013).

En Chile, existe escasa información que reporte formalmente variantes de color en especies de algas rojas, existiendo evidencia en sólo 3 especies: *Gracilaria chilensis* C. J. Bird, McLachlan & E. C. Oliveira (Santelices *et al.* 1996), *Gigartina skottsbergii* Setchell & N. L. Gardner (Barahona *et al.* 2012) y *Ahnfeltia plicata* (Mansilla *et al.* 2013). Observaciones en el ambiente natural, sugieren que en poblaciones naturales de Estrecho de Magallanes, existirían variantes pigmentarias de color verde en el alga roja *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq, por tanto con el objetivo de evaluar tal hipótesis, ejemplares de coloración verde y rojo fueron mantenidos en condiciones de laboratorio para evaluar el origen de la variante verde (aclimatación o adaptación) y determinar la existencia de diferencias en cuanto a la tasas de crecimiento de variantes de color verde *versus* algas de coloración roja o salvajes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MATERIAL BIOLÓGICO Y CONDICIONES GENERALES DE CULTIVO

Las frondas de *Mazzaella laminarioides* fueron colectadas desde una población natural ubicada en Punta Santa Ana (53°37'S; 70°59'W) (Fig. 1A), en el Estrecho de Magallanes, Chile, en septiembre 2011. La población se encuentra localizada en la región intermareal superior, caracterizada por presentar piedras y cantos rodados, abundante sustrato rocoso y un hidrodinamismo moderado.

Se utilizó el protocolo sugerido por Plastino & Guimarães (2001), quienes recomiendan, para efectos de determinar la existencia de variantes pigmentares, coleccionar y trabajar con organismos juveniles de diferente coloración creciendo juntos. Por ello, se procedió a realizar una inspección visual en toda la población, revisando

todos los discos visibles a ojo desnudo de *Mazzaella laminarioides* a fin de encontrar los ejemplares juveniles de coloración verde y roja creciendo juntos. Una vez localizados, éstos fueron cuidadosamente colectados y transportados al Centro de Investigación de Recursos Marinos Subantárticos de la Universidad de Magallanes. En el laboratorio, fueron separados y fotografiados bajo lupa estereoscópica.

Posteriormente, cultivos unialgales fueron establecidos de acuerdo a Oliveira *et al.* (1995). Brevemente, 16 ejemplares juveniles verdes (de aproximadamente 1 cm) fueron lavados con agua de mar esterilizada y posteriormente distribuidos y cultivados en 4 frascos de vidrio de 50 mL. De forma similar se procedió con los ejemplares rojos. Los cultivos fueron mantenidos en agua de mar esterilizada (salinidad 31), enriquecida con solución Von Stoch (50%), temperatura de 5°C, 55  $\mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (providenciada por tubos fluorescentes tipo luz día; Philips TLT 20W/54), con un fotoperíodo de 16:8 h (luz: oscuridad). Las algas permanecieron 4 semanas en esas condiciones, a fin de verificar si la coloración (verde y roja) obedecía a una aclimatación de corto plazo o si la coloración verde es una variante genotípica. A fin de estandarizar la coloración de cada una de las frondas, éstas se compararon con una tabla de colores RAL® (Reichs-Ausschuß für Lieferbedingungen, Alemania) y su equivalencia en la tabla Pantone® (USA).

Luego de ese período, y una vez confirmada la presencia de la variante genotípica pigmentar verde, se procedió a determinar su tasa de crecimiento comparándola con la de ejemplares rojos. Para ello, la biomasa húmeda total de cada uno de los 4 frascos (conteniendo 4 frondas juveniles cada uno) fue obtenida al inicio y luego de 10 días de cultivo en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. La tasa de crecimiento diario (TCD) fue estimada según la ecuación:

$$\text{TCD (\% por día)} = ((B_f/B_i)^{1/t} - 1) * 100 \text{ (Littler \& Littler 1985),}$$

donde,  $B_i$  y  $B_f$  es la biomasa inicial y final después de  $t$  días de cultivo.

### ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de TCD, obtenidos en cuadruplicado (4 frascos conteniendo 4 ejemplares cada uno) fueron comparados utilizando un test de t-student (Statística 7, Statsoft Inc.). La normalidad de los datos fue verificada usando la Prueba de Kolmogorov-Smirnov. La probabilidad para el error tipo I fue fijada en  $\alpha = 0,05$ , mientras que el error tipo II se acepta en  $\beta = 20\%$  (poder estadístico:  $1 - \beta$ ).



Figura 1. A-F. Individuos de *Mazzaella laminarioides*. A: Vista general de frondas adultas de *M. laminarioides* en intermareal de Punta Santa Ana, Estrecho de Magallanes. B: Individuos verdes y rojos. C: Individuos de coloración verde y roja después de 5 semanas en cultivo bajo condiciones de laboratorio. D-F: Individuos de coloración verde y rojo creciendo juntos. Escala= 0,5 cm / A-F. *Mazzaella laminarioides* individuals. A: Overview of adult fronds of *M. laminarioides* in intertidal zone of Punta Santa Ana, Strait of Magellan. B: Green and red individuals. C: Green color individuals and red wild-type after 5 weeks in culture under laboratory conditions. D-F: Green color individuals growing together with red wild-type ones. Scale bar= 0.5 cm

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

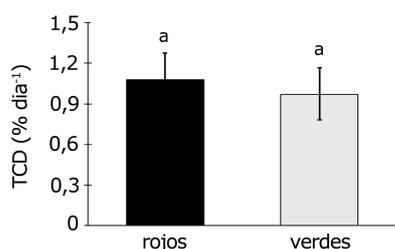
Durante la inspección visual de todos los discos de *Mazzaella laminarioides* presentes en la población del sector Punta Santa Ana, logramos detectar apenas 32 individuos de coloración verde, siendo todos ellos juveniles de tallas entre los 0,5 y 4 cm de longitud. En futuros trabajos se espera determinar la frecuencia de la variante verde de *M. laminarioides* y determinar si esta variante está establecida en esa población. Estudios

poblacionales que evalúen la frecuencia de las variantes genotípicas pigmentares son escasamente descritos en la literatura. Para *Gracilaria domingensis*, las variantes pigmentares presentaron frecuencias de 7 y 19% en 2 sitios del Norte de Brasil (Guimarães *et al.* 2003). También, una estimación de frecuencia de variantes verdes del 3% fue reportada para *Ahnfeltia plicata*, sin embargo, esta estimación fue realizada a partir de ejemplares de una

colección y no a partir de una población natural (Maggs & Pueschel 1989).

La coloración de las frondas juveniles verdes de *Mazzaella laminarioides*, se acercan a la coloración RAL 6002 (equivalente a la coloración Pantone 349), mientras que las frondas rojas se asemejan a la coloración RAL 6017 (Pantone 364) (Fig. 1B). El 100% de las frondas verdes mantuvieron su coloración durante las 4 semanas de cultivo en laboratorio (Fig. 1C). Este resultado, sumado al hecho de haber colectado individuos juveniles creciendo juntos (Fig. 1 D-F) y bajo la protección de sus congéneres adultos (ambiente más estable en relación a luminosidad) son evidencias de que las frondas verdes de *M. laminarioides* son en definitiva una variante genotípica pigmentaria y no una aclimatación de corto plazo. Este es el primer reporte de una variante verde en esta especie.

