



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y
BIOLÓGICAS
CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA

“EFECTO DE LA ILUMINANCIA Y TEMPERATURA SOBRE
TETRASPOROFITOS GERMINANTES DE *Chondracanthus
chamissoi* (C. AGARDH) KÜTZING”

Tesis para optar el Título profesional de:
Biólogo Marino

Presentado por:
Bach. Luis Fernando Rios Cruz
Asesor:
Paul Martin Baltazar Guerrero

Lima – Perú
2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 27 de abril de 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dr. HECTOR ALONSO APONTE UBILLUS
Miembro: Blga. MARIE ANNE GALVEZ ESCUDERO
Miembro: Blgo. JORGE ENRIQUE BAUTISTA CORREA

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

“EFECTO DE LA ILUMINANCIA Y TEMPERATURA SOBRE TETRASPOROFITOS GERMINANTES DE *Chondracanthus chamissoi* (C. AGARDH) KÜTZING”

Presentada por el estudiante/bachiller:

- LUIS FERNANDO RIOS CRUZ

Para optar el Título Profesional de Biólogo Marino

Asesorado por: Blgo. PAUL MARTIN BALTAZAR GUERRERO

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de los estudiantes de la carrera de Biología Marina en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple () calificar a:

Tesista: LUIS FERNANDO RIOS CRUZ	Nota (en letras): Diecisiete		
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Dr. Héctor Alonso Aponte Ubillús
Presidente



Blgo. Paul Martin Baltazar Guerrero
Asesor



Blga. Marie Anne Galvez Escudero
Miembro 1



Blgo. Jorge Enrique Bautista Correa
Miembro 2

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias a Innóvate Perú, principal ejecutor del Plan Nacional de Diversificación Productiva del Ministerio de la Producción del Gobierno del Perú, el cual co-financió el proyecto “Desarrollo de un programa de producción de semilla y cultivo de *Chondracantus chamissoi* "yuyo" en la Bahía de Paracas, Pisco” Convenio N° 234-INNOVATEPERU-IAPIP-2017. De igual forma agradecer al personal técnico científico del Laboratorio de Investigación de Cultivos Marinos-Pisco (LICMAUniversidad Científica del Sur), por el apoyo brindado para culminar el presente trabajo. Los autores agradecen a Felipe Abraham Sáez Rubio por la revisión, sus comentarios y sugerencias al manuscrito.

Resumen

La importancia económica adquirida en los últimos años por el “Yuyo” *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales), hacen de esta macroalga, un potencial recurso acuícola. Siendo necesario conocer los principales aspectos de su cultivo; por lo que el presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de la iluminancia y la temperatura sobre el asentamiento, germinación y crecimiento de tetrasporofitos germinantes de *C. chamissoi*. Se sometieron carposporas recién liberadas a dos condiciones de iluminancia (1200 y 2200 lux) y tres temperaturas (18°, 20° y 22 °C) durante 6 semanas. La cuantificación de carposporas asentadas, se llevó a cabo luego de 7 días de iniciada la inoculación sobre bastidores de nylon y a partir del día 22 se procedió a realizar mediciones de los microtalos formados. Nuestros resultados muestran un mayor asentamiento a 1200 lux/22 °C siendo $209,33 \pm 24,58$ tetrasporofitos germinantes cm^{-2} , las menores densidades $74,66 \pm 45,52$ y $57,00 \pm 37,64$ de tetrasporofitos germinantes cm^{-2} fueron obtenidas en los tratamientos de 2200 lux/18 °C y 2200/20 °C lux respectivamente, también se encontraron diferencias significativas en la interacción de ambos factores; además a 2200 lux/18 °C se logró la mayor tasa de crecimiento específico (TCE = 8,27% d⁻¹), seguida de 2200 lux/22 °C y 2200 lux/20 °C con 8,187% d⁻¹ y 8,069% d⁻¹ respectivamente.

Palabras clave: Tetrasporofitos germinantes, iluminancia, temperatura, asentamiento.

Abstract

The economic importance acquired in recent years by the “Yuyo” *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales) makes this macroalga a potential aquaculture resource. It is necessary to know the main aspects of its cultivation. Therefore, this study aims to determine the effect of illuminance and temperature on the settlement, germination and growth of germinating tetrasporophytes of *C. chamissoi*., newly released carpospores were subjected to one of two illuminance conditions (1200 and 2200 lux) and one of three temperatures (18, 20 and 22 °C) for 6 weeks. The quantification of settled carpospores was carried out after 7 days of inoculation on nylon racks, and from day 22, measurements of the microthalli that had formed from settled disks were performed. Our results show a greater settlement at 1200 lux/22 °C with 209.33 ± 24.58 germinating tetrasporophytes cm⁻², and the lowest densities of 74.66 ± 45.52 and 57.00 ± 37.64 germinating tetrasporophytes cm⁻² were obtained in the treatments of 2200 lux/18 °C and 2200/20 °C lux, respectively. Significant differences were also found in the interaction of both factors. In addition, at 2200 lux/18 °C, the highest specific growth rate was achieved (SGR = 8.27% d⁻¹), followed by 2200 lux/22 °C and 2200 lux/20 °C with 8.187% d⁻¹ and 8.069% d⁻¹, respectively.

Key words: germinating tetrasporophytes, illuminance, temperature, settlement.

Efecto de la iluminancia y temperatura sobre tetrasporofitos germinantes de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing

Luis Rios Cruz¹, Paul Baltazar Guerrero^{1,2*}, Max Castañeda Franco^{1,2}, Samuel Arbaiza Quispe^{1,2}

*pbaltazar@cientifica.edu.pe

ORCID Paul Baltazar: <https://orcid.org/0000-0003-4071-4772>

ORCID Luis Rios: <https://orcid.org/0000-0002-1076-6750>

¹Carrera de Biología Marina, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Panamericana Sur Km 19, Lima, Perú.

²Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (LICMA), Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación

Resumen

La importancia económica adquirida en los últimos años por el “Yuyo” *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales), hacen de esta macroalga, un potencial recurso acuícola. Siendo necesario conocer los principales aspectos de su cultivo; por lo que el presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de la iluminancia y la temperatura sobre el asentamiento, germinación y crecimiento de tetrasporofitos germinantes de *C. chamissoi*. Se sometieron carposporas recién liberadas a dos condiciones de iluminancia (1200 y 2200 lux) y tres temperaturas (18°, 20° y 22 °C) durante 6 semanas. La cuantificación de carposporas asentadas, se llevó a cabo luego de 7 días de iniciada la inoculación sobre bastidores de nylon y a partir del día 22 se procedió a realizar mediciones de los microtalos formados. Nuestros resultados muestran un mayor asentamiento a 1200 lux/22 °C siendo $209,33 \pm 24,58$ tetrasporofitos germinantes cm^{-2} , las menores densidades $74,66 \pm 45,52$ y $57,00 \pm 37,64$ de tetrasporofitos germinantes cm^{-2} fueron obtenidas en los tratamientos de 2200 lux/18 °C y 2200/20 °C lux respectivamente, también se encontraron diferencias significativas en la interacción de ambos factores; además a 2200 lux/18 °C se logró la mayor tasa de crecimiento específico (TCE = $8,27\% \text{ d}^{-1}$), seguida de 2200 lux/22 °C y 2200 lux/20 °C con $8,187\% \text{ d}^{-1}$ y $8,069\% \text{ d}^{-1}$ respectivamente.

Palabras clave: Tetrasporofitos germinantes, iluminancia, temperatura, asentamiento.

1. Introducción

Chondracanthus chamissoi (C. Agardh) Kützing 1843 es una macroalga carragenófita perteneciente a la familia Gigartinales. Se distribuye desde Paita, Perú (5°S) hasta Chiloé en Chile (42°S) (Acleto 1986) aunque también se ha reportado su distribución por Corea y Japón (Yang et al. 2015). Generalmente esta macroalga habita sobre sustratos duros, tales como rocas y conchuelas ubicadas en la zona intermareal o submareal (Riolfri 2003; Calderón et al. 2011). Esta especie, presenta un ciclo de vida trifásico con alternancia de generación isomórfica, donde la fase gametofítica (sexual haploide) es dioica; es decir se encuentran organismos masculinos y femeninos. Posterior a la fecundación, sobre el gametofito femenino se da la formación del cistocarpo o también llamado carposporofito (diploide). Dentro de los cistocarpos se generan carposporas las cuales, al ser liberadas, se asientan y posteriormente germinan a lo que denominamos en el presente estudio como tetrasporofitos germinantes (asexual diploide). Finalmente, esta última fase genera tetrasporas y las libera a través de los soros tetrasporangiales maduros; las cuales al germinar dan lugar a organismos gametofíticos, completando así el ciclo (Acleto 1986; Avila et al. 2011).

