



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y
BIOLÓGICAS

CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA

“Evaluación del crecimiento de esporofitos de *Chondracanthus
chamissoi* procedente de un cultivo a partir de carpósporas bajo
distintas concentraciones de un fertilizante agrícola en condiciones
de laboratorio”

Tesis para optar el título profesional de:

BIOLOGA MARINA

Presentado por:

Maria Lourdes Avalos Vásquez (0000-0002-3991-8906)

Asesor:

Paul Martin Baltazar Guerrero (0000-0003-4071-4772)

Lima – Perú

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 1 de octubre de 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dr. HÉCTOR ALONSO APONTE UBILLÚS
Miembro: Biol. MARIE ANNE GALVEZ ESCUDERO
Miembro: Biol. SELMA HEINI SANTOME SÁNCHEZ

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

“EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE ESPOROFITOS DE *Chondracanthus chamissoi* PROCEDENTE DE UN CULTIVO A PARTIR DE CARPÓSPORAS BAJO DISTINTAS CONCENTRACIONES DE UN FERTILIZANTE AGRÍCOLA EN CONDICIONES DE LABORATORIO”

Presentada por la/el estudiante/bachiller:

- **María Lourdes Avalos Vásquez**

Para optar el Título Profesional de Bióloga Marina

Asesorada por: Biol. Paul Martin Baltazar Guerrero

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

Tesista: María Lourdes Avalos Vásquez	Nota (en letras): 18 (dieciocho)		
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Dr. HÉCTOR ALONSO APONTE UBILLÚS
Presidente



Biol. MARIE ANNE GALVEZ ESCUDERO
Miembro 1



BIOL. PAUL MARTIN BALTAZAR GUERRERO
Asesor



Biol. SELMA HEINI SANTOME SÁNCHEZ
Miembro 2

Agradecimientos

Esta tesis la dedico con mucho cariño a mi madre, a quien le agradezco por el amor y apoyo incondicional desde siempre; a mi padre, que, a pesar de que ya no se encuentra conmigo desde hace 6 años, me puso en el camino para llegar a ser una buena profesional; a toda mi familia y amigos por el constante apoyo y consejos a lo largo de este camino.

A los miembros del Laboratorio de Investigación de Cultivos Marinos (LICMA), a mi asesor e investigadores por los consejos, recomendaciones y apoyo durante el proceso de la tesis y la sustentación.

Por último, quiero agradecer todos los comentarios y correcciones a lo largo de este proceso, porque me impulsaron a hacer este trabajo lo mejor posible.

Resumen

Chondracanthus chamissoi es un alga roja cuyo valor comercial ha incrementado en los últimos años, al igual que su explotación. Debido a esto, es importante promover su cultivo como alternativa a la extracción de praderas naturales. Por ello es necesario buscar alternativas que reduzcan los costos y faciliten el cultivo.

Con respecto al suministro de nutrientes, las sales inorgánicas de grado analítico han sido comúnmente empleadas en el cultivo; sin embargo, se ha probado que algunos fertilizantes agrícolas pueden ser igualmente eficientes y resultan económicamente rentables para el cultivo de algas en laboratorio. Por este motivo, la finalidad de este estudio fue evaluar el crecimiento de *C. chamissoi* con distintas concentraciones de un fertilizante agrícola (Bayfolan®) como fuente de nutrientes. Las concentraciones evaluadas fueron: 0.025 ml L⁻¹, 0.05 ml L⁻¹, 0.01 mL L⁻¹, 0.2 mL L⁻¹, 0.4 mL L⁻¹ y un control (sin adición de nutrientes). Se obtuvieron diferencias significativas en la tasa de crecimiento de los microtalos ($p < 0.05$), en donde se observó el mayor crecimiento en la concentración de 0.2 mL L⁻¹ con una tasa de crecimiento igual a 7.48 % día⁻¹; por el contrario, se obtuvo un crecimiento incipiente y alta mortalidad en el control y en la concentración 0.4 mL L⁻¹. Estos resultados sugieren que este fertilizante agrícola es una buena fuente de nutrientes en estadios tempranos de *C. chamissoi*; sin embargo, altas concentraciones pueden inhibir su crecimiento.

Palabras clave: Carposporas, microtalos, *C. chamissoi*, crecimiento, fertilizante agrícola.

Abstract

Chondracanthus chamissoi is a red alga whose commercial value has increased in recent years, as has its exploitation. In consequence, it is important promote its cultivation as an alternative to the extraction of its natural habitat. Therefore, it is necessary to look for alternatives that reduce costs and facilitate cultivation. Regarding the supply of nutrients, it has been proven that some agricultural fertilizers can be equally efficient as analytical grade inorganic salts; moreover, they are profitable for algae cultivation in laboratory. Therefore, the purpose of this study was to evaluate growth of *C. chamissoi* with different concentrations of an agricultural fertilizer (Bayfolan®) as a source of nutrients. The concentrations evaluated were 0.025 ml L⁻¹, 0.05 ml L⁻¹, 0.01 mL L⁻¹, 0.2 mL L⁻¹ y 0.4 mL L⁻¹, and a control (seawater without added nutrients). Significant differences were obtained in the growth rate of microthallus ($p < 0.05$), where the highest growth was observed at the concentration of 0.2 mL L⁻¹ with a growth rate of 7.48 % dia⁻¹; in contrast, incipient growth and high mortality were obtained in the control and at the concentration of 0.4 mL L⁻¹. These results suggest that this agricultural fertilizer is a good source of nutrients in early stages of *C. chamissoi*; however, high concentrations can inhibit its growth.

Key words: Carpospores, microthallus, *C. chamissoi*; growth, agricultural fertilizer.

Evaluation of the growth of sporophytes of *Chondracanthus chamissoi* from a culture of carpospores under different concentrations of agricultural fertilizer and under laboratory conditions

María-Lourdes Avalos¹, Paul Baltazar Guerrero^{1,2*}, Max Castañeda Franco², Samuel Arbaiza Quispe²
 *pbaltazar@cientifica.edu.pe

ORCID María-Lourdes Avalos: [0000-0002-3991-8906](https://orcid.org/0000-0002-3991-8906)

ORCID Paul Baltazar: [0000-0003-4071-4772](https://orcid.org/0000-0003-4071-4772)

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

² Laboratory of Marine Culture Research (Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos - LICMA), General Directorate of Research, Development and Innovation.

ABSTRACT

Chondracanthus chamissoi is a red algae whose commercial value, as well as exploitation, has increased in recent years. Therefore, it is important to promote its cultivation as an alternative to extraction from natural prairies and necessary to seek alternatives that reduce costs and facilitate cultivation. With respect to nutrient supply, analytical grade inorganic salts have been commonly used in cultivation; however, it has been proven that some agricultural fertilizers can be equally efficient and are economically profitable for the cultivation of algae in the laboratory. For this reason, the purpose of this study was to evaluate the growth of *C. chamissoi* with different concentrations of an agricultural fertilizer (Bayfolan[®]) as a source of nutrients. The concentrations evaluated were 0.025 ml L⁻¹, 0.05 ml L⁻¹, 0.01 ml L⁻¹, 0.2 ml L⁻¹, 0.4 ml L⁻¹ and a control (without the addition of nutrients). Significant differences were observed for the growth rate of microthalli ($p < 0.05$), for which the greatest growth was observed at a concentration of 0.2 mL L⁻¹ with a growth rate equal to 7.48% day⁻¹; in contrast, incipient growth and high mortality were observed for the control and at a concentration of 0.4 mL L⁻¹. These results suggest that this agricultural fertilizer is a good source of nutrients in the early stages of *C. chamissoi* growth; however, high concentrations can inhibit its growth.

Keywords: Carpospores, microthalli, *C. chamissoi*, growth, agricultural fertilizer.

Introduction

Chondracanthus chamissoi, commonly known as “yuyo” in Peru, is an algae belonging to the family Gigartinales (Acleto 1986) which is distributed along the coasts of Peru and Chile (Hoffmann and Santelices 1997; Calderón et al. 2010) and reported in Korea, Japan and France (Yang et al. 2015). The commercial value of this species is based both on the high demand for direct human consumption and on its use as a raw material for the production of phycocolloids such as carrageenan (Acleto 1986; Bulboa et al. 2005, 2008; Arbaiza et al. 2019). However, due to this growing demand, the natural populations of this algae have begun to be overexploited; therefore, cultivation is an important alternative to maintain the productivity of this resource (Icochea 2008; Pariona and Gil-Kodaka 2011).

With the aim of satisfying the demand of different industries, different studies have been carried out focused on the viability of the cultivation of *C. chamissoi*. Some of these studies have focused on topics such as reproduction (Gonzalez and Meneses 1996; Vásquez and Alonso Vega 2001; Macchiavello A. et al. 2003; Bulboa 2006), production and cultivation (Bulboa 2006; Bulboa and Macchiavello 2006; Macchiavello et al. 2012; Cahui 2018), growth (Bulboa and Macchiavello 2001; Colque 2017; Castañeda et al. 2018; Arbaiza et al. 2019), strain selection (Bulboa et al. 2007, 2008), alternative strategies for vegetative propagation (Macchiavello A. et al. 2003; Fonck et al. 2008; Sáez et al. 2008; Bulboa et al. 2013) and repopulation (Sáez and Macchiavello 2018). Regarding culture from spores, several studies indicate that it can be an effective method due to the high productivity generated (Alveal et al. 1991; Arbaiza et al. 2019). In addition, a large number of reproductive organisms is not necessary and it has the advantage of being a crop with high genetic variability (Bulboa et al. 2019).

During the initial stage of this cultivation method, adequate conditions must be maintained to ensure efficient initial growth (Werlinger et al., 2008), which can last from 2 to 5 months (Bulboa et al. 2019). Among the main factors affecting the cultivation of *C. chamissoi* is the adequate availability of nutrients (Bulboa 2006; Barsanti and Gualtieri 2014), which are fundamental for the growth of this algae in the laboratory, since its constant addition is required until adequate development is reached to be planted in the sea (Werlinger et al. 2008). Algae require a wide variety of nutrients to grow, with nitrogen and phosphorus being the most important, since they limit the algae's growth and development (Harrison and Hurd 2001). In a closed culture system, the addition of these nutrients is needed, especially in critical stages, where the fixation structures are formed (Colque 2017).

However, the addition of nutrients using analytical grade inorganic salts for the preparation of culture media can generate high costs during the laboratory culture stage (Pacheco-Ruiz et al. 2004). It should be noted that the reduction of costs in this type of cultivation is important to make this practice sustainable, especially so that it can become an attractive business for artisanal fishing communities that extract this resource and do not have a very high budget (Macaya 2001). As a consequence, studies have been conducted to test the efficiency of fertilizers as an alternative source of nutrients for the cultivation of different algae (Waite and Mitchell 1972; Gonzalez-Rodriguez and Maestrini 1984; Ogawa and Fujita 1997; Valenzuela-Espinoza et al. 2005; Piña et al. 2011), including red algae (Rui et al. 1990; Pacheco-Ruiz et al. 2004; Werlinger et al. 2008; Ávila et al. 2014; Arbaiza et al. 2019).

Among the fertilizers that have been used is Bayfolan® which has obtained effective results at a concentration of 0.1 mL L⁻¹ in the culture from tetraspores of *Gigartina skottsbergii* (Mansilla et al. 2008) and the vegetative culture of *C. chamissoi* (Colque 2017). However, not all algae have the same nutritional requirements because this group has heterogeneity that hinders generalization (Lobban and Harrison 1994). Likewise, nutrient absorption is affected by physiological and biological factors, tissue type, stage of life history, age, surface/volume ratio of thallus and morphology (Harrison and Hurd 2001).

Therefore, the objective of this work is to evaluate the growth of *C. chamissoi* sporophytes from a culture of carpospores under different concentrations of an agricultural fertilizer (Bayfolan®) under laboratory conditions.

Materials and methods

Sample collection and cleaning

C. chamissoi fronds were collected in April 2019 by authorized collectors of the Cooperative of Artisanal Seaweed Algae Workers (Cooperativa de Trabajadores Pesqueros Artesanales Algas Marinas - COTRAPALMAR) of the subtidal zone of Mendieta Beach (Pisco). The biological material was transported in insulated thermal containers (coolers) to the Laboratory of Research in Marine Cultures (Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos - LICMA) of Universidad Científica del Sur, located in the district of San Andrés, Pisco. Once in the laboratory, cystocarpic individuals were selected and subjected to a cleaning process to eliminate epibionts. This consisted of a washing sequence with a solution of fresh water and sodium hypochlorite (1 mL L⁻¹), followed finally by a rinse in seawater to remove any trace of fresh water. Subsequently, manual cleaning was performed to remove the impurities and epibionts that remained on the algae.

Obtaining the carpospore solution

To induce the release of carpospores, the fronds of *C. chamissoi* were subjected to desiccation stress (salinity variation). For this, the seaweed was placed in mesh cloths, leaving it to drain and under shade for a period of 5 hours. At the end of this time, the biological material was divided into 10 groups of 100 grams and placed in flasks with 1 liter of seawater with abundant aeration for 2 hours for the release of carpospores. At the end time, the spore count was performed with a Sedgewick Rafter Counting Chambers, obtaining a density of 19×10^6 spores. L⁻¹. It should be noted that all the seawater used in this experiment was sterilized with sodium hypochlorite according to the methodology indicated by Andersen (2005) and filtered at 1 μm.