La tasa de crecimiento de la variante verde de *Mazzaella laminarioides* fue similar a la de los ejemplares rojos (Fig. 2;  $df= 6$ ;  $P= 0,450$ ; Potencia  $(1-\beta)= 0,105$ ) en los 10 días de cultivo en laboratorio. Este hecho podría sugerir que los ejemplares verdes tienen las mismas capacidades fisiológicas, por lo menos en las condiciones de laboratorio utilizadas. Por otro lado, es sabido que las variantes verdes de diferentes especies son deficientes en ficoeritrina (Doty *et al.* 1987, Paula *et al.* 1999, Plastino *et al.* 1999, Costa & Plastino 2011), producto de una sobreexpresión de la ficocianina y aloficocianina, enmascarando la coloración roja característica en Rhodophyta (Aguirre-von-Wobeser *et al.* 2001). Diferencias en concentración de pigmentos puede



**Figura 2.** Tasa de crecimiento diario (TCD: % día<sup>-1</sup>) de frondas verdes y rojas de *Mazzaella laminarioides* cultivada en laboratorio. Los datos están expresados como valores medios de masa fresca  $\pm$  DS (n= 4) / Daily growth rate (TCD: % day<sup>-1</sup>) of the green and red fronds of *Mazzaella laminarioides* cultivated under laboratory condition. Data are expressed as mean values of fresh weight  $\pm$  SD (n= 4)

influnciar la eficiencia fotosintética y consecuentemente comprometer el crecimiento y desarrollo. En este sentido, Van der Meer (1990) sugiere que la mayoría de las variantes pigmentarias en *Gracilaria tikvahiae* tienen una menor adecuación biológica en relación a los ejemplares salvajes, siendo menos robustos, con menores tasa de crecimiento y menor sobrevivencia. Menores tasa de crecimiento han sido reportadas en variantes pigmentares de *Gracilaria birdiae* (Plastino *et al.* 2004) y *Kappaphycus alvarezii* (Dawes *et al.* 1994, Hurtado-Ponce 1995). Sin embargo, cultivos de *Kappaphycus alvarezii* (Aguirre-von-Wobeser *et al.* 2001, Hayashi *et al.* 2007) y *Gracilaria birdiae* (Ursi *et al.* 2013) realizados en terreno mostraron que las tasas de crecimiento fueron similares entre la variante verde y los ejemplares rojos. En el caso de *G. birdiae* no sólo el crecimiento, sino que también el rendimiento de agar y la calidad de éste, fue similar entre los ejemplares verdes y rojos, mostrando un potencial uso en la maricultura (Ursi *et al.* 2013).

Finalmente, los reportes de estas variantes genotípicas constituyen una manera simple de contribuir al conocimiento de la diversidad de las poblaciones de algas rojas. La cuantificación de esta diversidad intraespecífica aún es precaria en las poblaciones de algas en Chile y su desconocimiento podría subestimar la necesidad de preservación de algunas especies. Para lograr un mayor conocimiento, son necesarios estudios poblacionales con el objetivo de determinar la frecuencia de las variantes genotípicas pigmentares (o la existencia de otras), así como determinar si están establecidas en las poblaciones naturales. Paralelamente, estudios fisiológicos y bioquímicos deberían ser conducidos para conocer el desempeño de las variantes en condiciones naturales y estresantes, como aquellas que son pronosticadas para los próximos 100 años debido al cambio climático. También, el estudio de estas variantes abre un nuevo campo de investigación relacionado a nuevas alternativas biotecnológica con miras a la obtención de productos naturales con valor agregado. En este sentido, un galactano inusual y con alta actividad antioxidante fue reportado en individuos verdes de *Gigartina skottsbergii* colectada desde praderas naturales de la Región de Magallanes (Barahona *et al.* 2012).

## AGRADECIMIENTOS

Este es una contribución al programa Gaia-Antártica de la Universidad de Magallanes. Este trabajo fue financiado en parte por el Programa 027110 (Universidad de Magallanes).