Según el Ministerio de la Producción (2018), el desembarque de algas en el Perú se incrementó de 13 779 toneladas métricas (TM) en el 2008 a 27 538 TM para el 2017. El interés comercial de *C. chamissoi* se debe a las propiedades obtenidas de los ficocoloides, tales como el λ -carragenano y el k-carragenano (Salas et al. 2008). El costo por tonelada seca de esta macroalga para el 2007 fue de US\$ 440 y en el 2014 fue de US\$ 840 (Rebours et al. 2014). Este incremento de los volúmenes de producción y precios está estrechamente relacionado con el mayor empleo en la industria farmacéutica, cosmética y gastronómica (Hayashi et al. 2013). En este contexto se genera un impacto negativo sobre las praderas naturales de dicha especie (Vásquez y Vega 2001; Flores et al. 2015) que es posible agravar con el calentamiento global y la mayor ocurrencia del evento “El Niño” (Tarazona et al. 1999; Alvarez y Vodden 2009); motivos por los

cuales es imprescindible generar estrategias de manejo de praderas, repoblamiento y mejoras en las técnicas de cultivo de esta macroalga para que resulte viable económicamente.

La reproducción vía esporas en el cultivo de algas marinas permite obtener una alta producción de organismos con una reducida cantidad de individuos reproductivamente maduros; esto se debe a que el uso de soluciones concentradas de esporas mejora la manejabilidad e inoculación de sustratos artificiales, los cuales son útiles en el cultivo en campo (Pacheco-Ruiz et al. 1989; Castañeda et al. 2018). El asentamiento, germinación y crecimiento de las esporas son etapas cruciales en el establecimiento y desarrollo del primer disco de fijación sobre el sustrato (Fletcher y Callow 1992; Agrawal 2009). El desarrollo en estas primeras etapas se encuentra influenciado por diversos factores; siendo uno de ellos, la disponibilidad de luz, al estar estrechamente relacionada con la actividad fotosintética y dependiendo de la cantidad de la misma, puede potenciar o inhibir el crecimiento (Miranda et al. 2012; Yu et al. 2013; Zhao et al. 2014); al igual que la temperatura, factor que juega un papel importante en las tasas de crecimiento de *C. chamissoi*, siendo mayores con el incremento de la temperatura (Tarazona et al. 1999; Bulboa y Macchiavello 2001; Bulboa et al. 2010; Avila et al. 2011; Zhao et al. 2014).

Por todo lo detallado anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la iluminancia y temperatura sobre el asentamiento y crecimiento de tetrasporofitos germinantes de *C. chamissoi*, en condiciones semicontroladas de cultivo.

2. Materiales y métodos

2.1 Obtención de la muestra e Inducción a la esporulación

La Cooperativa de Trabajadores Pesqueros y Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR) realizó la extracción manual (buceo autónomo; 5 m de profundidad) de 2,5 Kg de *C. chamissoi* procedentes de Playa La Puntilla (13°48'29,2"S 76°14'58,9"W) en el distrito de Paracas, provincia de Pisco. El material colectado, fue trasladado al Laboratorio de Investigación de Cultivos Marinos (LICMA, Universidad Científica del Sur - Sede Pisco) en una caja térmica a 10 °C, con la finalidad de evitar la esporulación.

Una vez en el laboratorio, se procedió a seleccionar individuos reproductivamente maduros de la fase carposporofítica (con presencia de cistocarpos). Luego, se procedió a extraer los epibiontes presentes mediante la desinfección con hipoclorito de sodio al 1%; inmediatamente, se pasó por agua dulce, con la finalidad de causar un cambio osmótico reduciendo la presencia de microorganismos y esporas de otras macroalgas. Posteriormente, las frondas completas se estresaron por desecación durante 6 horas, induciendo a la esporulación (Agrawal 2012). Transcurrido ese tiempo, las algas fueron colocadas en matraces con agua de mar (filtrada mediante una membrana de celulosa de 0,22 µm) y abundante aireación. Las algas se esporularon a una densidad de 150 g de alga reproductiva por litro, obteniendo tras tres horas de esporulación la densidad de $1,96 \times 10^4$ carposporas mL⁻¹.

2.2 Diseño experimental

Se evaluó el efecto de la iluminancia (1200 y 2200 lux - equivalentes a 35 y 70 µmol m⁻² s⁻¹ respectivamente) y la temperatura (18°C, 20°C y 22°C) de forma combinada sobre el asentamiento y crecimiento de carposporas de *C. chamissoi*, cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La iluminancia fue regulada con la altura de un fluorescente sobre las unidades experimentales, mientras que las temperaturas fueron mantenidas con el uso de termostatos; el fotoperiodo fue de 12h:12h (luz: oscuridad) y la aireación fue dosificada equitativamente a 6,5 mg O₂ L⁻¹. El periodo experimental tuvo una duración de 43 días.

Las unidades experimentales consistieron en recipientes de 1L de capacidad, donde se mezcló 250 mL de la solución de esporas antes mencionada con 550 mL de agua de mar (salinidad = 37 ups; pH = 8,15; desinfectada con hipoclorito de sodio al 0,1% siguiendo el protocolo propuesto por Kawachi y Noël (2005) y filtrada hasta 0,22 µm). En la base de dicho recipiente se colocaron pequeños bastidores con cuerdas de nylon (como sustrato) obteniendo un área total de 6 cm².

2.3 Parámetros fisicoquímicos y biológicos

Se realizaron mediciones diarias de los parámetros fisicoquímicos como temperatura, pH, salinidad e iluminancia con el multiparámetro YSI Profesional plus y el luxómetro EZDO DL-204; así mismo se realizaron los ajustes correspondientes de salinidad, agregando agua destilada, con la finalidad de evitar el

estrés osmótico. Se añadió el fertilizante comercial Bayfolan® al 0,1% como medio de cultivo (Castañeda et al. 2018) y se realizaron recambios de agua del 100% cada siete días. La biometría se realizó semanalmente evaluando la cantidad de esporas asentadas en los bastidores utilizando un microscopio Leica DM500, durante los primeros 36 días de evaluación. A partir del día 22 hasta el 43 se realizó la medición del crecimiento del talo con ayuda de un estereoscopio Leica Ez4E. No se evaluó el asentamiento en el día 0 para evitar el estrés y despegue de las esporas del sustrato; por otro lado, el diámetro inicial de las carposporas en la solución fue de $10,9 \pm 0,33 \mu\text{m}$.

Con la finalidad de registrar información estadística relacionada a la cantidad de carposporas dentro del área de asentamiento; se tomaron fotografías utilizando el programa asociado al estereoscopio en mención LAS EZ 3.4.0; se seleccionaron áreas de 1 cm^2 aleatoriamente dentro de los bastidores, para ello se utilizó una lámina milimetrada como referencia. Finalmente, en el caso de la tasa de crecimiento específico (TCE) se utilizó la fórmula propuesta por Orduña-Rojas y Robledo (1999) multiplicado por 100 para obtener el valor en porcentual: Donde L_1 es la longitud inicial y L_2 la longitud en el tiempo t .

$$TCE (\%) = \left(\ln \left(\frac{L_2}{L_1} \right) \times t^{-1} \right) \times 100$$

2.4 Análisis estadísticos

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk con el fin de determinar la normalidad de los datos, así como la prueba de homocedasticidad de Bartlett; siendo la primera no significativa y la segunda determinando heterocedasticidad en los datos, por lo que para determinar las diferencias entre los tratamientos se optó por la prueba no paramétrica de Scheirer-Ray-Hare (SRH) (Scheirer et al. 1976).

3. Resultados

3.1 Parámetros fisicoquímicos

Los valores promedios de temperatura fueron de $18 \pm 0,7^\circ\text{C}$, $20 \pm 0,65^\circ\text{C}$ y $22 \pm 0,3^\circ\text{C}$ mientras que los valores promedio de iluminancia se mantuvieron en $1200 \pm 100 \text{ lux}$ y $2200 \pm 50 \text{ lux}$ respectivamente para cada tratamiento; asimismo durante el periodo experimental la salinidad varió: $37,56 \pm 1,23 \text{ ups}$ y el pH $7,89 \pm 0,3$.

3.2 Asentamiento

La tabla 1 demuestra la influencia significativa de la interacción entre factores, siendo la temperatura 22°C , el nivel donde 1200 lux sobrepasa a 2200 lux en cuanto a la cantidad de tetrasporofitos asentados (Fig. 1). En términos del total de tetrasporofitos fijados por cm^2 ; el mayor valor fue de $193 \pm 21,07$ y $209,33 \pm 24,58$ en el tratamiento de $1200 \text{ lux}/22^\circ\text{C}$ y $2200 \text{ lux}/20^\circ\text{C}$ respectivamente; mientras que la menor cantidad observada fue de $57 \pm 37,64$ a $1200 \text{ lux}/20^\circ\text{C}$ (Tabla 2).

Tabla 1. Nivel de significancia de la prueba de SHR prueba no paramétrica sobre el número de tetrasporofitos asentados de acuerdo con los niveles de iluminancia y temperatura.

Factor	Grados de libertad	P
Iluminancia	1	0,20
Temperatura	2	0,19
Iluminancia/ Temperatura	2	0,01

Tabla 2. Densidad de tetrasporofitos germinantes (DTG) de *C. chamissoi* por cm^2 en el día 36 de cultivo, bajo condiciones controladas, expresadas en promedio \pm desviación estándar.