Inoculation and settlement of carpospores

Once the carpospore solution was obtained, 300 mL of this solution was placed in 1-liter propylene containers to which 500 mL of seawater and racks -as fixing substrate- (42 cm²) had been previously added. These racks contained white nylon ropes 0.2 cm in diameter. During the first 36 hours, no aeration or light was added to ensure the settlement process, and then the total water exchange of each experimental unit was carried out without adding nutrients during the first week (Macaya 2001). After this period, the settlement of the carpospores was evaluated, and it was statistically verified by ANOVA ($p > 0.05$) that there were no differences between the 24 installed experimental units, obtaining an average of 455 ± 69 spores.cm⁻² in the systems installed.

Experimental Design

Five concentrations of the Bayfolan® Liquid Foliar Nutrient 11-8-6 (N-P-K) fertilizer and a control (without fertilizer) with 4 replicates each were evaluated (Table 1). The chemical composition of Bayfolan® is found in Appendix 1. After adding the fertilizer, the experimental units were covered with stretch film and randomly located to avoid the influence of factors outside the system, such as temperature and light. The culture lasted 8 weeks (56 days), 100% water exchanges were performed weekly, and the physicochemical parameters of each experimental unit were maintained under constant conditions throughout the experiment (Table 2).

Table 1. Bayfolan® concentration by treatment

Treatment	Concentration of Bayfolan®
C	0 mL L ⁻¹
T1	0.025 mL L ⁻¹
T2	0.05 mL L ⁻¹
T3	0.1 mL L ⁻¹
T4	0.2 mL L ⁻¹
T5	0.4 mL L ⁻¹

Table 2. Culture conditions of the treatments during the 8 weeks of the experiment (average ± standard deviation).

Conditions	Values
Temperature (°C)	18.28 ± 1.3
Salinity (ups)	35.59 ± 0.82
pH	7.94 ± 0.2
Light source	Artificial
Illuminance (LUX)	1100 ± 100
Photoperiod (Light: Dark)	12:12 (L:O)

Evaluation of growth and survival

Growth and survival evaluations were performed weekly. In the case of survival, this was measured based on the number of microthalli, for which 5 counts were made on the rack of each experimental unit with the help of a square frame of 0.25 cm² (Macaya 2001; Arbaiza et al. 2019). Subsequently, growth was evaluated with the analysis of the photographs of a total of 20 individuals per experimental unit. It should be noted that in the second week, the number of individuals measured depended on how many had visible longitudinal growth; the same occurred in the control, where the number of individuals measured was lower than in the other treatments. To perform the growth measurement, the Leica LAS EZ 3.4.0 program was used to process the photos taken from the Leica EZ4 E stereoscope.

With the data obtained on the number of microthalli of each experimental unit, the density (number of microthalli/cm²) was obtained (Macaya 2001). Next, the initial density was taken as 100% survival of each experimental unit, and from there, the subsequent densities were converted to a percentage. On the other hand, with the microthalli measurements, the specific growth rate (% day⁻¹) could be obtained, for which the following formula used by Bulboa (2006) was used:

$$SGR (\% \text{ day}^{-1}) = \frac{\ln(fL) - \ln(iL)}{t} \times 100$$

The SGR (specific growth rate) was determined for the development of microthalli, where iL is the initial length in the second week, fL is the final length in the eighth week and t is the time elapsed in days.

Statistical Analysis

The data were compiled in the Excel program and then processed in the RStudio program. To determine if there was a normal distribution and homogeneity of variances, the Shapiro-Wilk and Bartlett tests were used, respectively. In the case of the growth rate of the microthalli length, when the above was met, an analysis of variance (ANOVA) was performed to determine if there were significant differences in the treatments (concentrations) ($p < 0.05$), and the Tukey test ($p < 0.05$) was used to determine between which treatments there were differences. On the other hand, for the weekly evaluation of microthalli and the percentage of final survival, when not presenting a normal distribution, the nonparametric Kruskal-Wallis test was performed ($p < 0.05$), and finally, the comparison between treatments was performed with the Mann-Whitney test.

Results

Microthalli length

In the second week, all treatments had a similar length, with the control having the shortest length ($34.56 \mu\text{m}$, $p < 0.05$). For the fourth week, in the control, it was observed that the microthalli stopped growing ($50.5 \mu\text{m}$), reaching a final length of $57.1 \mu\text{m}$ (Fig. 2a), obtaining the lowest growth rate ($1.22 \pm 0.45 \text{ day}^{-1}$, $p < 0.05$). On the other hand, it was observed that treatments T1 (0.025 mL L^{-1}) to T4 (0.2 mL L^{-1}) showed even growth until the sixth week, where T3 (0.1 mL L^{-1}) and T4 showed greater growth ($p < 0.05$). In contrast, T5 (0.4 mL L^{-1}) showed slower and shorter growth than the previous treatments. Finally, T4 had the greatest length ($1267.02 \mu\text{m}$) and growth rate ($7.48\% \text{ day}^{-1}$, $p < 0.05$). In addition, it was observed that between T3 and T2 (0.05 mL L^{-1}), no differences were observed in the SGR obtained (6.23 and $5.44\% \text{ day}^{-1}$, respectively) or between T2 and T1 ($4.79\% \text{ day}^{-1}$). However, they did show significant differences in the final length (T3 = $649.09 \mu\text{m}$, T2 = $492.01 \mu\text{m}$, T1 = $377.28 \mu\text{m}$; $p < 0.05$); finally, T5 had a final length of $150.79 \mu\text{m}$ and an SGR of $2.61\% \text{ day}^{-1}$, which were the lowest values obtained after the control ($p < 0.05$). It should be noted that the growth of *Ulva* sp. and diatoms was observed in all treatments (Fig. 2). These results can be seen in Fig. 1, Fig. 2 and Table 3.

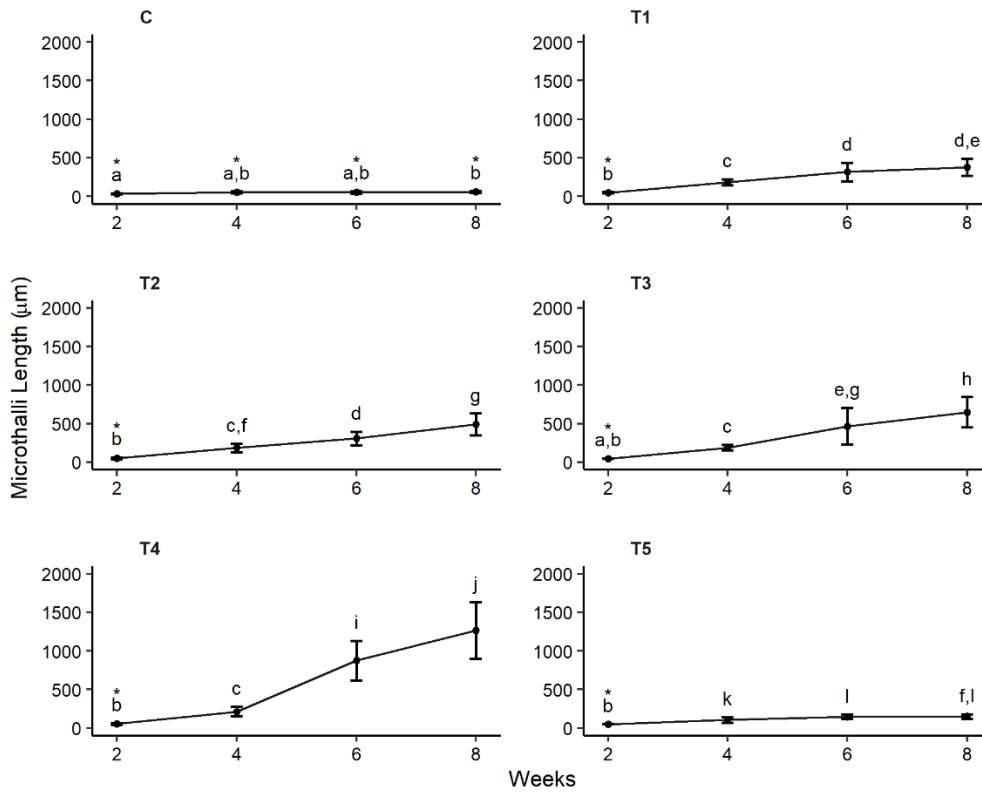


Fig. 1 Evolution of microthalli length (μm) over 8 weeks (56 days) under different concentrations of Bayfolan[®]. The data are presented as the average and standard deviation of 80 individuals (n). The symbol * represents the treatments that had an n less than 22 ($n < 22$). The letters a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l represent the significant differences between treatments according to the Mann-Whitney test.

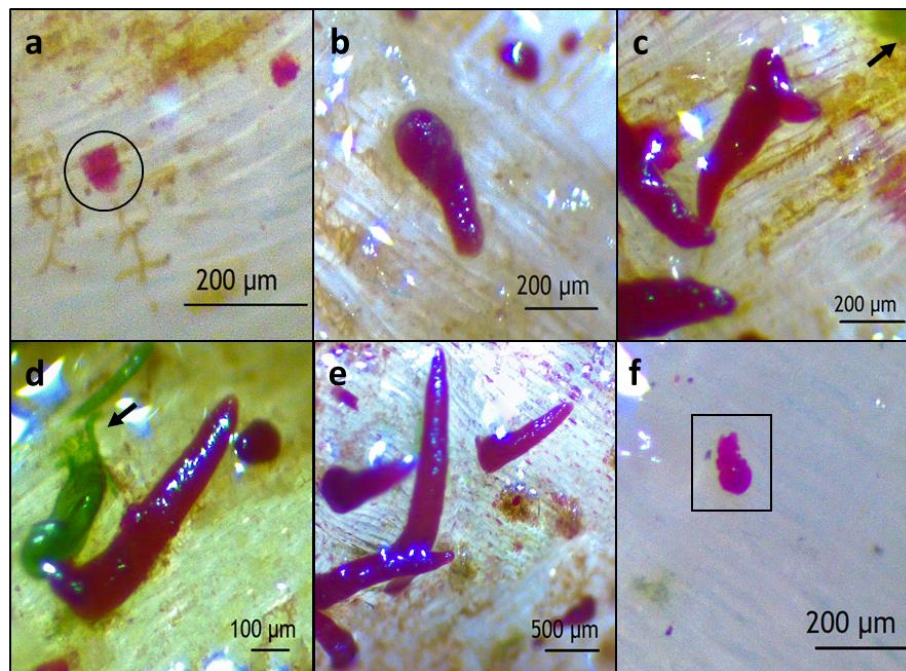


Fig. 2 Final length reached in week 8 (56 days) of microthalli in treatments **a)** Control, where discoloration is shown (circle); **b)** T1 (0.025 mL L^{-1}); **c)** T2 (0.05 mL L^{-1}) and **d)** T3 (0.1 mL L^{-1}), where the presence of *Ulva* sp. (arrow); **e)** T4 (0.2 mL L^{-1}); and finally, **f)** T5 (0.4 mL L^{-1}), where necrosis is shown (square), can be seen.

Survival

In the second week, a decrease in the number of individuals in all treatments was observed, with T5 having the lowest percentage in this measurement (Fig. 3). In the following weeks, a slight decrease in microthalli was observed in treatments T1, T2, T3 and T4; on the other hand, in the control, survival in the third week drastically decreased; in addition, the presence of discoloration and necrosis in the microthalli was observed (Fig. 2a). Similarly, in T5, the presence of microthalli decreased progressively, and necrosis was observed in the microthalli (Fig. 2f). The control and T5 treatments had the lowest survival, reaching final percentages of 1.25% (6 ± 5 microthalli cm^{-2}) and 7.63% (35 ± 6 microthalli cm^{-2}), respectively ($p < 0.05$, Table 3). Likewise, survival was similar between treatments T1 (17.81%), T2 (23.02%), T3 (26.36%) and T4 (27.97%) ($p > 0.05$, Table 3).

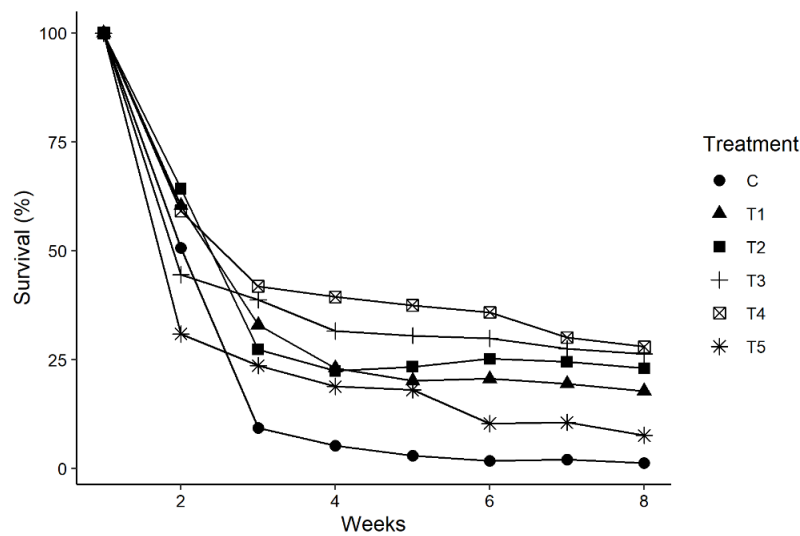


Fig. 3 Variation in survival (%) of *C. chamissoi* microthalli according to the different treatments throughout an 8-week (56-day) culture.