## LITERATURA CITADA

- Aguirre-von-Wobeser E, FL Figueroa & A Cabello-Pasini. 2001.** Effects of UV radiation on photoinhibition of marine macrophytes in culture systems. *Journal Applied Phycology* 12: 159-168.
- Barahona T, MV Encinas, A Mansilla, B Matsuhiro & A Zuñiga. 2012.** A sulfated galactan with antioxidant capacity from the green variant of tetrasporic *Gigartina skottsbergii* (Gigartinales, Rhodophyta). *Carbohydrate Research* 347: 114-120.
- Collado-Vides L. 2002.** Clonal architecture in marine macroalgae: ecological and evolutionary perspectives. *Evolutionary Ecology* 15: 531-545.
- Costa VL & EM Plastino. 2011.** Color inheritance and pigment characterization of red (wild-type), greenish-brown, and Green strains of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 23: 599-605.
- Dawes CJ, AO Lluisma & GC Trono. 1994.** Laboratory and field growth of commercial morphotypes of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. *Journal of Applied Phycology* 6: 21-24.
- Doty MS, JF Caddy & B Santelices. 1987.** The production and use of *Eucheuma*. In Doty MS, JF Caddy & B Santelices (eds). Case studies of seven commercial seaweeds resources, pp 1254-1264. FAO, Rome.
- Ferreira LB, JB Barufi & EM Plastino. 2006.** Growth of red and green strains of the tropical agarophyte *Gracilaria comea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta) in laboratory. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 187-192.
- Gantt E. 1990.** Pigmentation and photoacclimation. In: Cole K & KG Sheath (eds). *Biology of the red algae*, pp. 203-221. Cambridge University Press, Cambridge.
- González MA, R Montoya & A Candia. 1995.** Organellar DNA restriction analysis of four morphotypes of *Gracilaria* from Lenga, VIIIth Region, Chile. *Biological Research* 28: 177-184.
- Guimarães M, EM Plastino & C Destombe. 2003.** Green mutant frequency in natural population of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. *European Journal of Phycology* 38: 165-169.
- Hayashi L, E de Paula & F Chow. 2007.** Growth rate and carrageenan analyses in four strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) farmed in the subtropical waters of Sao Paulo State, Brazil. *Journal of Applied Phycology* 19: 393-399.
- Hurtado-Ponce AQ. 1995.** Carrageenan properties and proximate composition of three morphotypes of *Kappaphycus alvarezii* Doty (Gigartinales, Rhodophyta) grown at two depths. *Botanica Marina* 38: 215-219.
- Kursar TA, JP van der Meer & RS Alberte. 1983.** Light-harvesting system of the red alga *Gracilaria tikvahiae*. I. Biochemical analyses of pigment mutations. *Plant Physiology* 73: 353-360.
- Levy I & M Friedlander. 1990.** Strain selection in *Gracilaria* spp. 1. Growth, pigment, and carbohydrates of strains of *G. conferta* and *G. verrucosa* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 33: 339-345.
- Littler M & D Littler. 1985.** Handbook of phycological methods. 4. Ecological field methods: Macroalgae, pp: 462-477. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lobban C & PJ Harrison. 1994.** Seaweed ecology and physiology, 366 pp. Cambridge University Press, Cambridge.
- Maggs CA & CM Pueschel. 1989.** Morphology and development of *Ahnfeltia plicata* (Rhodophyta): proposal of Ahnfeltiales ord. nov. *Journal of Phycology* 25: 333-351.
- Mansilla A, JP Rodriguez, JMC Souza, S Rosenfeld, J Ojeda & NS Yokoya. 2013.** Growth responses to temperature, salinity and nutrient variations, and biomass variation and phenology of *Ahnfeltia plicata* (Rhodophyta, Ahnfeltiales): a commercially interesting agarophyte from the Magellanic Region, Chile. *Journal of Applied Phycology* 26(2): 1133-1139.
- Muñoz AA & B Santelices. 1994.** Quantification of the effects of sporeling coalescence on the early development of *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 30: 387-392.
- Oliveira EC, EJ de Paula, EM Plastino & R Petti. 1995.** Metodologías para el cultivo no axénico de macroalgas marinas *in vitro*. In: Alveal K, M Ferrario, E Oliveira & E Sar (eds). *Manual de métodos ficológicos*, pp. 429-447. Universidad de Concepción, Concepción.
- Patwary MU & JP van der Meer. 1982.** Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). VIII. Phenotypic and genetic characterization of some selected morphological mutants. *Canadian Journal of Botany* 60: 2556-2564.
- Patwary MU & JP van der Meer. 1984.** Growth experiments on autopolyploids of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Phycologia* 23: 21-27.
- Patwary MU & JP van der Meer. 1992.** Genetics and breeding of cultivated seaweeds. *Korean Journal of Phycology* 7: 281-318.
- Paula EJ, RTL Pereira & M Ohno. 1999.** Strain selection in *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Solieriaceae, Rhodophyta) using tetraspore progeny. *Journal of Applied Phycology* 11: 111-121.
- Plastino E & M Guimarães. 2001.** Diversidad intraespecífica. In: Alveal K & T Antezana (eds). *Sustentabilidad de la biodiversidad, un problema actual. Bases científico-técnicas, teorizaciones y proyecciones*, pp. 19-27. Universidad de Concepción, Concepción.
- Plastino EM, M Guimarães, SR Matioli & EC Oliveira. 1999.** Codominant inheritance of polymorphic color variants of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Genetic Molecular Biology* 22: 105-108.