Iluminancia	Temperatura	DTG cm^{-2}
1200	18	$74,66 \pm 45,52$
	20	$57,00 \pm 37,64$
	22	$209,33 \pm 24,58$
2200	18	$137,00 \pm 50,69$
	20	$193,00 \pm 21,07$
	22	$147,33 \pm 1,15$

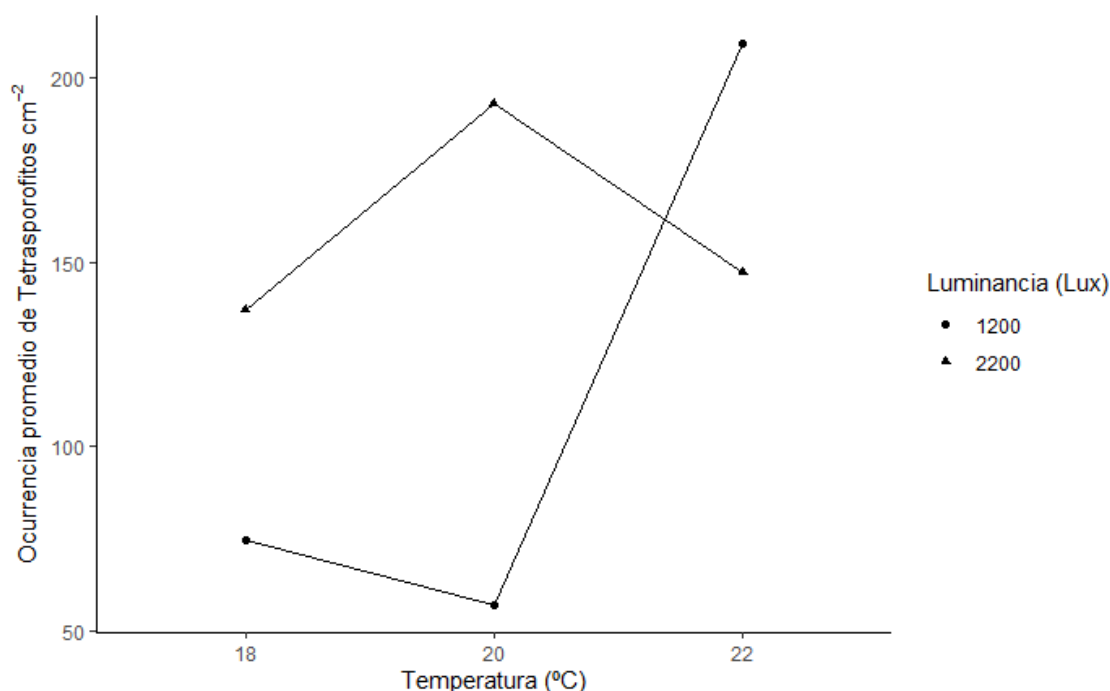


Figura 1. Promedio de tetrasporofitos asentados al final del periodo experimental de acuerdo con los niveles de iluminancia y temperatura (grafico de interacción).

3.3 Crecimiento de los tetrasporofitos germinantes

La iluminancia ejerce un efecto significativo sobre el crecimiento de los microtalos (Tabla 3). Por otra parte, como se evidencia en la tabla 4 las mayores longitudes de los microtalos fueron obtenidos a 2200 lux y los mayores valores de TCE. Cabe destacar que, a esta iluminancia, a diferencia de 1200 lux, hubo mayor cantidad de epifitos (Fig. 3), lo que indica una preferencia de estos sobre una intensidad lumínica alta.

Tabla 3. Nivel de significancia de la prueba de Scherirer-Ray-Hare (SHR), sobre el crecimiento de los tetrasporofitos germinantes de acuerdo con los niveles de temperatura e iluminancia.

Factor	Grados de libertad	P
Iluminancia	1	0,00
Temperatura	2	0,50
Iluminancia/ Temperatura	2	0,26

Tabla 4. Agrupamiento de la prueba de comparación de pares por longitud promedio y tasa de crecimiento específica (TCE) de tetrasporofitos germinantes de acuerdo con los niveles de iluminancia y temperatura. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Iluminancia (Lux)	Temperatura (°C)	Longitud (µm)	TCE (%)
2200	18	396,69 ^a	8,271
2200	22	356,60 ^a	8,187
2200	20	336,32 ^{ab}	8,069
1200	22	292,82 ^{bc}	7,661
1200	20	251,49 ^{cd}	7,230
1200	18	235,56 ^d	7,140

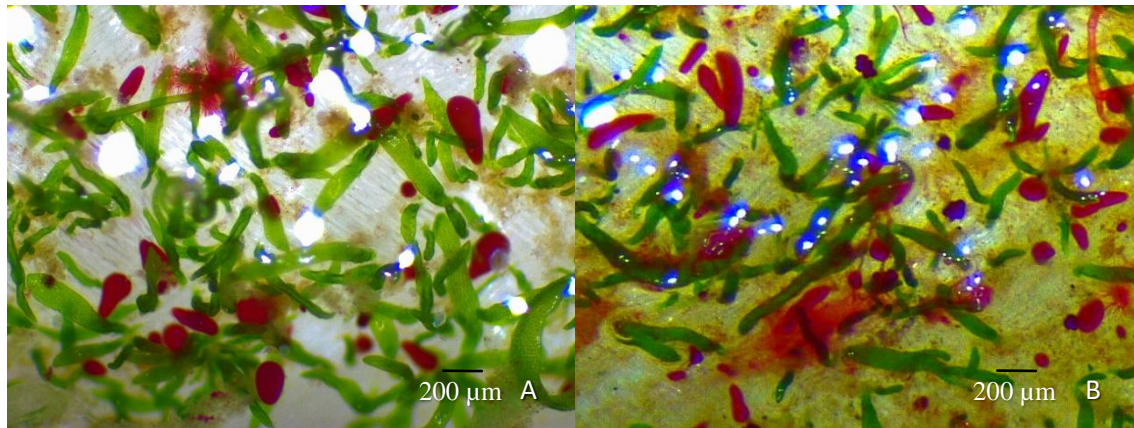


Figura 3. Tetrasporofitos germinantes de 43 días de desarrollo correspondientes a los tratamientos de tratamiento 1200 lux/22 °C (A) y 2200 lux/20 °C (B).

4. Discusión

La determinación del método de cultivo en algas parte de las estrategias reproductivas que estas poseen, las cuales difieren según la especie (Braga 1990; Calderón et al. 2011; Avila et al. 2011; Bulboa et al. 2013; Bermejo et al. 2019). Por otro lado, las mediciones de parámetros biométricos sobre las esporas, como la tasa de germinación, supervivencia, crecimiento, entre otros clarifican el potencial uso del ciclo de vida de la macroalga para realizar su cultivo (Choi et al. 2006; Bulboa et al. 2010; Pacheco-Ruíz et al. 2011; Rafik 2016; Yeh et al. 2019).

4.1 Asentamiento

Los resultados demuestran una mayor cantidad de tetrasporofitos encontrados a condiciones de 2200 lux con excepción de 1200 lux/22 °C, esta última iluminancia evidencia un decaimiento propio del éxito de desarrollo de las carposporas (Tabla 2), influenciadas por la interacción de los factores (Fig. 1) (Maggs y Callow 2003; Agrawal 2009). Gonzalez y Meneses (1996) determinaron un mejor rendimiento en la germinación de carposporas en *C. chamissoi* a $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 20 °C en experimentos que realizaron en el verano, lo cual concuerda con nuestros resultados, encontrándose en la iluminancia de 2200 lux (aprox. $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) la mayor cantidad de tetrasporofitos germinantes a 20 °C.

Diversos factores influyen en el asentamiento de las carposporas, entre las que podemos indicar la naturaleza del sustrato, las interacciones bióticas; así como la presencia de películas bacterianas que alteran las propiedades fisicoquímicas y topográficas del sustrato; ya que pueden inhibir o reducir el asentamiento de las carposporas (Tabla 2) (Hughes et al. 2018; Arbaiza et al. 2019) y el desarrollo óptimo del disco de fijación, el cual es esencial para la supervivencia del alga (Pacheco-Ruíz et al. 2005; Aihua et al. 2006). Es así como se observó que diversos tetrasporofitos no se pudieron asentar y se desarrollaron sin adherirse al sustrato (Fig. 3), por lo que esta peculiaridad no afecta el crecimiento del alga, pese a no estar fijada, pues esta sigue desarrollándose normalmente, así mismo la presencia de primordios aseguran una futura fijación (Barrientos y Otaíza 2014).

Sin embargo, la menor ocurrencia de tetrasporofitos a 2200 lux/22 °C (Fig. 1) se debió principalmente a la competencia por espacio en el sustrato con *Ulva* sp. (Fig. 3), tal como menciona Bulboa et al. (2007) que los zooides de esta alga y de *Enteromorpha* sp. se encuentran adheridos a los talos de *C. chamissoi* y con mayor incidencia en gametofitos; también observadas en el trabajo de Castañeda et al. (2018), por lo que el vector de contaminación se encuentra principalmente en la preparación de la solución de esporas.