Table 3. Specific growth rate of the length and percentage of final survival of microthalli of *C. chamissoi* between the different treatments

Treatment	Specific growth rate (% day ⁻¹)	Percentage of final survival (microthalli cm^{-2})
C	1.22 ± 0.45 ^a	1.25 ± 0.86% ^a (6 ± 5)
T1	4.79 ± 0.76 ^b	17.81 ± 11.6% ^{b, c} (71 ± 36)
T2	5.44 ± 0.61 ^{b, c}	23.02 ± 0.83% ^c (110 ± 6)
T3	6.23 ± 0.37 ^c	26.36 ± 7.47% ^c (111 ± 25)
T4	7.48 ± 0.95 ^d	27.97 ± 5.48% ^c (124 ± 25)
T5	2.61 ± 0.23 ^e	7.63 ± 1.43% ^b (35 ± 6)

^{a, b, c, d} Represent the significant differences between treatments according to the Tukey (specific growth rate) and Mann-Whitney (final survival percentage) tests.

Discussion

Analytical grade inorganic salts are used to enrich seawater and in the formulation of media such as Provasoli and von Stosch (Stein 1979). These formulations have been evaluated and tested in different algae, generating a suitable medium for their cultivation. However, it has been shown that agricultural fertilizers can be equally effective as analytical grade salts in red algae cultivation work, such as *Chondracanthus squarulosus* (Pacheco-Ruíz et al. 2004) and *Gigartina skottsbergii* (Mansilla et al. 2008). However, in some cases, the fertilizer used can be more effective, as in the work by Colque (2017), where it was found that Bayfolan[®] was more effective in the growth of the vegetative culture of *C. chamissoi* than Guillard (f/2). While Bayfolan 11-8-6 (N-P-K) is used for the growth of terrestrial plants, it contains macro- and micronutrients that make it an effective medium for the growth of algae (Appendix 1). Among these nutrients, those that are in greater proportion are nitrogen and phosphorus, which are nutrients that limit the growth of algae and that after being absorbed are incorporated as amino acids and proteins, among other functions (DeBoer 1981; Lobban and Harrison 1994).

As observed above, not adding an additional source of nutrients (control) caused a growth deficit from the third week and low survival. This also occurred in the culture from tetraspores of *Gigartina skottsbergii* (Mansilla et al., 2008), where it was observed that the control (without addition of nutrients) had one of the lowest growth rates compared to the other agricultural fertilizers, including Bayfolan[®]. On the other hand, in the present study, discoloration and necrosis were observed in the thalli, which is similar to what happened in the study by Colque (2017), where in the control (without addition of nutrients) discolorations were observed in the thallus of *C. chamissoi* and its subsequent detachment; likewise, Pacheco-Ruíz et al. (2004) indicated that, in the cultivation of *C. squarulosus*, not adding nutrients caused the thallus to turn yellow and fragment. All these studies have in common that they were closed crops with weekly replacements, which could mean that seawater under these conditions does not meet the nutritional requirements of algae, unlike the natural environment.

The treatment with the greatest growth of carpospores was T4, with a concentration of 0.2 mL L⁻¹ Bayfolan[®] (7.48 ± 0.95% day⁻¹). This differs from what was found by Colque (2017), who obtained that this concentration of Bayfolan[®] had a lower growth than the 0.1 mL L⁻¹ concentration in the vegetative culture of *C. chamissoi*. However, in the present study, the 0.1 mL L⁻¹ (T3) concentration had the second highest growth rate (6.23 ± 0.37% day⁻¹). This difference between the work by Colque (2017) and the present study may be because different stages of development of *C. chamissoi* were evaluated, where the germinations require a greater absorption of nitrogen compared to fronds already developed, since these have storage tissue that does not actively absorb nitrogen (Thomas et al. 1985). In addition, Lobban and Harrison (1994) mention that the germination tissue, being metabolically active, requires both nitrate and ammonium, so both ammoniacal and nitric nitrogen contained in Bayfolan[®] would be used. This high nitrogen requirement by the germinations explains the differences found between the T4 and the T3, T2 and T1 treatments in terms of growth, where it was observed that as the concentration of the fertilizer decreases according to the treatment, the lower the growth of the microthalli is (T4 > T3 > T2 > T1).

On the other hand, as in this work, Arbaiza et al. (2019) cultivated *C. chamissoi* from carpospores with fronds from different beaches; in the case of Mendieta Beach, a microthalli final length of 447.6 µm was obtained. This is similar to what was obtained in T2 (492.01 µm); however, it is important to highlight the difference in culture time, while in the work by Arbaiza et al. (2019) the evaluation time was 122 days, in the present work, it was evaluated for 56 days. Although both studies worked with algae from Mendieta Beach, there was a difference in the growth of microthalli, which may be due to the fertilizer used in the work by Arbaiza et al. (2019), called foliar nutrient BestGarden[®], which contains a different concentration of nutrients than Bayfolan[®].

In the case of T5 (0.4 mL L⁻¹), the second lowest microthalli growth rate was obtained (2.93% day⁻¹). Considering that the concentration of nitrogen in Bayfolan[®] is 11 gL⁻¹, it could be that this high concentration caused an inhibition in the growth of sporophytes. This matches what was found by DeBoer

et al. (1978), where the growth rate of *Gracilaria foliifera* did not increase significantly at high nitrogen concentrations, the same occurred with *Neogardhiella baileyi*. The results of this study also agree with those presented by Love (2018) with *Chondracanthus teedei*, where a concentration of 1 mM ammonium was used, resulting in a high concentration of nitrogen in the tissue and a low growth rate, so it was concluded that this concentration of ammonium could be toxic. On the other hand, high concentrations of nitrogen in the medium can also cause low net productivity, as was seen in the case of *Ulva lactuca* (Waite and Mitchell 1972). This high concentration of nitrogen can cause an increase in the concentration of intracellular ammonium, causing the need for a greater availability of carbon skeleton for the assimilation of nitrogen (Turpin 1991). This increase in intracellular ammonium could cause its accumulation in the cytoplasm, causing a decrease in internal pH and harmful damage to cells (Martins and Yokoya 2010).

Among the micronutrients contained in Bayfolan® are copper (Cu) and zinc (Zn). These heavy metals are essential in the activity of many enzymes and are part of molecules that have important functions in the transport of photosynthetic electrons; however, they are also toxic at high concentrations, interacting directly in the thylakoid membrane in the chloroplast (Raven et al. 1999; Szalontai et al. 1999). Based on this, it is possible that in T5, the concentration of these was very high (Annex 1), causing the low growth rate. Regarding this case, several studies show that copper concentrations lower than those presented in T5 would cause growth inhibition in *Pelvetia canaliculata*, *Fucus spiralis*, *F. serratus*, *Laminaria saccharina* and *Macrocystis pyrifera* (Hopkin and Kain 1978; Strömngren 1980; Chung and Brinkhuis 1986; Anderson et al. 1990). Likewise, Cu²⁺, due to its toxic effect on photosynthesis, causes oxidative stress by increasing the production of reactive oxygen species (ROS) (Pinto et al. 2003).

Regarding survival, it is important to mention that in this stage of algal development, there is a high mortality rate (Maggs and Callow 2003). In the cultivation of *C. chamissoi* from carpospores, there are different studies in which low densities of 49 (Arbaiza et al. 2019) and 44 sporophytes per cm² (Bulboa 2006) were obtained; however, the survival presented in this study was higher (T1, T2, T3 and T4) than in these studies. This difference may be due to the type of substrate used, while in these works, the substrate used was polypropylene ropes, in this research, nylon ropes were used, which are porous and allow the entry of carpospores. In this study, in the second week, a great decrease was seen in all treatments, which may be due to the water exchange that was performed in the previous week, causing the detachment of carpospores that were not properly settled. In addition, this could continue to occur in the following weeks because the discs with poor development were not strong enough to support the weight of the sporophytes as they increased in size (Bulboa 2006). Among other factors that can cause the detachment of microthalli are biotic interactions such as competition for the substrate with the diatoms that were also present in this work and could cause poor settlement of the carpospores.

On the other hand, in this experiment, the presence of *Ulva* sp. was observed. During cleaning, the epiphytes of *C. chamissoi* fronds were extracted; however, it is possible that a fragment of *Ulva* sp. could have remained. This contamination may have occurred during sporulation because the cystocarpic individuals were submerged in seawater after the induced stress, which could cause the release of *Ulva* sp. zooids in the spore solution and, later, its settlement in the racks. It is well known that this species of chlorophyte is one of the most common algae species identified as epiphytes (Buschmann and Gómez 1993; Vásquez and Alonso Vega 2001), with the gametophytic phase of *C. chamissoi* showing the greatest recruitment of *Ulva* sp. zooids compared to tetrasporophytes (Bulboa et al. 2007), which may be due to the morphology or roughness of the thallus. Likewise, it was found that the zooids of *U. lactuca* penetrate the cover and external wall of the epidermal cell wall of *Gracilaria* few days after settling and forming a rhizoid. Therefore, when germinations are removed, the adhesion pads remain in the epidermal cell wall, which again leads to the growth of *Ulva* sp. (Dawes et al. 2000).

Contamination by epiphytes in the cultivation of algae causes undesired effects (Fletcher 1995), including competition for nutrients and substrate (Buschmann and Gómez 1993). Therefore, the presence of *Ulva* sp. and diatoms could have an effect on the results presented.

In this experiment, some measures were taken to prevent contamination of the culture in the laboratory, such as a) the selection of cystocarpic individuals with low epibiont load and b) the covering of the experimental units with plastic film. The measures taken reduced the contamination evidenced in other experiments carried out in the Laboratorio de Cultivos Marinos (Laboratory of Marine Cultures) (Rios et al. 2020). However, there are other additional measures to prevent contamination that may be considered for future experiments. In the cultivation of *Gracilaria*, different methods have been used that have been successful in the control of *Ulva* sp. (*Enteromorpha* spp.) (Fletcher 1995) and could be adapted to the cultivation of *Chondracanthus chamissoi*. In the case of physical methods, the manipulation of factors such as irradiance and light quality can reduce contamination by *Ulva* sp. (*Enteromorpha* sp.) (Hansen 1983; Friedlander et al. 1991). Regarding chemical methods, Germanium dioxide (GeO₂) has been used in the cultivation of *C. chamissoi* to avoid the presence of diatoms (Bulboa 2006) due to its inhibitory effect on the settlement of these microalgae (Pérez et al. 2018); on the other hand, in the cultivation of *Gracilaria*, manipulation of the nutrient regime can reduce the epiphyte load by reducing the frequency of addition and providing nutrients at night (Fujita 1985; Fletcher 1995) since the nitrogen absorption rate of *Ulva* sp. (*Enteromorpha* spp.) increases with light (Harlin 1978).

Conclusions

It was possible to demonstrate the effect of nutrient concentration on the growth of microthalli of *C. chamissoi*, where treatment T4 (0.2 mL L⁻¹) was the most effective concentration because it showed greater growth than the other treatments. In addition, treatments T1 (0.025 mL L⁻¹), T2 (0.05 mL L⁻¹), T3 (0.1 mL L⁻¹) and T4 (0.2 mL L⁻¹) had a positive relationship between the concentration of fertilizer and growth. On the other hand, the absence of this source of nutrients in the control resulted in lower survival and growth rates, witnessing degradation and discoloration of individuals. Likewise, treatment T5 (0.4 mL L⁻¹) could have a toxic effect on microthalli by accumulating high concentrations of macro- and micronutrients in the tissue, thus causing one of the lowest growth rates, necrosis in microthalli and low survival. On the other hand, it was found that in treatments T1, T2, T3 and T4, there was no relationship between nutrient concentration and survival, thus determining that there was no effect on this variable. In addition, it must be considered that the contamination of *Ulva* sp. and diatoms could have an effect on growth and survival due to competition for nutrients and space. Finally, it was possible to verify the effectiveness of the use of Bayfolan® fertilizer in the cultivation of *C. chamissoi* from carpospores, demonstrating that, depending on the concentration, it can have good growth and would not affect survival, so it is a good alternative as a source of nutrients. In addition, this commercial fertilizer is widely available, does not require any additional equipment or procedure and is economically accessible.