- Plastino EM, S Ursi & MT Fujii. 2004.** Color inheritance, pigment characterization, and growth of a rare light green strain of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycological Research* 52: 45-52.
- Poore AG & T Fagerstrom. 2000.** Intraclonal variation in macroalgae: causes and evolutionary consequences. *Selection* 1: 123-133.
- Pueschel CM & J van der Meer. 1984.** Ultrastructural characterization of a pigment mutant of the red alga *Palmaria palmata*. *Canadian Journal of Botany* 62: 1101-1107.
- Ramus J & JP van der Meer. 1983.** A physiological test of the theory of complementary chromatic adaptation. I. Color mutants of a red seaweed. *Journal of Phycology* 19: 86-91.
- Santelices B, JA Correa, I Meneses, D Aedo & D Varela. 1996.** Sporeling coalescence and intraclonal variation in *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 32: 313-322.
- Ursi S & EM Plastino. 2001.** Crescimento in vitro de linhagens de coloração vermelha e verde clara de *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta) em dois meios de cultura: análise de diferentes estádios reprodutivos. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 587-594.
- Ursi S, VL Costa, L Hayashi, RTL Pereira, EJ Paula & EM Plastino. 2013.** Intraspecific variation in *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, and agar yield and quality of color strains under aquaculture. *Botanica Marina* 56: 241-248.
- Van der Meer JP. 1979.** Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae, Gigartinales). V. Isolation and characterization of mutant strains. *Phycologia* 18: 47-54.
- Van der Meer JP. 1990.** Genetics. In: Cole K & R Sheath (eds). *Biology of the red algae*, pp. 103-122. Cambridge University Press, Cambridge.
- Van der Meer JP & NL Bird. 1977.** Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). I. Mendelian inheritance of two spontaneous green variants. *Phycologia* 16: 159-161.
- Yokoya NS, EM Plastino & R Artel. 2003.** Physiological responses and pigment characterization of two colour strains of the carrageenophyte *Hypnea musciformis* (Rhodophyta). In: Chapman ARO, RJ Anderson, VJ Vreeland & R Davison (eds). *Proceedings of the 17<sup>th</sup> International Seaweed Symposium*, pp 425-433. Oxford University Press, New York.
- Zhang X & JP van der Meer. 1987.** A study on heterosis in diploid gametophytes of the marine red alga *Gracilaria tikvahiae*. *Botanica Marina* 30: 309-314.

---

Recibido el 13 de mayo de 2014 y aceptado el 4 de diciembre de 2014

Editor Asociado: Loretto Contreras Porcia