4.2 Crecimiento de los tetrasporofitos germinantes

El efecto causado por los factores ambientales sobre el crecimiento de las carposporas de *C. chamissoi*, ha sido reportado por Bulboa et al. (2010), quienes determinaron una TCE de $9,3 \pm 0,2\% \text{ d}^{-1}$ para individuos procedentes de la localidad de Lechagua en primavera, donde las condiciones de trabajo fueron 15 °C y $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. En el presente trabajo el mayor valor de TCE es de 8,27% perteneciente al tratamiento de

2200 lux/18 °C (75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aproximadamente), esta similitud en valores altos de TCE, indicarían que las condiciones óptimas de cultivo para *C. chamissoi* se encuentran alrededor de los 15 °C – 20 °C/70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

De igual manera con *Chondrus ocellatus*, especie perteneciente a la misma familia de *C. chamissoi* (Gigartineae), se observó que el rango óptimo de condiciones de cultivo sigue la misma tendencia entre 20 °C a 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Li et al. 2010), concordando con lo mencionado en el párrafo anterior. Por otro lado, Orduña-Rojas y Robledo (1999), trabajando con una temperatura de 28 °C y 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ determinaron una tasa de crecimiento de 5.2% d^{-1} sobre carposporas de *Gracilaria cornea*, la cual es inferior a los determinados para *C. chamissoi*.

5. Conclusión

Los resultados muestran que, se encontraron diferencias significativas en la interacción de iluminancia y temperatura sobre el asentamiento, mas no por separados, siendo producto de la competencia por espacio con las algas verdes cuya presencia se ve favorecida por una mayor cantidad de luz, por otro lado, el crecimiento de tetrasporofitos germinantes depende directamente de la iluminancia, encontrándose a 2200 lux los mayores valores de TCE.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias a Innóvate Perú, principal ejecutor del Plan Nacional de Diversificación Productiva del Ministerio de la Producción del Gobierno del Perú, el cual co-financió el proyecto “Desarrollo de un programa de producción de semilla y cultivo de *Chondracanthus chamissoi* "yuyo" en la Bahía de Paracas, Pisco” Convenio N° 234-INNOVATEPERU-IAPIP-2017. De igual forma agradecer al personal técnico científico del Laboratorio de Investigación de Cultivos Marinos-Pisco (LICMA-Universidad Científica del Sur), por el apoyo brindado para culminar el presente trabajo. Los autores agradecen a Felipe Abraham Sáez Rubio por la revisión, sus comentarios y sugerencias al manuscrito.

Referencias

- Acleto C (1986) Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). Rev Cienc UNMSM 74:33–47
- Agrawal SC (2009) Factors affecting spore germination in algae — review. Folia Microbiol (Praha) 54:273–302. doi: 10.1007/s12223-009-0047-0
- Agrawal SC (2012) Factors controlling induction of reproduction in algae-review: The text. Folia Microbiol (Praha) 57:387–407. doi: 10.1007/s12223-012-0147-0
- Aihua W, Jicheng W, Delin D (2006) Early development of *Chondrus ocellatus* holm (Gigartineae, Rhodophyta). Chinese J Oceanol Limnol 24:129–133. doi: 10.1007/bf02842811
- Alvarez JC, Vodden K (2009) Local ecological knowledge and the impacts of global climatic change on the community of seaweed extractors in Pisco-Perú. En: PICMET '09 - 2009 Portland International Conference on Management of Engineering & Technology. IEEE, pp 1025–1032
- Arbaiza S, Gil-Kadoka P, Arakaki N, Alveal K (2019) Primeros estadios de cultivo a partir de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. Rev Biol Mar Oceanogr 54:198-207. doi: 10.22370/rbmo.2019.54.2.1901
- Avila M, Piel MI, Caceres JH, Alveal K (2011) Cultivation of the red alga *Chondracanthus chamissoi*: sexual reproduction and seedling production in culture under controlled conditions. J Appl Phycol 23:529–536. doi: 10.1007/s10811-010-9628-1
- Barrientos E, Otaíza RD (2014) Juveniles generados a partir de esporas no asentadas de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) presentan capacidad de adhesión al sustrato. Rev Biol Mar Oceanogr 49:135–140. doi: 10.4067/S0718-19572014000100015

- Bermejo R, Macías M, Cara CL, et al (2019) Culture of *Chondracanthus teedei* and *Gracilariopsis longissima* in a traditional salina from southern Spain. *J Appl Phycol* 31:561–573. doi: 10.1007/s10811-018-1516-0
- Braga MR (1990) Reproductive Characteristics of *Gigartina teedii* (Roth) Lamouroux (Rhodophyta, Gigartinales), a Turf-forming Species: Field and Laboratory Culture Studies. *Bot Mar* 33:401–410. doi: 10.1515/botm.1990.33.5.401
- Bulboa C, Macchiavello J, Véliz K, Oliveira EC (2010) Germination rate and sporeling development of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) varies along a latitudinal gradient on the coast of Chile. *Aquat Bot* 92:137–141. doi: 10.1016/j.aquabot.2009.10.016
- Bulboa C, Macchiavello JE, Veliz K, et al (2007) In vitro recruitment of *Ulva* sp. and *Enteromorpha* sp. on gametophytic and tetrasporophytic thalli of four populations of *Chondracanthus chamissoi* from Chile. *J Appl Phycol* 19:247–254. doi: 10.1007/s10811-006-9130-y
- Bulboa C, Véliz K, Sáez F, et al (2013) A new method for cultivation of the carrageenophyte and edible red seaweed *Chondracanthus chamissoi* based on secondary attachment disc: Development in outdoor tanks. *Aquaculture* 410–411:86–94. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.06.018
- Bulboa CR, Macchiavello JE (2001) The Effects of Light and Temperature on Different Phases of the Life Cycle in the Carrageenan Producing Alga *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Bot Mar* 44:371–374. doi: 10.1515/BOT.2001.047
- Calderón M, Ramírez ME, Bustamante D (2011) Notas sobre tres especies de Gigartinaceae (Rhodophyta) del litoral peruano. *Rev Peru Biol* 17:115–121. doi: 10.15381/rpb.v17i1.59
- Castañeda M, Arbaiza S, Diaz F, et al (2018) Evaluación del fotoperiodo en el asentamiento de tetraesporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polipropileno en condiciones semi-controladas de laboratorio. *An Científicos* 79:459. doi: 10.21704/ac.v79i2.1256
- Choi HG, Kim YS, Kim JH, et al (2006) Effects of temperature and salinity on the growth of *Gracilaria verrucosa* and *G. chorda*, with the Potential for mariculture in Korea. *J Appl Phycol* 18:269–277. doi: 10.1007/s10811-006-9033-y
- Fletcher RL, Callow ME (1992) The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *Br Phycol J* 27:303–329. doi: http://dx.doi.org/10.1080/00071619200650281
- Flores D, Zavala J, Donayre S, et al (2015) Evaluación poblacional de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh, 1820) en las bahías de Pisco y Paracas, otoño 2010. *Inst del Mar del Perú* 42:504–509
- Gonzalez J, Meneses I (1996) Differences in the early stages of development of gametophytes and tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C.Ag.) Kutzing from Puerto Aldea, northern Chile. *Aquaculture* 143:91–107. doi: 10.1016/0044-8486(95)01203-6
- Hayashi L, Bulboa C, Kradolfer P, et al (2013) Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *J Appl Phycol* 26:719–727. doi: 10.1007/s10811-013-0143-z
- Hughes MH, Michetti KM, Leonardi PI (2018) Spore release and germling development on different substrates in the carrageenophyte *Sarcothalia crispata* from the southwestern Atlantic coast. *J Appl Phycol* 31:1285–1295. doi: 10.1007/s10811-018-1643-7
- Kawachi M, Noël M-H (2005) Sterilization and sterile technique. *Algal culturing techniques*. En: Andersen R (ed) *Algal culturing techniques*. pp 65–81
- Li X, Zhao P, Wang G, et al (2010) Effects of temperature and irradiance on early development of *Chondrus ocellatus* Holm (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Chinese J Oceanol Limnol* 28:508–513. doi: 10.1007/s00343-010-9043-0
- Love R (2018) Optimisation of the culture of the red alga *Chondracanthus teedei*. Effects of irradiance, temperature, salinity and nutrient enrichment. (Undergraduate Thesis). Universidad de Cádiz, Puerto Real, España.