Acknowledgments

We are very grateful to the Ministry of Production-Peru, which co-funded the project "Desarrollo de un programa de producción de semilla y cultivo de *Chondracanthus chamissoi* "yuyo" en la Bahía de Paracas, Pisco" ("Development of a program of production of seed and cultivation of *Chondracanthus chamissoi* "yuyo" in the Bay of Paracas, Pisco") under Agreement No. 234-INNOVATEPERU -IAPIP-2017. Thank you to Felipe Sáez Rubio for the review and his comments and suggestions regarding the manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Acleto C (1986) Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). *Rev Cienc* 74:38–47
- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Nuñez M (1991) Utilización de esporas para el cultivo de *Gracilaria*
- Andersen RA (2005) *Algal Culturing Techniques*, 1st Edition. Academic Press
- Anderson BS, Hunt JW, Turpen SL, et al (1990) Copper toxicity to microscopic stages of giant kelp *Macrocystis pyrifera*: interpopulation comparisons and temporal variability. *Mar Ecol Prog Ser* 68:147–156. www.jstor.org/stable/44634886
- Arbaiza S, Gil-Kodaka P, Arakaki N, Alveal K (2019) Primeros estadios de cultivo a partir de carpósporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. *Rev Biol Mar Oceanogr* 54:204–213. <https://doi.org/doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.2.1901>
- Ávila M, Piel MI, Alcapan A (2014) Indoor and outdoor culture of *Callophyllis variegata* (Bory) Kützing (Gigartinales, Rhodophyta) in southern Chile. *J Appl Phycol* 26:769–774. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0109-1>
- Barsanti L, Gualtieri P (2014) *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, Second Edition, Second Edi. CRC Press, Pisa, Italy
- Bulboa C (2006) Bases bio-tecnológicas para o cultivo de *Chondracanthus chamissoi*, uma alga vermelha de importância econômica da costa chilena. 1–131
- Bulboa C, Macchiavello J (2006) Cultivation of cystocarpic, tetrasporic and vegetative fronds of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) on ropes at two localities in northern Chile. *Investig Mar* 34:109–112. <https://doi.org/10.4067/S0717-71782006000100010>
- Bulboa C, Macchiavello J (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:. <https://doi.org/10.1515/BOT.2001.047>
- Bulboa C, Macchiavello J, Oliveira E, Fonck E (2005) First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. *Aquac Res* 36:1069–1074. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01321.x>
- Bulboa C, Macchiavello J, Oliveira E, Véliz K (2008) Growth rate differences between four Chilean populations of edible seaweed *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Aquac Res* 39:1550–1555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02028.x>
- Bulboa C, Macchiavello J, 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. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9130-y>
- Bulboa C, Massad IP, Contreras-Porcía L, et al (2019) Concise review of genus *Chondracanthus* (Rhodophyta: Gigartinales). *J Appl Phycol*. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01956-w>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.018>
- Buschmann AH, Gómez P (1993) Interaction mechanisms between *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) and epiphytes. *Hydrobiologia* 260:345–351. <https://doi.org/10.1007/BF00049039>
- Cahui J (2018) Efecto del sustrato sobre el crecimiento y supervivencia de *Chondracanthus chamissoi* en cultivo en sistema suspendido en el litoral marino de Ilo. Universidad Nacional De Moquegua

- Calderón M, Ramírez ME, Bustamante D (2010) Notas sobre tres especies de Gigartinaceae (Rhodophyta) del litoral peruano. *Rev Peru Biol* 17:115–122
- 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* 79:459–465
- Chung IK, Brinkhuis BH (1986) Copper effects in early stages of the Kelp, *Laminaria saccharina*. *Mar Pollut Bull* 17:213–218. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(86\)90603-X](https://doi.org/10.1016/0025-326X(86)90603-X)
- Colque L (2017) Evaluación del crecimiento de cultivo vegetativo de (*Chondracanthus chamissoi*), utilizando fertilizante comercial bayfolan y medio guillard f/2, en condiciones de laboratorio en el Centro Acuicultura Morro Sama de FONDEPES. UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA
- Dawes CJ, Teasdale BW, Friedlander M (2000) Cell wall structure of the agarophytes *Gracilaria tikvahiae* and *G. cornea* (Rhodophyta) and penetration by the epiphyte *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *J Appl Phycol* 12:567–575. <https://doi.org/10.1023/A:1026501613984>
- DeBoer JA (1981) Nutrients. In: *The Biology of Seaweeds*. pp 365–391
- DeBoer JA, Guigli HJ, Israel TL, D'Elia CF (1978) Nutritional Studies of Two Red Algae. I. Growth Rate as a Function of Nitrogen Source and Concentration. *J Phycol* 14:261–266. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1978.tb00296.x>
- Fletcher RL (1995) Epiphytism and fouling in *Gracilaria* cultivation: an overview. *J Appl Phycol* 7:325–333. <https://doi.org/10.1007/BF00004006>
- Fonck E, Martínez R, Vásquez J, Bulboa C (2008) Factors that affect the re-attachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. *J Appl Phycol* 20:311–314. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9251-y>
- Friedlander M, Krom MD, Ben-Amotz A (1991) The Effect of Light and Ammonium on Growth, Epiphytes and Chemical Constituents of *Gracilaria conferta* in Outdoor Cultures. *Botanica Marina* 34:. <https://doi.org/10.1515/botm.1991.34.3.161>
- Fujita RM (1985) The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 92:283–301. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(85\)90100-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(85)90100-5)
- 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. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01203-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01203-6)
- Gonzalez-Rodriguez E, Maestrini SY (1984) The use of some agricultural fertilizers for the mass production of marine algae. *Aquaculture* 36:245–256. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90240-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90240-0)
- Hansen J (1983) A physiological approach to mariculture of red algae. *J World Maric Soc* 14:380–391. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1983.tb00091.x>
- Harlin MM (1978) Nitrate uptake by *Enteromorpha* spp. (Chlorophyceae): Applications to aquaculture systems. *Aquaculture* 15:373–376. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(78\)90082-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(78)90082-0)
- Harrison PJ, Hurd CL (2001) Nutrient physiology of seaweeds: Application of concepts to aquaculture. *Cah Biol Mar* 42:71–82
- Hoffmann A, Santelices B (1997) *Flora marina de Chile central*

- Hopkin R, Kain JM (1978) The effects of some pollutants on the survival, growth and respiration of *Laminaria hyperborea*. *Estuar Coast Mar Sci* 7:531–553. [https://doi.org/10.1016/0302-3524\(78\)90063-4](https://doi.org/10.1016/0302-3524(78)90063-4)
- Icochea E (2008) Bases biológicas para el manejo del recurso *Chondracanthus chamissoi* en el litoral marino de Huanchaco, departamento La Libertad, Perú. Tesis e Maestría, Universidad Nacional de Trujillo
- Lobban CS, Harrison PJ (1994) *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge
- Love R (2018) Optimisation of the culture of the red alga *Chondracanthus teedei*. Effects of irradiance, temperature, salinity and nutrient enrichment. Universidad de Cádiz
- Macaya E (2001) Uso de carposporas para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing 1843 (Rhodophyta; Gigartinales): Inducción a la esporulación y fijación sobre diferentes sustratos. PhD Thesis, Universidad Católica del Norte
- Macchiavello A. JE, Bulboa C. CR, Edding V. M (2003) Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta) in northern Chile. *Phycol Res* 51:45–50. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2003.00292.x>
- Macchiavello J, Bulboa C, Sepúlveda C, et al (2012) Manual de Cultivo de *Chondracanthus chamissoi*. FONDEF
- Maggs CA, Callow ME (2003) Algal Spores. *Encycl Life Sci*. <https://doi.org/doi:10.1038/npg.els.0000311>
- Mansilla A, Palacios M, Navarro NP, Avila M (2008) Growth and survival performance of the gametophyte of *Gigartina skottsbergii* (Rhodophyta, Gigartinales) under defined nutrient conditions in laboratory culture. *J Appl Phycol* 20:889–896. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9279-z>
- Martins AP, Yokoya NS (2010) Intraspecific variations in colour morphs of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) in relation to nitrogen availability. *Hoehnea* 37:601–615. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062010000300008>
- Ogawa H, Fujita M (1997) The effect of fertilizer application on farming of the seaweed *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta). *Phycol Res* 45:113–116. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.1997.tb00070.x>
- Pacheco-Ruíz I, Zertuche-González JA, Arroyo-Ortega E, Valenzuela-Espinoza E (2004) Agricultural fertilizers as alternative culture media for biomass production of *Chondracanthus squarulosus* (Rhodophyta, Gigartinales) under semi-controlled conditions. *Aquaculture* 240:201–209. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.044>
- Pariona E, Gil-Kodaka P (2011) Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. *An Científicos* 72:19–26. <https://doi.org/10.21704/ac.v76i2.854>
- Pérez M, García M, Roldán JP, et al (2018) Efecto inhibitor del dióxido de germanio sobre el biofouling del puerto de Mar del Plata. *Matéria (Rio de Janeiro)* 23:. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620170001.0291>
- Piña P, Medina MA, Nieves M, et al (2011) Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. *Rev Investig Mar* 28:225–236
- Pinto E, Sigaud-kutner TCS, Leitão MAS, et al (2003) Heavy Metal–Induced Oxidative Stress in Algae1. *J Phycol* 39:1008–1018. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.02-193.x>
- Raven JA, Evans MCW, Korb RE (1999) The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth Res* 60:111–150. <https://doi.org/10.1023/A:1006282714942>

- Rios L, Baltazar P, Castañeda M, Arbaiza S (2020) Efecto de la iluminancia y temperatura sobre tetrasporofitos germinantes de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützinger. Universidad Científica del Sur
- Rui L, Jiajun L, Chaoyuan W (1990) Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). Thirteen Int Seaweed Symp 499–503. https://doi.org/10.1007/978-94-009-2049-1_71
- Sáez F, Macchiavello J (2018) Secondary attachment discs: a new alternative for restoring populations of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta). Lat Am J Aquat Res 46:140–146. <http://dx.doi.org/10.3856/vol46-issue1-fulltext-14>
- 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). Aquat Bot 89:63–65. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2008.01.004> Stein JR (1979) Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press
- Strömberg T (1980) The effect of dissolved copper on the increase in length of four species of intertidal furoid algae. Mar Environ Res 3:5–13. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(80\)90032-X](https://doi.org/10.1016/0141-1136(80)90032-X)
- Szalontai B, Horváth LI, Debreczeny M, et al (1999) Molecular rearrangements of thylakoids after heavy metal poisoning, as seen by Fourier transform infrared (FTIR) and electron spin resonance (ESR) spectroscopy. Photosynth Res 61:241–252. <https://doi.org/10.1023/A:1006345523919>
- Thomas T, Harrison P, Taylor E (1985) Nitrogen uptake and growth of the germlings and mature thalli of *Fucus distichus*. Mar Biol 84:267–274. <https://doi.org/10.1007/BF00392496>
- Turpin DH (1991) Effects of Inorganic N Availability on Algal Photosynthesis and Carbon Metabolism. J Phycol 27:14–20. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1991.00014.x>
- Valenzuela-Espinoza E, Lafarga-De La Cruz F, Millán-Núñez R, Núñez-Cabrero F (2005) Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Rhodomonas* sp. cultivada con medio f/2 y fertilizantes agrícolas. Cienc Mar 31:79–89
- Vásquez JA, Alonso Vega JM (2001) *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. J Appl Phycol 13:267–277. <https://doi.org/10.1023/A:1011152922832>
- Waite T, Mitchell R (1972) The Effect of Nutrient Fertilization on the Benthic Alga *Ulva lactuca*. Bot Mar 15:151–156. <https://doi.org/10.1515/botm.1972.15.3.151>
- Werlinger C, Mansilla A, Villarroel A, Palacios M (2008) Effects of photon flux density and agricultural fertilizers on the development of *Sarcothalia crispata* tetraspores (Rhodophyta, Gigartinales) from the Strait of Magellan, Chile. J Appl Phycol 20:757–765. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9301-5>
- Yang MY, Macaya EC, Kim MS (2015) Molecular evidence for verifying the distribution of *Chondracanthus chamissoi* and *C. teedei* (Gigartinaceae, Rhodophyta). Bot Mar 0: <https://doi.org/10.1515/bot-2015-0011>

Appendices

Appendix 1. Chemical composition of Bayfolan® in the presence of 1 L and in the treatments performed

Type	Compound	Unit	1 L	T1	T2	T3	T4	T5
				0.025 mL	0.05 mL	0.1 mL	0.2 mL	0.4 mL
Major elements	Total Nitrogen (N)	mg/L	11×10^4	2.8	5.5	11.0	22.0	44.0
	Phosphorus pentoxide (P ₂ O ₅)	mg/L	8×10^4	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0
	Potassium oxide (K ₂ O)	mg/L	6×10^4	1.5	3.0	6.0	12.0	24.0
Minor elements	Iron (Fe)	mg/L	190	0.005	0.010	0.019	0.038	0.076
	Manganese (Mn)	mg/L	162	0.004	0.008	0.016	0.032	0.065
	Boron (B)	mg/L	102	0.003	0.005	0.010	0.020	0.041
	Copper (Cu)	mg/L	81	0.002	0.004	0.008	0.016	0.032
	Zinc (Zn)	mg/L	61	0.002	0.003	0.006	0.012	0.024
	Molybdenum (Mo)	mg/L	9	0.0002	0.0005	0.0009	0.002	0.004
	Cobalt (Co)	mg/L	3.5	0.0001	0.0002	0.0004	0.001	0.001
Other	B1 and H. Growth vitamin.	ppm	4	0.0001	0.0002	0.0004	0.001	0.002

Evaluación del crecimiento de esporofitos de *Chondracanthus chamissoi* procedente de un cultivo a partir de carpósporas bajo distintas concentraciones de un fertilizante agrícola en condiciones de laboratorio

María-Lourdes Avalos¹, Paul Baltazar Guerrero^{1,2*}, Max Castañeda Franco², Samuel Arbaiza Quispe²
pbaltazar@cientifica.edu.pe

ORCID María-Lourdes Avalos: [0000-0002-3991-8906](https://orcid.org/0000-0002-3991-8906)

ORCID Paul Baltazar: [0000-0003-4071-4772](https://orcid.org/0000-0003-4071-4772)

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

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

RESUMEN

Chondracanthus chamissoi es un alga roja cuyo valor comercial ha incrementado en los últimos años, al igual que su explotación. Debido a esto, es importante promover su cultivo como alternativa a la extracción de praderas naturales. Por ello es necesario buscar alternativas que reduzcan los costos y faciliten el cultivo. Con respecto al suministro de nutrientes, las sales inorgánicas de grado analítico han sido comúnmente empleadas en el cultivo; sin embargo, se ha probado que algunos fertilizantes agrícolas pueden ser igualmente eficientes y resultan económicamente rentables para el cultivo de algas en laboratorio. Por este motivo, la finalidad de este estudio fue evaluar el crecimiento de *C. chamissoi* con distintas concentraciones de un fertilizante agrícola (Bayfolan®) como fuente de nutrientes. Las concentraciones evaluadas fueron: 0.025 ml L⁻¹, 0.05 ml L⁻¹, 0.01 mL L⁻¹, 0.2 mL L⁻¹, 0.4 mL L⁻¹ y un control (sin adición de nutrientes). Se obtuvieron diferencias significativas en la tasa de crecimiento de los microtalos ($p < 0.05$), en donde se observó el mayor crecimiento en la concentración de 0.2 mL L⁻¹ con una tasa de crecimiento igual a 7.48 % día⁻¹; por el contrario, se obtuvo un crecimiento incipiente y alta mortalidad en el control y en la concentración 0.4 mL L⁻¹. Estos resultados sugieren que este fertilizante agrícola es una buena fuente de nutrientes en estadios tempranos de *C. chamissoi*; sin embargo, altas concentraciones pueden inhibir su crecimiento.