- Maggs CA, Callow ME (2003) Algal Spores. *Encycl Life Sci* 1–6. doi: 10.1038/npg.els.0000311
- Miranda G, Yokoya NS, Fujii MT (2012) Effects of temperature, salinity and irradiance on carposporeling development of *Hidropuntia caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Rev Bras Farmacogn* 22:818–824. doi: 10.1590/S0102-695X2012005000079
- Orduña-Rojas J, Robledo D (1999) Effects of Irradiance and Temperature on the Release and Growth of Carpospores from *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta). *Bot Mar* 42:315–319. doi: 10.1515/BOT.1999.035
- Pacheco-Ruíz I, Cabello-Pasini A, Zertuche-González JA, et al (2011) Carpospore and tetraspore release and survival in *Chondracanthus squarrulosus* (Rhodophyta: Gigartinales) from the Gulf of California. *Bot Mar* 54:127–134. doi: 10.1515/bot.2011.019
- Pacheco-Ruíz I, García-Esquivel Z, Aguilar-Rosas LE (1989) Spore discharge in the carragenophyte *Gigartina canaliculata* Harvey (Rhodophyta, Gigartinales). *J Exp Mar Bio Ecol* 126:293–299. doi: 10.1016/0022-0981(89)90194-9
- Pacheco-Ruíz I, Zertuche-González JA, Espinoza-Avalos J (2005) The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarrulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 44:629–631. doi: 10.2216/0031-8884(2005)44[629:TROSAD]2.0.CO;2
- PRODUCE (2018) Anuario estadístico pesquero y acuícola. OGEIEE- Oficina de Estudios Económicos. Lima, Perú. 198 pp.
- Rafik B (2016) Influence of irradiance and salinity on the growth of carposporelings and juvenile tetrasporophytes in *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) M. Steentoft, L.M. Irvine & W.F. Farnham (Rhodophyta; Rhodophyceae; Gracilariales) and agar yield. *Bull Inst Natn Scien Tech Mer Salammbô* 43:
- Rebours C, Marinho-Soriano E, Zertuche-González JA, et al (2014) Seaweeds: an opportunity for wealth and sustainable livelihood for coastal communities. *J Appl Phycol* 26:1939–1951. doi: 10.1007/s10811-014-0304-8
- Riofrío O (2003) Efecto de la variabilidad térmica sobre la biología vegetativa y reproductiva de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützinger (Rhodophyta) en la bahía de Ancón, Perú. (Undergraduate Thesis). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
- Salas N, Córdova C, Lengua L, et al (2008) Obtención de κ -Carragenano y λ -Carragenano a partir de macroalga *Chondracanthus chamissoi* y su aplicación en la industria alimentaria. *Rev Peru Química e Ing Química* 11:61–70
- Scheirer J, Ray W, Hare N (1976) The Analysis of Ranked Data Derived from Completely Randomized Factorial Designs. *Biometrics* 32:429–434
- Tarazona J, Indacochea A, Valle S, et al (1999) Impacto de “el niño 1997-98” sobre el ecosistema marino somero de la costa central del Perú. *Rev Peru Biol* 6:18–31. doi: 10.15381/rpb.v6i3.8427
- Vásquez JA, Vega JM (2001) *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: Ecological aspects for management of wild populations. *J Appl Phycol* 13:267–277. doi: 10.1023/A:1011152922832
- Yang MY, Macaya EC, Kim MS (2015) Molecular evidence for verifying the distribution of *Chondracanthus chamissoi* and *C. teedei* (Gigartinales, Rhodophyta). *Bot Mar* 58:103–113. doi: 10.1515/bot-2015-0011
- Yeh H, Lee M, Libatique MJH, Liao Z-H (2019) The effects of seawater temperature and irradiance on the sexual reproduction of *Sargassum ilicifolium* (Sargassaceae, Phaeophyta). *J Appl Phycol* 1–10. doi: 10.1007/s10811-019-01919-1

Yu C-H, Lim P-E, Phang S-M (2013) Effects of irradiance and salinity on the growth of carpospore-derived tetrasporophytes of *Gracilaria edulis* and *Gracilaria tenuistipitata* var liui (Rhodophyta). J Appl Phycol 25:787–794. doi: 10.1007/s10811-012-9960-8

Zhao F, Zhao Z, Liu J (2014) Effects of temperature on the early development of carpospores of *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Gigartinales, Rhodophyta). Arch Hydrobiol Suppl Algol Stud 145:181–193. doi: 10.1127/1864-1318/2014/0192

Anexos

17/8/2020

Gmail - Journal of Applied Phycology - Submission Notification to co-author



Luis Fernando Rios Cruz <luisfrc9@gmail.com>

Journal of Applied Phycology - Submission Notification to co-author

1 mensaje

JAPH <em@editorialmanager.com>

7 de agosto de 2020, 20:04

Responder a: JAPH <garlen.rafael@springernature.com>

Para: Luis Rios Cruz <luisfrc9@gmail.com>

Re: "Effects of illuminance and temperature on germinating tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing"

Full author list: Luis Rios Cruz, Biólogo Marino; Paul Martin Baltazar Guerrero, Biólogo; Max Castañeda Franco, Biólogo Marino; Samuel Arbaiza Quispe, Biólogo

Dear Mr Luis Rios Cruz,

We have received the submission entitled: "Effects of illuminance and temperature on germinating tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing" for possible publication in Journal of Applied Phycology, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Mr. Paul Martin Baltazar Guerrero who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office
Journal of Applied Phycology

****Our flexible approach during the COVID-19 pandemic****

If you need more time at any stage of the peer-review process, please do let us know. While our systems will continue to remind you of the original timelines, we aim to be as flexible as possible during the current pandemic.

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/japh/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

Effects of illuminance and temperature on germinating tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing

Luis Rios Cruz¹, Paul Baltazar Guerrero^{1,2*}, Max Castañeda Franco^{1,2}, Samuel Arbaiza Quispe^{1,2}

*pbaltazar@cientifica.edu.pe

ORCID Paul Baltazar: <https://orcid.org/0000-0003-4071-4772>

ORCID Luis Rios: <https://orcid.org/0000-0002-1076-6750>

¹Carrera de Biología Marina, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Panamericana Sur Km 19, Lima, Perú.

²Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (LICMA), Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación

Abstract

The economic importance acquired in recent years by the “Yuyo” *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales) makes this macroalga a potential aquaculture resource. It is necessary to know the main aspects of its cultivation. Therefore, this study aims to determine the effect of illuminance and temperature on the settlement, germination and growth of germinating tetrasporophytes of *C. chamissoi*., newly released carpospores were subjected to one of two illuminance conditions (1200 and 2200 lux) and one of three temperatures (18, 20 and 22 °C) for 6 weeks. The quantification of settled carpospores was carried out after 7 days of inoculation on nylon racks, and from day 22, measurements of the microthalli that had formed from settled disks were performed. Our results show a greater settlement at 1200 lux/22 °C with 209.33 ± 24.58 germinating tetrasporophytes cm^{-2} , and the lowest densities of 74.66 ± 45.52 and 57.00 ± 37.64 germinating tetrasporophytes cm^{-2} were obtained in the treatments of 2200 lux/18 °C and 2200/20 °C lux, respectively. Significant differences were also found in the interaction of both factors. In addition, at 2200 lux/18 °C, the highest specific growth rate was achieved (SGR = $8.27\% \text{ d}^{-1}$), followed by 2200 lux/22 °C and 2200 lux/20 °C with $8.187\% \text{ d}^{-1}$ and $8.069\% \text{ d}^{-1}$, respectively.

Key words: germinating tetrasporophytes, illuminance, temperature, settlement

1. Introduction

Chondracanthus chamissoi (C. Agardh) Kützing 1843 is a carrageenan macroalga belonging to the family Gigartiniaceae. It is distributed from Paita, Peru (5°S) to Chiloé in Chile (42°S) (Acleto 1986), although it has also been reported in Korea and Japan (Yang et al. 2015). Generally, this macroalga inhabits hard substrates, such as rocks and shells located in the intertidal or subtidal zone (Riofrío 2003; Calderón et al. 2011). This species presents a triphasic life cycle with alternating isomorphic generation, where the gametophytic phase (haploid sexual) is dioecious; that is, male and female organisms are found. After fertilization, the formation of the cystocarp, also called carposporophyte (diploid), occurs on the female gametophyte. Within the cystocarps, carpospores are generated, which, when released, settle and subsequently germinate what we call in the present study germinating tetrasporophytes (asexual diploid). This last phase of the cycle generates tetraspores that are released through mature tetrasporangial sori and that upon germination give rise to gametophytic organisms, completing the cycle (Acleto 1986; Avila et al. 2011).

According to the Ministry of Production (2018), the landing of algae in Peru increased from 13,779 metric tons (MT) in 2008 to 27,538 MT by 2017. The commercial interest of *C. chamissoi* is due to the properties obtained from phycocolloids, such as λ -carrageenan and k-carrageenan (Salas et al. 2008). The cost per dry ton of this macroalga for 2007 was US \$440, and in 2014, it was US \$840 (Rebours et al. 2014). This increase in production volumes and prices is closely related to increased use in the pharmaceutical, cosmetic and gastronomic industries (Hayashi et al. 2013). In this context, a negative impact is generated on the natural meadows of this species (Vásquez and Vega 2001; Flores et al. 2015) that can be aggravated by global warming and the greater occurrence of the “El Niño” event (Tarazona et al. 1999; Alvarez and Vodden 2009). Reasons for which it is essential to generate algal meadows management strategies,

repopulation and improvements in the cultivation techniques of this macroalgae to make it economically viable.

Reproduction via spores in the cultivation of marine algae allows high production of organisms with a reduced number of reproductively mature individuals. This is because the use of concentrated spore solutions improves the manageability and inoculation of artificial substrates, which are useful in field cultivation (Pacheco-Ruiz et al. 1989; Castañeda et al. 2018). The settlement, germination and growth of spores are crucial stages for the establishment and development of the first substrate fixation disk on a substrate (Fletcher and Callow 1992; Agrawal 2009). Development in these early stages is influenced by various factors; among them, the availability of light, which is closely related to photosynthetic activity and depends on its amount, can enhance or inhibit growth (Miranda et al. 2012; Yu et al. 2013; Zhao et al. 2014), as well as temperature, a factor that plays an important role in the growth rates of *C. chamissoi*, being higher with increasing temperature. (Tarazona et al. 1999; Bulboa and Macchiavello 2001; Bulboa et al. 2010; Avila et al. 2011; Zhao et al. 2014).

The objective of this study was to determine the effects of illuminance and temperature on the settlement and growth of germinating tetrasporophytes of *C. chamissoi*, under semi-controlled culture conditions.

2. Materials and methods

2.1 Sampling and sporulation induction

The cooperative of Fish and Artisanal Seaweed Workers (COTRAPALMAR) carried out manual extraction (autonomous diving; 5 m depth) of 2.5 kg of *C. chamissoi* from La Puntilla Beach (13°48'29,2"S 76°14'58,9"W) in the district of Paracas, province of Pisco-Perú. The collected material was transferred to the Marine Cultivation Research Laboratory (LICMA) of the Universidad Científica del Sur - Pisco Campus, in a thermal box at 10 °C to avoid sporulation.

Once in the laboratory, the reproductively mature individuals of the carposporophytic phase (with the presence of cystocarps) were selected. Then, the epibionts present were extracted by disinfection with 1% sodium hypochlorite; immediately, it was passed through fresh water to cause an osmotic change, reducing the presence of microorganisms and spores of other macroalgae. The complete fronds were stressed by desiccation for 6 h to induce sporulation (Agrawal 2012) and then placed in flasks with 0.22 µm filtered seawater under abundant aeration at a density of 150 g of reproductive algae per liter. After 3 h of sporulation, a density of 1.96×10^4 carpospores mL⁻¹ was obtained.

2.2 Experimental design

The effect of illuminance (1200 and 2200 lux - equivalent to 35 and 70 µmol m⁻² s⁻¹, respectively) and temperature (18 °C, 20 °C and 22 °C) were evaluated in a combined manner on the settlement and growth of *C. chamissoi* carpospores, and each treatment had three replicates. The illuminance was regulated with the height of a fluorescent on the experimental units, while the temperatures were maintained with the use of thermostats; the photoperiod was 12 h:12 h (light:dark), and the aeration was dosed equally at 6.5 mg O₂ L⁻¹. The experimental period lasted 43 days.

The experimental units consisted of 1 L capacity containers, where 250 mL of the aforementioned spore solution was mixed with 550 mL of seawater (salinity = 37 ups; pH = 8.15; disinfected with sodium hypochlorite at 0, 1% following the protocol proposed by Kawachi and Noël (2005) and filtered to 0.22 µm). Small racks with nylon ropes (as substrate) were placed at the base of the container, obtaining a total area of 6 cm².

2.3 Physicochemical and biological parameters

Daily measurements of physicochemical parameters such as temperature, pH, salinity and illuminance were performed with the YSI Professional plus multiparameter and the EZDO DL-204 luxmeter. Likewise, the corresponding salinity adjustments were made, adding distilled water to avoid osmotic stress. The commercial 0.1% Bayfolan ® fertilizer was added as culture medium (Castañeda et al. 2018), and 100% water changes were made every seven days. Biometry was performed weekly to evaluate the amount of spores settled in the racks using a Leica DM500 microscope during the first 36 days of evaluation. From day 22 to day 43, thallus growth was measured using a Leica Ez4E stereoscope. Settlement was not

evaluated on day 0 to avoid stress and spore detachment from the substrate; on the other hand, the initial diameter of the carpospores in the solution was $10.9 \pm 0.33 \mu\text{m}$.

To record statistical information related to the number of carpospores within the settlement area, photographs were taken using the program associated with the stereoscope mentioned LAS EZ 3.4.0; 1 cm^2 areas were selected randomly within the frames, for which a millimeter sheet was used as a reference. Finally to determine specific growth rate (SGR), the formula proposed by Orduña-Rojas and Robledo (1999) was used, with the value multiplied by 100 to obtain the percentage value, where L_1 is the initial length and L_2 is the length at time t :

$$SGR (\%) = \left(\ln \left(\frac{L_2}{L_1} \right) \times t^{-1} \right) \times 100$$

2.3 Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test was performed to determine the normality of the data, the results of which were not significant. The Bartlett homoscedasticity test was performed to determine the heteroscedasticity in the data. To determine the differences among treatments, the nonparametric Scheirer-Ray-Hare (SRH) test (Scheirer et al. 1976) was used.

3. Results

3.1 Physicochemical parameters

The mean temperature values were $18 \pm 0.7 \text{ }^\circ\text{C}$, $20 \pm 0.65 \text{ }^\circ\text{C}$ and $22 \pm 0.3 \text{ }^\circ\text{C}$, while the average illuminance values were maintained at $1200 \pm 100 \text{ lux}$ and $2200 \pm 50 \text{ lux}$, respectively for each treatment; also, during the experimental period, the salinity varied: $37.56 \pm 1.23 \text{ ups}$ and the pH 7.89 ± 0.3 .

3.2 Settlement

Table 1 shows the significant influence of the interaction between factors, with the temperature being $22 \text{ }^\circ\text{C}$, the level where 1200 lux exceeds 2200 lux in terms of the amount of settled tetrasporophytes (Fig. 1). In terms of the total fixed tetrasporophytes per cm^2 , the highest values were 193 ± 21.07 and 209.33 ± 24.58 in the 1200 lux/ $22 \text{ }^\circ\text{C}$ and 2200 lux/ $20 \text{ }^\circ\text{C}$ treatments, respectively, while the lowest amount observed was 57 ± 37.64 at 1200 lux/ $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (Table 2).

Table 1. Significance of the nonparametric SRH test of the number of settled tetrasporophytes according to the levels of temperature and illuminance.

Factor	Degrees of freedom	<i>p</i>
Illuminance	1	0.20
Temperature	2	0.19
Temperature/Illuminance	2	0.01

Table 2. Germinating tetrasporophyte density (GTD) of *C. chamissoi* per cm^2 on day 36 of culture under controlled conditions.

Illuminance	Temperature	GTD cm^{-2}
1200	18	74.66 ± 45.52
	20	57.00 ± 37.64
	22	209.33 ± 24.58
2200	18	137.00 ± 50.69
	20	193.00 ± 21.07
	22	147.33 ± 1.15

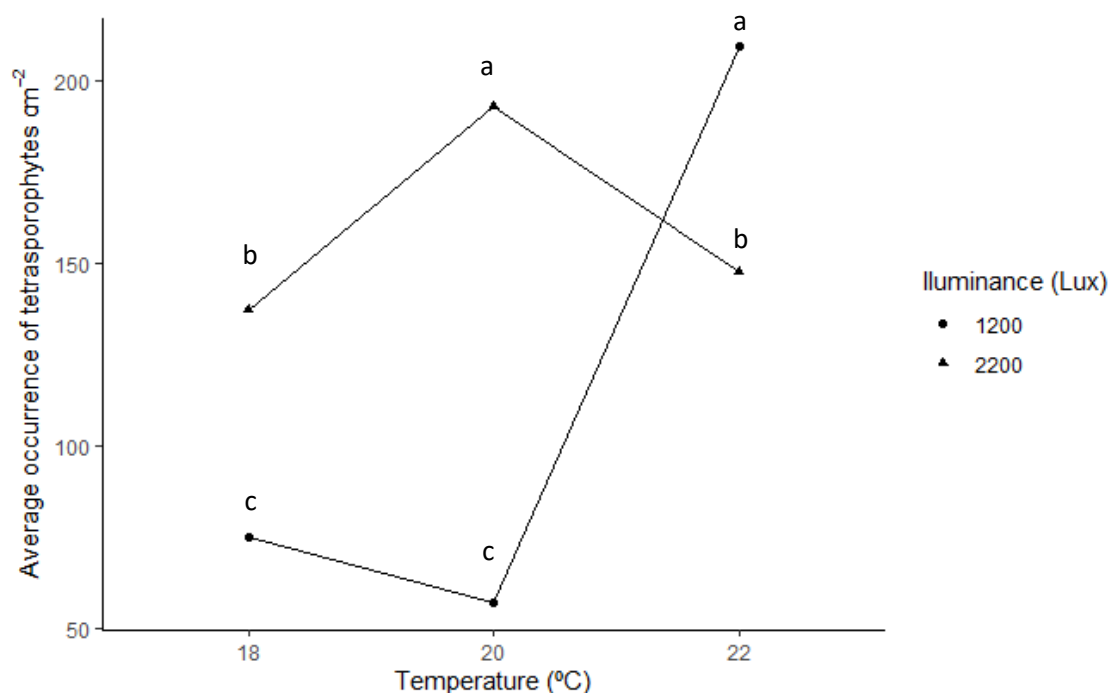


Figure 1. Average tetrasporophytes settled at the end of the experimental period according to the illuminance and temperature levels (interaction graph).