Palabras clave: Carposporas, microtalos, *C. chamissoi*, crecimiento, fertilizante agrícola.

ABSTRACT

Chondracanthus chamissoi is a red alga whose commercial value has increased in recent years, as has its exploitation. In consequence, it is important promote its cultivation as an alternative to the extraction of its natural habitat. Therefore, it is necessary to look for alternatives that reduce costs and facilitate cultivation. Regarding the supply of nutrients, it has been proven that some agricultural fertilizers can be equally efficient as analytical grade inorganic salts; moreover, they are profitable for algae cultivation in laboratory. Therefore, the purpose of this study was to evaluate growth of *C. chamissoi* with different concentrations of an agricultural fertilizer (Bayfolan®) as a source of nutrients. The concentrations evaluated were 0.025 ml L⁻¹, 0.05 ml L⁻¹, 0.01 mL L⁻¹, 0.2 mL L⁻¹ y 0.4 mL L⁻¹, and a control (seawater without added nutrients). Significant differences were obtained in the growth rate of microthallus ($p < 0.05$), where the highest growth was observed at the concentration of 0.2 mL L⁻¹ with a growth rate of 7.48 % día⁻¹; in contrast, incipient growth and high mortality were obtained in the control and at the concentration of 0.4 mL L⁻¹. These results

suggest that this agricultural fertilizer is a good source of nutrients in early stages of *C. chamissoi*; however, high concentrations can inhibit its growth.

Key words: Carpospores, microthallus, *C. chamissoi*; growth, agricultural fertilizer.

Introducción

Chondracanthus chamissoi, comúnmente conocido como “yuyo” en el Perú, es un alga perteneciente a la familia Gigartinaeae (Acleto 1986) distribuida a lo largo de las costas de Perú y Chile (Hoffmann and Santelices 1997; Calderón et al. 2010); y reportada en Corea, Japón y Francia (Yang et al. 2015). El valor comercial de esta especie se basa tanto en la alta demanda que posee para el consumo humano directo como en su uso como materia prima para la obtención de ficocoloides como el carragenano (Acleto 1986; Bulboa et al. 2005, 2008; Arbaiza et al. 2019). Sin embargo, debido a esta creciente demanda, las poblaciones naturales de esta alga han comenzado a ser sobreexplotadas; por lo que, el cultivo resulta una alternativa importante para mantener la productividad de este recurso (Icochea 2008; Pariona and Gil-Kodaka 2011).

Con el afán de satisfacer la demanda de distintas industrias, se han realizado distintas investigaciones enfocadas en la viabilidad del cultivo de *C. chamissoi*. Algunos de estos estudios han sido orientados en temas como reproducción (Gonzalez and Meneses 1996; Vásquez and Alonso Vega 2001; Macchiavello A. et al. 2003; Bulboa 2006), producción y cultivo (Bulboa 2006; Bulboa and Macchiavello 2006; Macchiavello et al. 2012; Cahui 2018), crecimiento (Bulboa and Macchiavello 2001; Colque 2017; Castañeda et al. 2018; Arbaiza et al. 2019), selección de cepas (Bulboa et al. 2007, 2008), estrategias alternativas para la propagación vegetativa (Macchiavello A. et al. 2003; Fonck et al. 2008; Sáez et al. 2008; Bulboa et al. 2013) y repoblamiento (Sáez and Macchiavello 2018). En cuanto al cultivo a partir de esporas, diversas investigaciones indican que puede ser un método efectivo debido a la alta productividad generada (Alveal et al. 1991; Arbaiza et al. 2019); además, no es necesaria una gran cantidad de organismos reproductivos y tiene la ventaja de ser un cultivo con alta variabilidad genética (Bulboa et al. 2019).

Durante la etapa inicial de este método de cultivo, se deben de mantener las condiciones adecuadas para poder garantizar un crecimiento inicial eficiente (Werlinger et al., 2008), esta puede tener una duración de 2 a 5 meses (Bulboa et al. 2019). Entre los factores principales que afectan el cultivo de *C. chamissoi* se encuentra la disponibilidad adecuada de nutrientes (Bulboa 2006; Barsanti and Gualtieri 2014), estos son fundamentales para el crecimiento de esta alga en laboratorio, pues se requiere de su constante adición hasta que se alcance un desarrollo adecuado para ser sembrada en el mar (Werlinger et al. 2008). Las algas requieren una gran variedad de nutrientes para crecer, siendo el nitrógeno y el fósforo las más importantes, dado que limitan el crecimiento y desarrollo de estas (Harrison and Hurd 2001). En un sistema de cultivo cerrado es necesaria la adición de estos nutrientes especialmente en etapas críticas donde se forman las estructuras de fijación (Colque 2017).

Sin embargo, la adición de nutrientes empleando sales inorgánicas de grado analítico para la preparación de medios de cultivo puede generar altos costos durante la etapa de cultivo en laboratorio (Pacheco-Ruiz et al. 2004). Cabe resaltar que la reducción de costos en este tipo de cultivo es importante para hacer a esta práctica sustentable, sobre todo para que pueda convertirse en un negocio atractivo para las comunidades de pescadores artesanales que extraen este recurso y no poseen un presupuesto muy elevado (Macaya 2001). Como consecuencia, se han realizado estudios para probar la eficiencia de los fertilizantes como fuente alternativa de nutrientes para el cultivo de distintas algas (Waite and Mitchell 1972; Gonzalez-Rodriguez and Maestrini 1984; Ogawa and Fujita 1997; Valenzuela-Espinoza et al. 2005; Piña et al. 2011), incluyendo algas rojas (Rui et al. 1990; Pacheco-Ruiz et al. 2004; Werlinger et al. 2008; Ávila et al. 2014; Arbaiza et al. 2019).

Entre los fertilizantes que han sido utilizados se encuentra Bayfolan[®], el cual ha obtenido resultados efectivos a una concentración de 0.1 mL L⁻¹ en el cultivo a partir de tetrasporas de *Gigartina skottsbergii* (Mansilla et al. 2008) y el cultivo vegetativo de *C. chamissoi* (Colque 2017). No obstante, no todas las algas

tienen los mismos requerimientos nutricionales, debido a que este grupo posee una heterogeneidad que dificulta la generalización (Lobban and Harrison 1994). Así mismo, la absorción de nutrientes se ve afectada por factores fisiológicos y biológicos, el tipo de tejido, la etapa de la historia de vida, la edad, la relación superficie/volumen del talo y la morfología (Harrison and Hurd 2001).

Por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar el crecimiento de esporofitos de *C. chamissoi* procedente de un cultivo a partir de carpósporas bajo distintas concentraciones de un fertilizante agrícola (Bayfolan®) en condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

Obtención y limpieza de muestra

Las frondas de *C. chamissoi* fueron colectadas en abril del 2019 por recolectores autorizados de la Cooperativa de Trabajadores Pesqueros Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR) de la zona submareal de la playa Mendieta (Pisco). El material biológico fue transportado en contenedores térmicos aislados (cooler) hacia el Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (LICMA) de la Universidad Científica del Sur, ubicado en el distrito de San Andrés, Pisco. Una vez en el laboratorio, los individuos cistocárpicos fueron seleccionados y sometidos a un proceso de limpieza para eliminar los epibiontes. Este consistió en una secuencia de lavado con una solución de agua dulce e hipoclorito de sodio (1 mL L^{-1}), seguido finalmente por un enjuague en agua de mar para eliminar cualquier rastro de agua dulce. A continuación, se realizó una limpieza manual para remover las impurezas y epibiontes que quedaran sobre el alga.

Obtención de la solución de carpósporas

Para inducir a la liberación de carpósporas, las frondas de *C. chamissoi* fueron sometidas a estrés por desecamiento (variación de salinidad). Para esto se procedió a colocar el alga en paños de malla, dejándola escurrir y bajo sombra por un periodo de 5 horas. Al término de este tiempo, el material biológico fue dividido en 10 grupos de 100 gramos y fueron colocados en matraces con 1 litro de agua de mar con abundante aireación durante 2 horas para que ocurra la liberación de carpósporas. Al finalizar el tiempo, se realizó el conteo de esporas con una cámara Sedgewick Rafter en un microscopio Leica DM500, obteniendo una densidad de 19×10^6 esporas. L^{-1} . Cabe resaltar que toda el agua de mar utilizada en este experimento fue esterilizada con hipoclorito de sodio según la metodología señalada por Andersen (2005) y filtrada a $1 \mu\text{m}$.

Inoculación y asentamiento de carpósporas

Una vez obtenida la solución de carpósporas, se procedió a colocar 300 mL de esta solución en envases de propileno de 1 litro a los cuales previamente se les había añadido 500 mL de agua de mar y bastidores como sustrato de fijación (42 cm^2), estos contenían cuerdas nylon de 0.2 cm de diámetro de color blanco. Durante las primeras 36 horas no se le añadió aireación ni luz para asegurar el proceso de asentamiento, a continuación, se procedió a realizar el recambio total del agua de cada unidad experimental sin añadir nutrientes durante la primera semana (Macaya 2001). Pasado este periodo, se evaluó el asentamiento de las carpósporas y se verificó estadísticamente mediante la prueba ANOVA ($p > 0.05$) que no existieran diferencias entre las 24 unidades experimentales instaladas, obteniéndose un promedio de 455 ± 69 esporas. cm^{-2} en los sistemas de cultivo instalados.

Diseño Experimental

Se evaluaron 5 concentraciones del fertilizante Bayfolan® Nutriente Foliar Líquido 11-8-6 (N-P-K) y un control (sin fertilizante) con 4 réplicas cada uno (Tabla 1). La composición química de Bayfolan® se

encuentra en el Anexo 1. Luego de añadido el fertilizante, las unidades experimentales fueron cubiertas con plástico film y ubicadas aleatoriamente para evitar la influencia de factores fuera del sistema, como la temperatura y la luz. El cultivo tuvo una duración de 8 semanas (56 días), semanalmente se realizaron recambios de agua del 100% y los parámetros fisicoquímicos de cada unidad experimental se mantuvieron en condiciones constantes a lo largo del experimento (Tabla 2).

Tabla 1. Concentración de Bayfolan® por tratamiento

Tratamiento	Concentración de Bayfolan®
C	0 mL L ⁻¹
T1	0.025 mL L ⁻¹
T2	0.05 mL L ⁻¹
T3	0.1 mL L ⁻¹
T4	0.2 mL L ⁻¹
T5	0.4 mL L ⁻¹

Tabla 2. Condiciones de cultivo de los tratamientos durante las 8 semanas de experimento (Promedio ± Desviación estándar).

Condiciones	Valores
Temperatura (°C)	18.28 ± 1.3
Salinidad (ups)	35.59 ± 0.82
pH	7.94 ± 0.2
Fuente de luz	Artificial
Iluminancia (LUX)	1100 ± 100
Fotoperiodo (Luz : Oscuridad)	12:12 (L:O)

Evaluación del crecimiento y la supervivencia

Las evaluaciones del crecimiento y supervivencia se realizaron semanalmente. En el caso de la supervivencia, esta se midió en base al número de microtalos, para esto se realizaron 5 conteos sobre el bastidor de cada unidad experimental con ayuda de un marco cuadrado de 0.25 cm² (Macaya 2001; Arbaiza et al. 2019). Posteriormente, se evaluó el crecimiento con el análisis de las fotografías a un total de 20 individuos por unidad experimental. Cabe resaltar que, en la segunda semana, el número de individuos medidos dependió de cuántos presentaban un crecimiento longitudinal visible; de igual manera ocurrió en el control, en donde el número de individuos medidos fue menor que en los demás tratamientos. Para realizar la medición del crecimiento, se utilizó el programa Leica LAS EZ 3.4.0 para procesar las fotos tomadas desde el estereoscopio Leica EZ4 E.

Con los datos obtenidos sobre el número de microtalos de cada unidad experimental se obtuvo la densidad (número de microtalos/cm²) (Macaya 2001). A continuación, se tomó a la densidad inicial como el 100% de supervivencia de cada unidad experimental, y a partir de ahí se convirtieron las densidades posteriores a porcentaje. Por otra parte, con las mediciones de los microtalos se pudo obtener la tasa de crecimiento específica (% día⁻¹), para lo cual se empleó la siguiente fórmula utilizada por Bulboa (2006):

$$TCE (\% \text{ día}^{-1}) = \frac{\ln(Lf) - \ln(Li)}{t} \times 100$$

Se determinó la TCE (tasa de crecimiento específica) para el desarrollo de los microtalos, donde L_i es la longitud inicial en la segunda semana, L_f es la longitud final en la octava semana y t es el tiempo transcurrido en días.