3.3 Growth of germinating tetrasporophytes

Illuminance exerts a significant effect on the growth of microthalli (Table 3). On the other hand, as shown in Table 4, the longest microthalli lengths were obtained at 2200 lux and the highest SGR values. It should be noted that, at this illuminance, unlike 1200 lux, there was a greater amount of epiphytes (Fig. 3), which indicates a preference of these over a high light intensity.

Table 3. Significance of the Scherirer-Ray-Hare (SRH) nonparametric test of the growth of germinating tetrasporophytes according to the levels of temperature and illuminance.

Factor	Degrees of freedom	p
Illuminance	1	0.00
Temperature	2	0.50
Temperature/Illuminance	2	0.26

Table 4. Grouping of the pairwise comparison test by average length and specific growth rate (SGR) of germinating tetrasporophytes according to the levels of and illuminance and temperature, different letters indicate significant differences.

Illuminance (Lux)	Temperature (°C)	Length (µm)	SGR (%)
2200	18	396.69 ^a	8.271
2200	22	356.60 ^a	8.187
2200	20	336.32 ^{ab}	8.069
1200	22	292.82 ^{bc}	7.661
1200	20	251.49 ^{cd}	7.230
1200	18	235.56 ^d	7.140

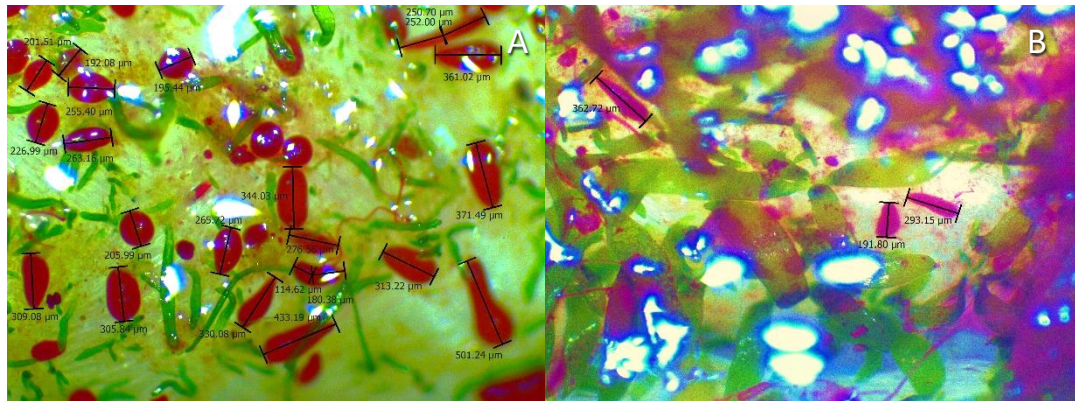


Figure 2. Germinating tetrasporophyte of 43 days of development corresponding to the treatment treatments 1200 lux/22°C (A) and 2200 lux /20°C(B).

4. Discussion

The type of culture method to use with algae is determined based on their reproductive strategies, which vary among species (Braga 1990; Calderón et al. 2011; Avila et al. 2011; Bulboa et al. 2013; Bermejo et al. 2019). Biometric parameter measurements of spores, such as germination rate, survival, and growth clarify the potential use of the macroalga life cycle to cultivate it. (Choi et al. 2006; Bulboa et al. 2010; Pacheco-Ruíz et al. 2011; Rafik 2016; Yeh et al. 2019).

4.1 Settlement

The results show a greater amount of tetrasporophytes found at conditions of 2200 lux with the exception of 1200 lux/22 °C. This last illuminance evidence a decay of the development success of the carpospores (Table 2), influenced by the interaction of the factors (Fig. 1) (Maggs and Callow 2003; Agrawal 2009). Gonzalez and Meneses (1996) determined a better performance in the germination of carpospores in *C. chamissoi* at 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 20 °C in experiments performed in the summer, which agrees with our results, finding in the illuminance of 2200 lux (approx. 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) the greatest amount of germinating tetrasporophytes at 20 °C.

Several factors influence the settlement of carpospores, among which we can indicate the nature of the substrate, biotic interactions, and the presence of bacterial films that alter the physicochemical and topographic properties of the substrate, since they can inhibit or reduce the settlement of carpospores (Table 2) (Hughes et al. 2018; Arbaiza et al. 2019) and the optimal development of the fixation disk, which is essential for the survival of the algae (Pacheco-Ruíz et al. 2005; Aihua et al. 2006). This is how it was observed that various tetrasporophytes could not settle and developed without adhering to the substrate (Fig. 3), so this peculiarity does not affect the growth of the algae, despite not being fixed, as it continues to develop normally; thus, likewise, the presence of primordia ensures future fixation (Barrientos and Otaíza 2014).

However, the lower occurrence of tetrasporophytes at 2200 lux/22 °C (Fig. 1) was mainly due to the competition for space in the substrate with *Ulva* sp. (Fig. 3), as mentioned by Bulboa et al. (2007), that the zooids of this algae and *Enteromorpha* sp. are attached to the thallus of *C. chamissoi* and with greater incidence in gametophytes; as also observed by Castañeda et al. (2018), therefore the contamination vector is mainly found in the preparation of the spore solution.

4.2 Growth of germinating tetrasporophytes

The effect caused by environmental factors on the growth of *C. chamissoi* carpospores has been reported by Bulboa et al. (2010), who determined an SGR of $9.3 \pm 0.2\% \text{ d}^{-1}$ for individuals from the town of Lechagua in spring, where the working conditions were 15 °C and 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. In the present study, the highest SGR value was 8.27%, belonging to the 2200 lux/18 °C treatment (approximately 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). This similarity in high SGR values indicates that the optimal culture conditions for *C. chamissoi* are approximately 15 °C - 20 °C/70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Similarly, with *Chondrus ocellatus*, a species belonging to the same family of *C. chamissoi* (Gigartineae), it was observed that the optimal range of culture conditions follows the same trend between 20 °C to 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Li et al. 2010), agreeing with what was mentioned in the previous paragraph. On the other hand, Orduña-Rojas and Robledo (1999), working with a temperature of 28 °C and 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, determined a growth rate of 5.2% d^{-1} on *Gracilaria cornea* carpospores, which is lower than those determined for *C. chamissoi*.

5. Conclusion

The results show that significant differences were found in the interaction of illuminance and temperature on the settlement, but not separately, being a product of competition for space with green algae whose presence is favored by a greater amount of light. On the other hand, the growth of germinating tetrasporophytes depends directly on the illuminance, with the highest SGR values at 2200 lux.

Acknowledgments

This work was carried out thanks to the state entity Innóvate Perú, the principal executor of the National Plan for Productive Diversification of the Ministry of Production of the Government of Peru, which cofunded the project “Desarrollo de un programa de producción de semilla y cultivo de *Chondracantus chamissoi* “yuyo” en la Bahía de Paracas, Pisco [Development of a program of seed production and cultivation of *Chondracantus chamissoi* “yuyo” in Bahía de Paracas, Pisco]” Call N° 234-INNOVATEPERU-IAPIP-2017. We would also like to thank the scientific technical staff of the Marine Fisheries Research Laboratory - Pisco (LICMA - Universidad Científica del Sur) for their support in completing this study. The authors also thank Felipe Abraham Sáez Rubio for his review, comments and suggestions on the manuscript.