Análisis Estadístico

Los datos fueron compilados en el programa de Excel, para luego ser procesados en el programa RStudio. Para determinar si había una distribución normal y homogeneidad de varianzas se utilizaron las pruebas de Shapiro-Wilk y de Bartlett, respectivamente. En el caso de la tasa de crecimiento de la longitud de los microtalos, al cumplirse lo anterior, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas en los tratamientos (concentraciones) ($p < 0.05$); y la prueba de Tukey ($p < 0.05$), para obtener entre qué tratamientos existieron diferencias. Por otra parte, para la evaluación semanal de los microtalos y el porcentaje de supervivencia final, al no presentar una distribución normal, se realizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis ($p < 0.05$), y finalmente se realizó la comparación entre tratamientos con la prueba de Mann-Whitney.

Resultados

Longitud de microtalos

En la segunda semana todos los tratamientos presentaron una longitud similar, siendo el control el que presentó la longitud más baja ($34.56 \mu\text{m}$, $p < 0.05$). Para la cuarta semana, en el control se observó que los microtalos cesaron su crecimiento ($50.5 \mu\text{m}$) alcanzando una longitud final de $57.1 \mu\text{m}$ (Fig. 2a), obteniendo la tasa de crecimiento más baja ($1.22 \pm 0.45 \text{ dia}^{-1}$, $p < 0.05$). Por otra parte, se observó que los tratamientos T1 (0.025 mL L^{-1}) al T4 (0.2 mL L^{-1}) mostraron un crecimiento parejo hasta la sexta semana, en donde T3 (0.1 mL L^{-1}) y T4 presentaron un mayor crecimiento ($p < 0.05$); por el contrario, T5 (0.4 mL L^{-1}) mostró un crecimiento desacelerado y menor que los anteriores. Finalmente, T4 tuvo la mayor longitud ($1267.02 \mu\text{m}$) y tasa de crecimiento ($7.48\% \text{ dia}^{-1}$, $p < 0.05$); además, se observó que entre T3 y T2 (0.05 mL L^{-1}) no se evidenciaron diferencias en la TCE obtenida (6.23 y $5.44\% \text{ dia}^{-1}$, respectivamente), al igual que entre T2 y T1 ($4.79\% \text{ dia}^{-1}$); sin embargo, si mostraron diferencias significativas en la longitud final (T3 = $649.09 \mu\text{m}$, T2 = $492.01 \mu\text{m}$, T1 = $377.28 \mu\text{m}$; $p < 0.05$); por último, el T5 tuvo una longitud final de $150.79 \mu\text{m}$ y una TCE de $2.61\% \text{ dia}^{-1}$, siendo estos los menores valores obtenidos después del control ($p < 0.05$). Cabe resaltar que en todos los tratamientos se observó el crecimiento de *Ulva* sp. y diatomeas (Fig. 2). Estos resultados se pueden visualizar en la Fig. 1, Fig. 2 y la Tabla 3.

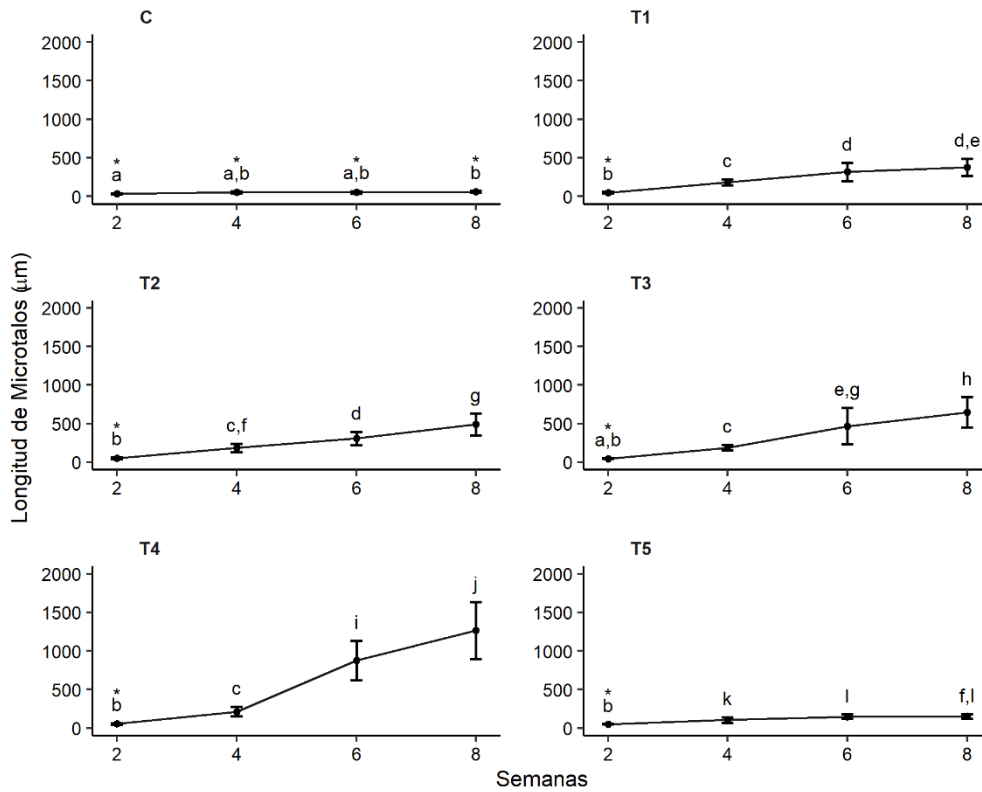


Fig. 1 Evolución de la longitud (μm) de los microtalos durante 8 semanas (56 días) bajo diferentes concentraciones de Bayfolan®. Los datos están presentados en promedio y desviación estándar de 80 individuos (n). El símbolo * representa a los tratamientos que tuvieron un n menor a 22 ($n < 22$). Las letras ^{a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k,} representan las diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de Mann Whitney.

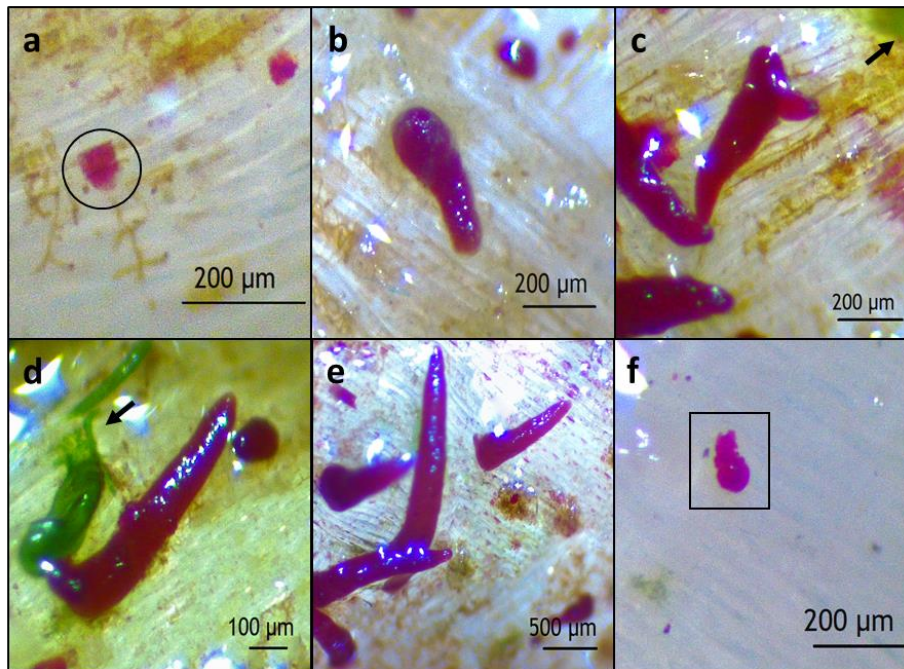


Fig. 2 Longitud final alcanzada en la semana 8 (56 días) de los microtalos en los tratamientos **a)** Control, donde se muestra decoloración (círculo); **b)** T1 (0.025 mL L^{-1}); **c)** T2 (0.05 mL L^{-1}) y **d)** T3 (0.1 mL L^{-1}), en donde se puede ver la presencia de *Ulva* sp. (flecha); **e)** T4 (0.2 mL L^{-1}); y finalmente, **f)** T5 (0.4 mL L^{-1}), donde se muestra necrosis (cuadrado).

Supervivencia

En la segunda semana, se pudo observar una disminución en el número de individuos en todos los tratamientos, siendo el T5 el que tuvo un menor porcentaje en esta medición (Fig. 3). En las siguientes semanas se observó una ligera disminución de los microtalos en los tratamientos T1, T2, T3 y T4; por otra parte, en el control disminuyó drásticamente la supervivencia en la tercera semana; además, se observó la presencia de decoloración y necrosis en los microtalos (Fig. 2a). De igual manera, en el T5 la presencia de microtalos disminuyó progresivamente y se observó necrosis en los microtalos (Fig. 2f). Los tratamientos control y T5 tuvieron la menor supervivencia, alcanzando un porcentaje final de 1.25% (6 ± 5 microtalos cm^{-2}) y 7.63% (35 ± 6 microtalos cm^{-2}), respectivamente ($p < 0.05$, Tabla 3). Asimismo, se observó que la supervivencia fue similar entre los tratamientos T1 (17.81%), T2 (23.02%), T3 (26.36%) y T4 (27.97%) ($p > 0.05$, Tabla 3).

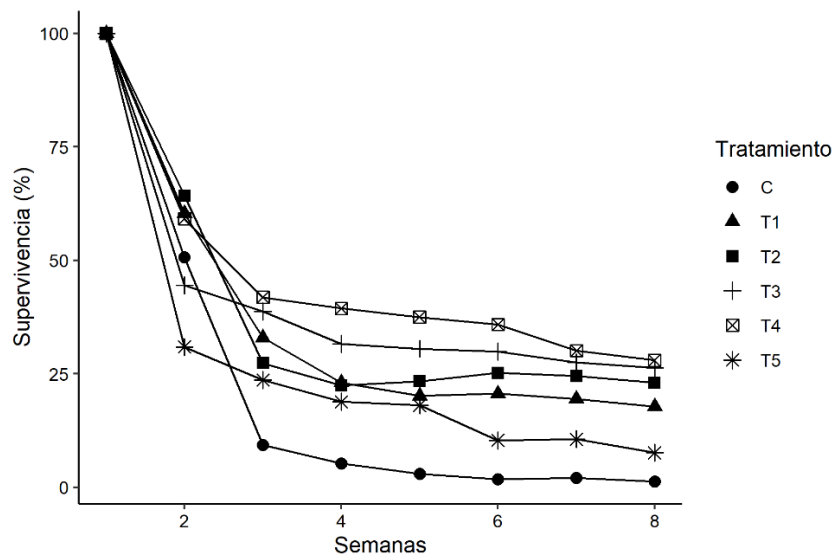


Fig. 3 Variación de la supervivencia (%) de microtalos *C. chamissoi* según los diferentes tratamientos a lo largo de un cultivo de 8 semanas (56 días).

Tabla 3. Tasa de crecimiento específica de la longitud y porcentaje de supervivencia final de microtalos de *C. chamissoi* entre los distintos tratamientos

Tratamiento	Tasa de crecimiento específica (% día ⁻¹)	Porcentaje de supervivencia final (microtalos cm^{-2})
C	1.22 ± 0.45 ^a	1.25 ± 0.86% ^a (6 ± 5)
T1	4.79 ± 0.76 ^b	17.81 ± 11.6% ^{b, c} (71 ± 36)
T2	5.44 ± 0.61 ^{b, c}	23.02 ± 0.83% ^c (110 ± 6)
T3	6.23 ± 0.37 ^c	26.36 ± 7.47% ^c (111 ± 25)
T4	7.48 ± 0.95 ^d	27.97 ± 5.48% ^c (124 ± 25)
T5	2.61 ± 0.23 ^e	7.63 ± 1.43% ^b (35 ± 6)

^{a, b, c, d} Representan las diferencias significativas entre los tratamientos según las pruebas de Tukey (Tasa específica de crecimiento) y Mann-Whitney (Porcentaje de supervivencia final).

Discusión

Las sales inorgánicas de grado analítico son utilizadas para enriquecer el agua de mar y en la formulación de medios como Provasoli y von Stosch (Stein 1979). Estas formulaciones han sido evaluadas y probadas en diferentes algas, generando un medio adecuado para su cultivo. Sin embargo, se ha demostrado que los fertilizantes agrícolas pueden ser igualmente efectivos que las sales de grado analítico en trabajos de cultivo de algas rojas; como *Chondracanthus squarulosus* (Pacheco-Ruíz et al. 2004) y *Gigartina skottsbergii* (Mansilla et al. 2008). Sin embargo, en algunos casos el fertilizante empleado puede ser más efectivo, como en el trabajo de Colque (2017), donde se obtuvo que Bayfolan® fue más efectivo en el crecimiento del cultivo vegetativo de *C. chamissoi* que Guillard (f/2). Si bien es cierto, Bayfolan 11-8-6 (N-P-K) es empleado para el crecimiento de plantas terrestres contiene macro y micronutrientes que lo hace un medio efectivo para el crecimiento de algas (Anexo 1). Entre estos nutrientes, los que están en mayor proporción son el nitrógeno y el fósforo, los cuales son nutrientes que limitan el crecimiento de las algas, y que después de ser absorbidos se incorporan como aminoácidos, proteínas, entre otras funciones (DeBoer 1981; Lobban and Harrison 1994).

Como se pudo observar anteriormente, el no adicionar una fuente adicional de nutrientes (control), provocó el déficit de crecimiento a partir de la tercera semana y baja supervivencia. Esto también ocurrió en el cultivo a partir de tetrasporas de *Gigartina skottsbergii* (Mansilla et al., 2008), donde se observó que el control (sin adición de nutrientes) tuvo una de las tasa de crecimiento más bajas en comparación de los demás fertilizantes agrícolas, entre ellos Bayfolan®. Por otra parte, en el presente trabajo se observó decoloración y necrosis en los talos, esto es similar a lo ocurrido en el trabajo de Colque (2017), en donde en el control (sin adición de nutrientes) se observaron decoloraciones en el talo de *C. chamissoi* y su posterior desprendimiento; asimismo, Pacheco-Ruíz et al. (2004) indicó que, en el cultivo de *C. squarulosus*, el no adicionar nutrientes ocasionó que los talos se tornaran de color amarillo y se fragmentaran. Todos estos trabajos tienen en común que fueron cultivos cerrados con recambios semanales, esto podría significar que el agua de mar bajo estas condiciones no satisface los requerimientos nutricionales de las algas, a diferencia del medio natural.

El tratamiento en el que se tuvo un mayor crecimiento de las carposporas fue el T4 con una concentración de 0.2 mL L⁻¹ de Bayfolan® (7.48 ± 0.95 % día⁻¹). Esto difiere con lo hallado por Colque (2017), quien obtuvo que dicha concentración de Bayfolan® tuvo un menor crecimiento que la concentración 0.1 mL L⁻¹ en el cultivo vegetativo de *C. chamissoi*. No obstante, en el presente trabajo, la concentración 0.1 mL L⁻¹ (T3) tuvo la segunda mayor tasa de crecimiento (6.23 ± 0.37 % día⁻¹). Esta diferencia entre el trabajo de Colque (2017) y el presente trabajo puede deberse a que se evaluaron distintas etapas del ciclo de vida de *C. chamissoi* en donde las germinaciones requieren una mayor absorción de nitrógeno a comparación de frondas ya desarrolladas, ya que estas tienen tejido de almacenamiento que no absorbe activamente el nitrógeno (Thomas et al. 1985). Además, Lobban and Harrison (1994) mencionan que el tejido de las germinaciones, al ser metabólicamente activo, requiere tanto del nitrato como del amonio, por lo que se estaría aprovechando tanto el nitrógeno amoniacal como nítrico que contiene Bayfolan®. Este alto requerimiento de nitrógeno por parte de las germinaciones explica las diferencias encontradas entre el T4 y los tratamientos T3, T2 y T1 en cuanto al crecimiento, en donde se observó que conforme disminuye la concentración del fertilizante según el tratamiento, menor es el crecimiento de los microtalos (T4>T3>T2>T1).

Por otra parte, así como en este trabajo, Arbaiza et al. (2019) realizó el cultivo de *C. chamissoi* a partir de carposporas con frondas provenientes de distintas playas, en el caso de Playa Mendieta obtuvo una longitud final de microtalos de 447,6 µm. Esto es similar a lo obtenido en el T2 (492.01 µm); sin embargo, es importante resaltar la diferencia en el tiempo de cultivo; mientras que en el trabajo de Arbaiza et al. (2019) el tiempo de evaluación fue de 122 días, en el presente trabajo se evaluó durante 56 días. A pesar de que en ambas investigaciones se trabajó con alga proveniente de Playa Mendieta, existe una diferencia en cuanto al crecimiento de los microtalos, esto puede deberse al fertilizante empleado en el trabajo de Arbaiza et al.

(2019), llamado nutriente foliar BestGarden[®], el cual contiene una concentración distinta de nutrientes que Bayfolan[®].

En el caso del T5 (0.4 mL L⁻¹), se obtuvo la segunda menor tasa de crecimiento de microtalos (2.93% día⁻¹). Teniendo en cuenta que la concentración de nitrógeno en Bayfolan[®] es de 11 g L⁻¹, pudo ocurrir que esta concentración elevada haya causado una inhibición en el crecimiento de los esporofitos. Esto concuerda con lo encontrado por DeBoer et al. (1978), en donde la tasa de crecimiento de *Gracilaria foliifera* no aumento significativamente a altas concentraciones de nitrógeno, lo mismo ocurrió con *Neogardhiella baileyen*. Los resultados de este estudio concuerdan también con lo presentado por Love (2018) con *Chondracanthus tedeei*, en donde se empleó una concentración de amonio 1 mM, obteniendo como resultado una alta concentración de nitrógeno en el tejido y una baja tasa de crecimiento, por lo que se concluyó que esta concentración de amonio podría resultar tóxica. Por otra parte, las altas concentraciones de nitrógeno en el medio, también pueden causar una baja productividad neta, como se pudo ver en el caso de *Ulva lactuca* (Waite and Mitchell 1972). Esta alta concentración de nitrógeno puede causar un aumento en la concentración del amonio intracelular, causando la necesidad de una mayor disponibilidad de esqueleto de carbono para la asimilación de nitrógeno (Turpin 1991). Este aumento de amonio intracelular pudo causar su acumulación en el citoplasma provocando la disminución del pH interno, causando un daño perjudicial a las células (Martins and Yokoya 2010).

Entre los micronutrientes que contiene Bayfolan[®] se encuentran el cobre (Cu) y el Zinc (Zn). Estos metales pesados son esenciales en la actividad de muchas enzimas y son parte de moléculas que tienen funciones importantes en el transporte de electrones fotosintético; sin embargo, también son tóxicos en altas concentraciones interactuando directamente en la membrana de los tilacoides en el cloroplasto (Raven et al. 1999; Szalontai et al. 1999). En base a esto, es posible que en el T5 la concentración de estos haya sido muy alta (Anexo 1), provocando la baja tasa de crecimiento en el T5. Sobre este caso, diversos estudios muestran que concentraciones de cobre menores a la presentada en el T5 causarían una inhibición en el crecimiento en *Pelvetia canaliculata*, *Fucus spiralis*, *F. serratus*, *Laminaria saccharina* y *Macrocystis pyrifera* (Hopkin and Kain 1978; Strömngren 1980; Chung and Brinkhuis 1986; Anderson et al. 1990). Asimismo, el Cu²⁺, por su efecto tóxico en la fotosíntesis, causa estrés oxidativo mediante el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por reactive oxygen species) (Pinto et al. 2003).

En cuanto a la supervivencia, es importante mencionar que en esta etapa de desarrollo algal existe una alta tasa de mortalidad (Maggs and Callow 2003). En el cultivo de *C. chamissoi* a partir de carposporas, existen diferentes trabajos en donde también se obtuvieron bajas densidades de 49 (Arbaiza et al. 2019) y 44 esporofitos por cm² (Bulboa 2006); sin embargo, la supervivencia presentada en este trabajo fue mayor (T1, T2, T3 y T4) que en estos trabajos presentados. Esta diferencia puede deberse al tipo de sustrato utilizado, mientras que en estos trabajos el sustrato empleado fueron cuerdas de polipropileno, en esta investigación se utilizaron cuerdas nylon que tienen la característica de ser porosas y permitir el ingreso de carposporas. En este trabajo, en la segunda semana se ve una gran disminución en todos los tratamientos, esto puede deberse al recambio de agua que se realizó en la semana anterior, causando el desprendimiento de carposporas que no estuvieron correctamente asentadas; además, esto pudo seguirse dando en las semanas posteriores, debido a que los discos con un mal desarrollo no son lo suficientemente fuertes para soportar el peso de los esporofitos al aumentar en tamaño (Bulboa 2006). Entre otros factores que pueden ocasionar el desprendimiento de los microtalos están las interacciones bióticas como la competencia por el sustrato con las diatomeas que también estuvieron presentes en este trabajo y pudieron ocasionar el mal asentamiento de las carposporas.

Por otra parte, en este experimento se observó la presencia de *Ulva* sp. Durante la limpieza se extrajeron los epifitos de las frondas de *C. chamissoi*; sin embargo, es posible que haya quedado un fragmento de *Ulva* sp. Esta contaminación puede haberse dado durante la esporulación, debido a que los individuos cistocárpicos fueron sumergidos en agua de mar luego del estrés inducido, lo cual pudo provocar la liberación de zooides de *Ulva* sp. en la solución de esporas y; posteriormente, su asentamiento en los bastidores. Es bien sabido que esta especie de clorofita es una de las especies de algas más comunes

identificadas como epífitas (Buschmann and Gómez 1993; Vásquez and Alonso Vega 2001), siendo la fase gametofítica de *C. chamissoi* la que ha mostrado un mayor reclutamiento de zooides de *Ulva* sp. en comparación a la tetrasporofítica (Bulboa et al. 2007), lo cual puede deberse a la morfología o aspereza de los talos. Asimismo, se encontró que los zooides de *U. lactuca* penetran en la cubierta y la pared externa de la pared celular epidérmica de *Gracilaria* a pocos días de asentarse y formar rizoide; por lo que, al remover las germinaciones, las almohadillas de adhesión permanecen en la pared celular epidérmica lo que da lugar nuevamente al crecimiento de *Ulva* sp. (Dawes et al. 2000). La contaminación por epífitas en el cultivo de algas ocasiona efectos no deseados (Fletcher 1995); entre estos, la competencia por nutrientes y sustrato (Buschmann and Gómez 1993). Por lo tanto, la presencia de *Ulva* sp. y diatomeas pudo tener un efecto en los resultados presentados.

En este experimento se tomaron algunas medidas para poder prevenir la contaminación del cultivo en el laboratorio como a) la selección de individuos cistocárpicos con baja carga de epibiontes; y b) la cobertura de las unidades experimentales con plástico film. Las medidas tomadas lograron reducir la contaminación evidenciada en otros experimentos llevados a cabo en el Laboratorio de Cultivos Marinos (Rios et al. 2020). Sin embargo, existen otras medidas adicionales para prevenir la contaminación que pueden tenerse en consideración para futuros experimentos. En el cultivo de *Gracilaria* se han empleado distintos métodos que han sido exitosos en el control de *Ulva* sp. (*Enteromorpha* spp.) (Fletcher 1995), y podrían ser adaptados al cultivo de *Chondracanthus chamissoi*. En el caso de métodos físicos, la manipulación de factores como la irradiancia y la calidad de la luz puede reducir la contaminación por *Ulva* sp. (*Enteromorpha* sp.) (Hansen 1983; Friedlander et al. 1991). En cuanto a los métodos químicos, el dióxido de germanio (GeO_2) ha sido utilizado en el cultivo de *C. chamissoi* para evitar la presencia de diatomeas (Bulboa 2006), debido a su efecto inhibitorio en el asentamiento de estas (Pérez et al. 2018); por otra parte, en el cultivo de *Gracilaria*, la manipulación del régimen de nutrientes puede reducir la carga de epífitas mediante la reducción en la frecuencia de adición y proporcionando los nutrientes de noche (Fujita 1985; Fletcher 1995), ya que la tasa de absorción de nitrógeno de *Ulva* sp. (*Enteromorpha* spp.) aumenta con la luz (Harlin 1978).

Conclusiones

Se pudo evidenciar el efecto de la concentración de nutrientes en el crecimiento de microtalos de *C. chamissoi* donde el tratamiento T4 (0.2 mL L^{-1}) fue la concentración más efectiva por presentar un mayor crecimiento con respecto a los demás tratamientos. Además, se observó que los tratamientos T1 (0.025 mL L^{-1}), T2 (0.05 mL L^{-1}), T3 (0.1 mL L^{-1}) y T4 (0.2 mL L^{-1}) tuvieron una relación positiva entre la concentración del fertilizante y el crecimiento. Por otra parte, la ausencia de esta fuente de nutrientes en el control dio como resultado la menor supervivencia y tasa de crecimiento, presenciándose degradación y decoloración de los individuos. Asimismo, el tratamiento T5 (0.4 mL L^{-1}) pudo tener un efecto tóxico sobre los microtalos al acumular en el tejido altas concentraciones de los macro y micronutrientes, ocasionando de esta forma una de las tasas de crecimiento más bajas, necrosis en los microtalos y una baja supervivencia. Por otra parte, se obtuvo que en los tratamientos T1, T2, T3 y T4 no hubo relación entre la concentración de nutrientes y la supervivencia, determinando de esta forma que no hubo un efecto sobre esta variable. Finalmente, se pudo comprobar la efectividad del uso del fertilizante Bayfolan® en el cultivo de *C. chamissoi* a partir de carposporas, demostrando que, dependiendo de la concentración, se puede tener un buen crecimiento y no afectaría la supervivencia, por lo que es una buena alternativa como fuente de nutrientes; además, este fertilizante comercial tiene una amplia disponibilidad, no requeriría de ningún equipo o procedimiento adicional y es económicamente accesible.

Agradecimientos

Estamos muy agradecidos al Ministerio de la Producción-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” bajo el Convenio N° 234-INNOVATEPERU-IAPIP-2017. Gracias a Felipe Sáez Rubio por la revisión, sus comentarios y sugerencias al manuscrito.