References

- Acleto C (1986) Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). *Rev Cienc UNMSM* 74:33–47
- Agrawal SC (2009) Factors affecting spore germination in algae — review. *Folia Microbiol (Praha)* 54:273–302. doi: 10.1007/s12223-009-0047-0
- Agrawal SC (2012) Factors controlling induction of reproduction in algae-review: The text. *Folia Microbiol (Praha)* 57:387–407. doi: 10.1007/s12223-012-0147-0
- Aihua W, Jicheng W, Delin D (2006) Early development of *Chondrus ocellatus* holm (Gigartineae, Rhodophyta). *Chinese J Oceanol Limnol* 24:129–133. doi: 10.1007/bf02842811
- Alvarez JC, Vodden K (2009) Local ecological knowledge and the impacts of global climatic change on the community of seaweed extractors in Pisco-Perú. En: PICMET '09 - 2009 Portland International Conference on Management of Engineering & Technology. IEEE, pp 1025–1032
- Arbaiza S, Gil-Kadoka P, Arakaki N, Alveal K (2019) Primeros estadios de cultivo a partir de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. *Rev Biol Mar Oceanogr* 54:198-207. doi: 10.22370/rbmo.2019.54.2.1901
- Avila M, Piel MI, Caceres JH, Alveal K (2011) Cultivation of the red alga *Chondracanthus chamissoi*: sexual reproduction and seedling production in culture under controlled conditions. *J Appl Phycol* 23:529–536. doi: 10.1007/s10811-010-9628-1
- Barrientos E, Otaíza RD (2014) Juveniles generados a partir de esporas no asentadas de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) presentan capacidad de adhesión al sustrato. *Rev Biol Mar Oceanogr* 49:135–140. doi: 10.4067/S0718-19572014000100015
- Bermejo R, Macías M, Cara CL, et al (2019) Culture of *Chondracanthus teedei* and *Gracilariopsis longissima* in a traditional salina from southern Spain. *J Appl Phycol* 31:561–573. doi: 10.1007/s10811-018-1516-0

- Braga MR (1990) Reproductive Characteristics of *Gigartina teedii* (Roth) Lamouroux (Rhodophyta, Gigartinales), a Turf-forming Species: Field and Laboratory Culture Studies. *Bot Mar* 33:401–410. doi: 10.1515/botm.1990.33.5.401
- Bulboa C, Macchiavello J, Véliz K, Oliveira EC (2010) Germination rate and sporeling development of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) varies along a latitudinal gradient on the coast of Chile. *Aquat Bot* 92:137–141. doi: 10.1016/j.aquabot.2009.10.016
- Bulboa C, Macchiavello JE, Veliz K, et al (2007) In vitro recruitment of *Ulva* sp. and *Enteromorpha* sp. on gametophytic and tetrasporophytic thalli of four populations of *Chondracanthus chamissoi* from Chile. *J Appl Phycol* 19:247–254. doi: 10.1007/s10811-006-9130-y
- Bulboa C, Véliz K, Sáez F, et al (2013) A new method for cultivation of the carragenophyte and edible red seaweed *Chondracanthus chamissoi* based on secondary attachment disc: Development in outdoor tanks. *Aquaculture* 410–411:86–94. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.06.018
- Bulboa CR, Macchiavello JE (2001) The Effects of Light and Temperature on Different Phases of the Life Cycle in the Carrageenan Producing Alga *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Bot Mar* 44:371–374. doi: 10.1515/BOT.2001.047
- Calderón M, Ramírez ME, Bustamante D (2011) Notas sobre tres especies de Gigartinaceae (Rhodophyta) del litoral peruano. *Rev Peru Biol* 17:115–121. doi: 10.15381/rpb.v17i1.59
- Castañeda M, Arbaiza S, Diaz F, et al (2018) Evaluación del fotoperiodo en el asentamiento de tetraesporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polipropileno en condiciones semi-controladas de laboratorio. *An Científicos* 79:459. doi: 10.21704/ac.v79i2.1256
- Choi HG, Kim YS, Kim JH, et al (2006) Effects of temperature and salinity on the growth of *Gracilaria verrucosa* and *G. chorda*, with the Potential for mariculture in Korea. *J Appl Phycol* 18:269–277. doi: 10.1007/s10811-006-9033-y
- Fletcher RL, Callow ME (1992) The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *Br Phycol J* 27:303–329. doi: http://dx.doi.org/10.1080/00071619200650281
- Flores D, Zavala J, Donayre S, et al (2015) Evaluación poblacional de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh, 1820) en las bahías de Pisco y Paracas, otoño 2010. *Inst del Mar del Perú* 42:504–509
- Gonzalez J, Meneses I (1996) Differences in the early stages of development of gametophytes and tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C.Ag.) Kützing from Puerto Aldea, northern Chile. *Aquaculture* 143:91–107. doi: 10.1016/0044-8486(95)01203-6
- Hayashi L, Bulboa C, Kradolfer P, et al (2013) Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *J Appl Phycol* 26:719–727. doi: 10.1007/s10811-013-0143-z
- Hughes MH, Michetti KM, Leonardi PI (2018) Spore release and germling development on different substrates in the carrageenophyte *Sarcothalia crispata* from the southwestern Atlantic coast. *J Appl Phycol* 31:1285–1295. doi: 10.1007/s10811-018-1643-7
- Kawachi M, Noël M-H (2005) Sterilization and sterile technique. Algal culturing techniques. En: Andersen R (ed) *Algal culturing techniques*. pp 65–81
- Li X, Zhao P, Wang G, et al (2010) Effects of temperature and irradiance on early development of *Chondrus ocellatus* Holm (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Chinese J Oceanol Limnol* 28:508–513. doi: 10.1007/s00343-010-9043-0
- Love R (2018) Optimisation of the culture of the red alga *Chondracanthus teedei*. Effects of irradiance, temperature, salinity and nutrient enrichment. (Undergraduate Thesis). Universidad de Cádiz, Puerto Real, España.
- Maggs CA, Callow ME (2003) Algal Spores. *Encycl Life Sci* 1–6. doi: 10.1038/npg.els.0000311

- Miranda G, Yokoya NS, Fujii MT (2012) Effects of temperature, salinity and irradiance on carposporeling development of *Hidropuntia caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Rev Bras Farmacogn* 22:818–824. doi: 10.1590/S0102-695X2012005000079
- Orduña-Rojas J, Robledo D (1999) Effects of Irradiance and Temperature on the Release and Growth of Carpospores from *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta). *Bot Mar* 42:315–319. doi: 10.1515/BOT.1999.035
- Pacheco-Ruíz I, Cabello-Pasini A, Zertuche-González JA, et al (2011) Carpospore and tetraspore release and survival in *Chondracanthus squarrulosus* (Rhodophyta: Gigartinales) from the Gulf of California. *Bot Mar* 54:127–134. doi: 10.1515/bot.2011.019
- Pacheco-Ruiz I, García-Esquivel Z, Aguilar-Rosas LE (1989) Spore discharge in the carragenophyte *Gigartina canaliculata* Harvey (Rhodophyta, Gigartinales). *J Exp Mar Bio Ecol* 126:293–299. doi: 10.1016/0022-0981(89)90194-9
- Pacheco-Ruíz I, Zertuche-González JA, Espinoza-Avalos J (2005) The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarrulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 44:629–631. doi: 10.2216/0031-8884(2005)44[629:TROSAD]2.0.CO;2
- PRODUCE (2018) Anuario estadístico pesquero y acuícola. OGEIEE- Oficina de Estudios Económicos. Lima, Perú. 198 pp.
- Rafik B (2016) Influence of irradiance and salinity on the growth of carposporelings and juvenile tetrasporophytes in *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) M. Steentoft, L.M. Irvine & W.F. Farnham (Rhodophyta; Rhodophyceae; Gracilariales) and agar yield. *Bull Inst Natn Scien Tech Mer Salammbô* 43:
- Rebours C, Marinho-Soriano E, Zertuche-González JA, et al (2014) Seaweeds: an opportunity for wealth and sustainable livelihood for coastal communities. *J Appl Phycol* 26:1939–1951. doi: 10.1007/s10811-014-0304-8
- Riofrío O (2003) Efecto de la variabilidad térmica sobre la biología vegetativa y reproductiva de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützinger (Rhodophyta) en la bahía de Ancón, Perú. (Undergraduate Thesis). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
- Salas N, Córdova C, Lengua L, et al (2008) Obtención de κ -Carragenano y λ -Carragenano a partir de macroalga *Chondracanthus chamissoi* y su aplicación en la industria alimentaria. *Rev Peru Química e Ing Química* 11:61–70
- Scheirer J, Ray W, Hare N (1976) The Analysis of Ranked Data Derived from Completely Randomized Factorial Designs. *Biometrics* 32:429–434
- Tarazona J, Indacochea A, Valle S, et al (1999) Impacto de “el niño 1997-98” sobre el ecosistema marino somero de la costa central del Perú. *Rev Peru Biol* 6:18–31. doi: 10.15381/rpb.v6i3.8427
- Vásquez JA, Vega JM (2001) *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: Ecological aspects for management of wild populations. *J Appl Phycol* 13:267–277. doi: 10.1023/A:1011152922832
- Yang MY, Macaya EC, Kim MS (2015) Molecular evidence for verifying the distribution of *Chondracanthus chamissoi* and *C. teedei* (Gigartinales, Rhodophyta). *Bot Mar* 58:103–113. doi: 10.1515/bot-2015-0011
- Yeh H, Lee M, Libatique MJH, Liao Z-H (2019) The effects of seawater temperature and irradiance on the sexual reproduction of *Sargassum ilicifolium* (Sargassaceae, Phaeophyta). *J Appl Phycol* 1–10. doi: 10.1007/s10811-019-01919-1
- Yu C-H, Lim P-E, Phang S-M (2013) Effects of irradiance and salinity on the growth of carpospore-derived tetrasporophytes of *Gracilaria edulis* and *Gracilaria tenuistipitata* var *liui* (Rhodophyta). *J Appl Phycol* 25:787–794. doi: 10.1007/s10811-012-9960-8

Zhao F, Zhao Z, Liu J (2014) Effects of temperature on the early development of carpospores of *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Gigartinales, Rhodophyta). Arch Hydrobiol Suppl Algal Stud 145:181–193. doi: 10.1127/1864-1318/2014/0192