Cumplimiento de estándares éticos

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

- Acleto C (1986) Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). Rev Cienc 74:38–47
- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Nuñez M (1991) Utilización de esporas para el cultivo de *Gracilaria*
- Andersen RA (2005) Algal Culturing Techniques, 1st Edition. Academic Press
- Anderson BS, Hunt JW, Turpen SL, et al (1990) Copper toxicity to microscopic stages of giant kelp *Macrocystis pyrifera*: interpopulation comparisons and temporal variability. Mar Ecol Prog Ser 68:147–156. www.jstor.org/stable/44634886
- Arbaiza S, Gil-Kodaka P, Arakaki N, Alveal K (2019) Primeros estadios de cultivo a partir de carpósporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. Rev Biol Mar Oceanogr 54:204–213. <https://doi.org/doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.2.1901>
- Ávila M, Piel MI, Alcapan A (2014) Indoor and outdoor culture of *Callophyllis variegata* (Bory) Kützing (Gigartinales, Rhodophyta) in southern Chile. J Appl Phycol 26:769–774. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0109-1>
- Barsanti L, Gualtieri P (2014) Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, Second Edition, Second Edi. CRC Press, Pisa, Italy
- Bulboa C (2006) Bases bio-tecnológicas para o cultivo de *Chondracanthus chamissoi*, uma alga vermelha de importância econômica da costa chilena. 1–131
- Bulboa C, Macchiavello J (2006) Cultivation of cystocarpic, tetrasporic and vegetative fronds of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) on ropes at two localities in northern Chile. Investig Mar 34:109–112. <https://doi.org/10.4067/S0717-71782006000100010>
- Bulboa C, Macchiavello J (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:. <https://doi.org/10.1515/BOT.2001.047>
- Bulboa C, Macchiavello J, Oliveira E, Fonck E (2005) First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. Aquac Res 36:1069–1074. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01321.x>
- Bulboa C, Macchiavello J, Oliveira E, Véliz K (2008) Growth rate differences between four Chilean populations of edible seaweed *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). Aquac Res 39:1550–1555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02028.x>

- Bulboa C, Macchiavello J, 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. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9130-y>
- Bulboa C, Massad IP, Contreras-Porcía L, et al (2019) Concise review of genus *Chondracanthus* (Rhodophyta: Gigartinales). *J Appl Phycol*. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01956-w>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.018>
- Buschmann AH, Gómez P (1993) Interaction mechanisms between *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) and epiphytes. *Hydrobiologia* 260:345–351. <https://doi.org/10.1007/BF00049039>
- Cahui J (2018) Efecto del sustrato sobre el crecimiento y supervivencia de *Chondracanthus chamissoi* en cultivo en sistema suspendido en el litoral marino de Ilo. Universidad Nacional De Moquegua
- Calderón M, Ramírez ME, Bustamante D (2010) Notas sobre tres especies de Gigartinaceae (Rhodophyta) del litoral peruano. *Rev Peru Biol* 17:115–122
- 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* 79:459–465
- Chung IK, Brinkhuis BH (1986) Copper effects in early stages of the Kelp, *Laminaria saccharina*. *Mar Pollut Bull* 17:213–218. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(86\)90603-X](https://doi.org/10.1016/0025-326X(86)90603-X)
- Colque L (2017) Evaluación del crecimiento de cultivo vegetativo de (*Chondracanthus chamissoi*), utilizando fertilizante comercial bayfolan y medio guillard f/2, en condiciones de laboratorio en el Centro Acuicultura Morro Sama de FONDEPES. UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA
- Dawes CJ, Teasdale BW, Friedlander M (2000) Cell wall structure of the agarophytes *Gracilaria tikvahiae* and *G. cornea* (Rhodophyta) and penetration by the epiphyte *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *J Appl Phycol* 12:567–575. <https://doi.org/10.1023/A:1026501613984>
- DeBoer JA (1981) Nutrients. In: *The Biology of Seaweeds*. pp 365–391
- DeBoer JA, Guigli HJ, Israel TL, D'Elia CF (1978) Nutritional Studies of Two Red Algae. I. Growth Rate as a Function of Nitrogen Source and Concentration. *J Phycol* 14:261–266. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1978.tb00296.x>
- Fletcher RL (1995) Epiphytism and fouling in *Gracilaria* cultivation: an overview. *J Appl Phycol* 7:325–333. <https://doi.org/10.1007/BF00004006>
- Fonck E, Martínez R, Vásquez J, Bulboa C (2008) Factors that affect the re-attachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. *J Appl Phycol* 20:311–314. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9251-y>
- Friedlander M, Krom MD, Ben-Amotz A (1991) The Effect of Light and Ammonium on Growth, Epiphytes and Chemical Constituents of *Gracilaria conferta* in Outdoor Cultures. *Botanica Marina* 34:. <https://doi.org/10.1515/botm.1991.34.3.161>
- Fujita RM (1985) The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 92:283–301. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(85\)90100-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(85)90100-5)
- 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. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01203-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01203-6)

- Gonzalez-Rodriguez E, Maestrini SY (1984) The use of some agricultural fertilizers for the mass production of marine algae. *Aquaculture* 36:245–256. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90240-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90240-0)
- Hansen J (1983) A physiological approach to mariculture of red algae. *J World Maric Soc* 14:380–391. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1983.tb00091.x>
- Harlin MM (1978) Nitrate uptake by *Enteromorpha* spp. (Chlorophyceae): Applications to aquaculture systems. *Aquaculture* 15:373–376. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(78\)90082-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(78)90082-0)
- Harrison PJ, Hurd CL (2001) Nutrient physiology of seaweeds: Application of concepts to aquaculture. *Cah Biol Mar* 42:71–82
- Hoffmann A, Santelices B (1997) Flora marina de Chile central
- Hopkin R, Kain JM (1978) The effects of some pollutants on the survival, growth and respiration of *Laminaria hyperborea*. *Estuar Coast Mar Sci* 7:531–553. [https://doi.org/10.1016/0302-3524\(78\)90063-4](https://doi.org/10.1016/0302-3524(78)90063-4)
- Icochea E (2008) Bases biológicas para el manejo del recurso *Chondracanthus chamissoi* en el litoral marino de Huanchaco, departamento La Libertad, Perú. Tesis e Maestría, Universidad Nacional de Trujillo
- Lobban CS, Harrison PJ (1994) Seaweed ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge
- Love R (2018) Optimisation of the culture of the red alga *Chondracanthus teedei*. Effects of irradiance, temperature, salinity and nutrient enrichment. Universidad de Cádiz
- Macaya E (2001) Uso de carposporas para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing 1843 (Rhodophyta; Gigartinales): Inducción a la esporulación y fijación sobre diferentes sustratos. PhD Thesis, Universidad Católica del Norte
- Macchiavello A. JE, Bulboa C. CR, Edding V. M (2003) Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta) in northern Chile. *Phycol Res* 51:45–50. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2003.00292.x>
- Macchiavello J, Bulboa C, Sepúlveda C, et al (2012) Manual de Cultivo de *Chondracanthus chamissoi*. FONDEF
- Maggs CA, Callow ME (2003) Algal Spores. *Encycl Life Sci*. <https://doi.org/doi:10.1038/npg.els.0000311>
- Mansilla A, Palacios M, Navarro NP, Avila M (2008) Growth and survival performance of the gametophyte of *Gigartina skottsbergii* (Rhodophyta, Gigartinales) under defined nutrient conditions in laboratory culture. *J Appl Phycol* 20:889–896. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9279-z>
- Martins AP, Yokoya NS (2010) Intraspecific variations in colour morphs of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) in relation to nitrogen availability. *Hoehnea* 37:601–615. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062010000300008>
- Ogawa H, Fujita M (1997) The effect of fertilizer application on farming of the seaweed *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta). *Phycol Res* 45:113–116. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.1997.tb00070.x>
- Pacheco-Ruíz I, Zertuche-González JA, Arroyo-Ortega E, Valenzuela-Espinoza E (2004) Agricultural fertilizers as alternative culture media for biomass production of *Chondracanthus squarulosus* (Rhodophyta, Gigartinales) under semi-controlled conditions. *Aquaculture* 240:201–209. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.044>

- Pariona E, Gil-Kodaka P (2011) Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. *An Científicos* 72:19–26. <https://doi.org/10.21704/ac.v76i2.854>
- Pérez M, García M, Roldán JP, et al (2018) Efecto inhibitor del dióxido de germanio sobre el biofouling del puerto de Mar del Plata. *Matéria* (Rio de Janeiro) 23:.. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620170001.0291>
- Piña P, Medina MA, Nieves M, et al (2011) Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. *Rev Investig Mar* 28:225–236
- Pinto E, Sigaud-kutner TCS, Leitão MAS, et al (2003) Heavy Metal–Induced Oxidative Stress in Algae1. *J Phycol* 39:1008–1018. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.02-193.x>
- Raven JA, Evans MCW, Korb RE (1999) The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth Res* 60:111–150. <https://doi.org/10.1023/A:1006282714942>
- Rios L, Baltazar P, Castañeda M, Arbaiza S (2020) Efecto de la iluminancia y temperatura sobre tetrasporofitos germinantes de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing. *Universidad Científica del Sur*
- Rui L, Jiajun L, Chaoyuan W (1990) Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). *Thirteen Int Seaweed Symp* 499–503. https://doi.org/10.1007/978-94-009-2049-1_71
- Sáez F, Macchiavello J (2018) Secondary attachment discs: a new alternative for restoring populations of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta). *Lat Am J Aquat Res* 46:140–146. <http://dx.doi.org/10.3856/vol46-issue1-fulltext-14>
- 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). *Aquat Bot* 89:63–65. <https://doi.org/10.1016/j.AQUABOT.2008.01.004>
- Stein JR (1979) *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press
- Strömngren T (1980) The effect of dissolved copper on the increase in length of four species of intertidal fucoid algae. *Mar Environ Res* 3:5–13. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(80\)90032-X](https://doi.org/10.1016/0141-1136(80)90032-X)
- Szalontai B, Horváth LI, Debreczeny M, et al (1999) Molecular rearrangements of thylakoids after heavy metal poisoning, as seen by Fourier transform infrared (FTIR) and electron spin resonance (ESR) spectroscopy. *Photosynth Res* 61:241–252. <https://doi.org/10.1023/A:1006345523919>
- Thomas T, Harrison P, Taylor E (1985) Nitrogen uptake and growth of the germlings and mature thalli of *Fucus distichus*. *Mar Biol* 84:267–274. <https://doi.org/10.1007/BF00392496>
- Turpin DH (1991) Effects of Inorganic N Availability on Algal Photosynthesis and Carbon Metabolism. *J Phycol* 27:14–20. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1991.00014.x>
- Valenzuela-Espinoza E, Lafarga-De La Cruz F, Millán-Núñez R, Núñez-Cebrero F (2005) Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Rhodomonas* sp. cultivada con medio f/2 y fertilizantes agrícolas. *Cienc Mar* 31:79–89
- Vásquez JA, Alonso Vega JM (2001) *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. *J Appl Phycol* 13:267–277. <https://doi.org/10.1023/A:1011152922832>
- Waite T, Mitchell R (1972) The Effect of Nutrient Fertilization on the Benthic Alga *Ulva lactuca*. *Bot Mar* 15:151–156. <https://doi.org/10.1515/botm.1972.15.3.151>

Werlinger C, Mansilla A, Villarroel A, Palacios M (2008) Effects of photon flux density and agricultural fertilizers on the development of *Sarcothalia crispata* tetraspores (Rhodophyta, Gigartinales) from the Strait of Magellan, Chile. *J Appl Phycol* 20:757–765. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9301-5>

Yang MY, Macaya EC, Kim MS (2015) Molecular evidence for verifying the distribution of *Chondracanthus chamissoi* and *C. teedei* (Gigartinales, Rhodophyta). *Bot Mar* 0: <https://doi.org/10.1515/bot-2015-0011>

Anexos

Anexo 1. Composición Química de Bayfolan® en la presentación de 1 L y en los tratamientos realizados

Tipo	Compuesto	Unidad	1 L	T1	T2	T3	T4	T5
				0.025 mL	0.05 mL	0.1 mL	0.2 mL	0.4 mL
Elementos mayores	Nitrógeno Total (N)	mg/L	11×10 ⁴	2.8	5.5	11.0	22.0	44.0
	Anhídrido Fosfórico (P ₂ O ₅)	mg/L	8 ×10 ⁴	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0
	Oxido de Potasio (K ₂ O)	mg/L	6 ×10 ⁴	1.5	3.0	6.0	12.0	24.0
Elementos menores	Hierro (Fe)	mg/L	190	0.005	0.010	0.019	0.038	0.076
	Manganeso (Mn)	mg/L	162	0.004	0.008	0.016	0.032	0.065
	Boro (B)	mg/L	102	0.003	0.005	0.010	0.020	0.041
	Cobre (Cu)	mg/L	81	0.002	0.004	0.008	0.016	0.032
	Zinc (Zn)	mg/L	61	0.002	0.003	0.006	0.012	0.024
	Molibdeno (Mo)	mg/L	9	0.0002	0.0005	0.0009	0.002	0.004
	Cobalto (Co)	mg/L	3.5	0.0001	0.0002	0.0004	0.001	0.001
Otros	Vitamina B1 y H. de crecimiento	ppm	4	0.0001	0.0002	0.0004	0.001	0.002